

METODY STANOVENÍ BIOPŘÍSTUPNÉ A BIODOSTUPNÉ FRAKCE HYDROFOBNIÍCH ORGANICKÝCH POLUTANTŮ

MONIKA ČVANČAROVÁ^{a,b} a TOMÁŠ CAJTHAML^{a,b}

^a Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, ^b Ústav pro životní prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 6, 128 43 Praha 2
cajthaml@biomed.cas.cz

Došlo 10.4.13, přepracováno 10.11.14, přijato 14.11.14.

Klíčová slova: bioremediace, bioakumulace, environmentální riziko, desorpční kinetika, perzistentní organické polutanty, nadkritická fluidní extrakce

Obsah

1. Úvod
2. Definice biopřístupné a biodostupné frakce
3. Metody stanovení biodostupné frakce
4. Metody stanovení biopřístupné frakce
 - 4.1. Uspořádání extrakčních metod
 - 4.1.1. Jednobodové a vícebodové extrakce
 - 4.1.2. Statické a dynamické extrakce
 - 4.2. Extrakce pomocí organických rozpouštědel
 - 4.3. Mikroextrakce nebo extrakce na tuhou fázi
 - 4.3.1. Extrakce pomocí polymerního sorbentu Tenax
 - 4.3.2. Extrakce pomocí pryskyřice XAD
 - 4.4. Extrakce pomocí cyklodextrinů
 - 4.5. Nadkritická fluidní extrakce
 - 4.6. Subkritická vodní extrakce
5. Závěr

1. Úvod

Rozklad a transport perzistentních organických polutantů v životním prostředí probíhá jen velmi pomalu, což vede ke kumulaci těchto látek v půdách a sedimentech. Polutanty se sorbují na pevnou matici a postupně difundují do vnitřních částí organické hmoty. Za určitý čas mohou být nedostupné pro transformační a transportní procesy; dochází ke snížení tzv. biopřístupné frakce organických polutantů. Stanovení velikosti této frakce lze využít k hodnocení environmentálního rizika, predikci bioakumulace nebo mikrobiální degradace. Odhad environmentálního rizika např. kontaminovaných půd souvisí s ekotoxicitou vzorků a tato souvisí s množstvím polutan-

tu, které může biotu ovlivnit. Klasické analytické metody však poskytují informaci o celkové koncentraci, a tedy toto riziko nadhodnocují. Oproti tomu při bioremediačních zásazích je nezbytné znát, jaká část organických polutantů může být transformována, a tedy zdali je možné bioremediace použít pro úspěšné dosažení sanačních limitů.

Tato práce poskytuje přehled nepoužívanějších technik, které byly optimalizovány a využívány ke studiu a predikci biopřístupné frakce a rovněž vysvětlení rozdílů mezi touto a tzv. biodostupnou frakcí, což bývá velmi často v literatuře zaměňováno. U každé metody je vysvětlen extrakční princip a současně jsou diskutovány hlavní výhody, nevýhody a praktická omezení.

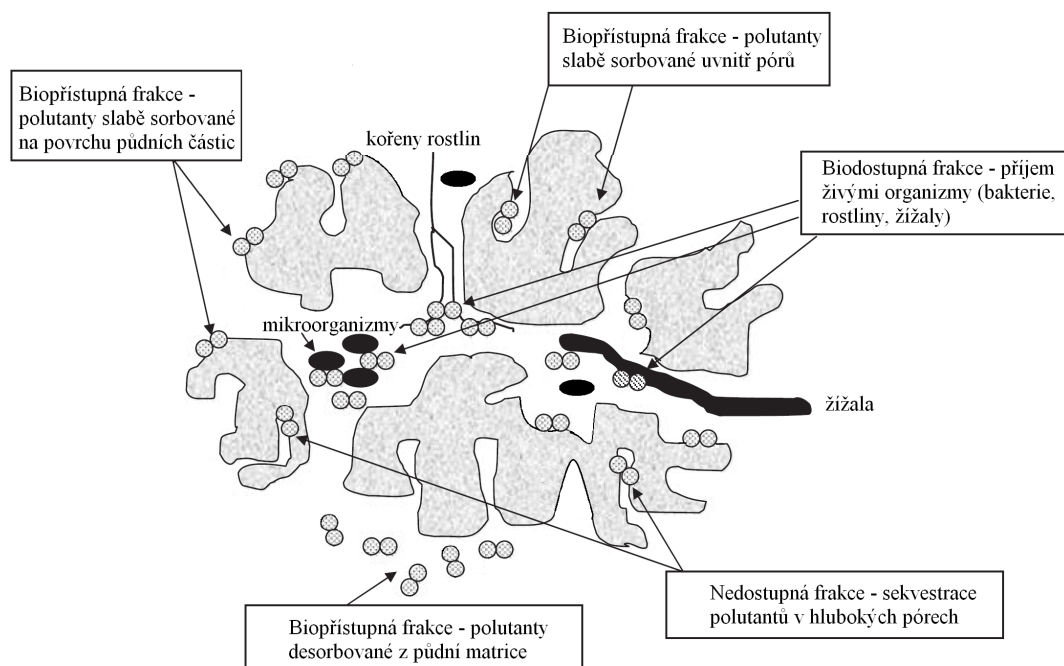
2. Definice biopřístupné a biodostupné frakce

V současné době stále není definice biopřístupné a biodostupné frakce jednotná. Biopřístupná frakce představuje v této práci určitou část z celkového množství kontaminantu, která je potenciálně dostupná pro biologické děje. Pokud se organismus dostane s těmito polutanty do kontaktu, může dojít k jejich transportu přes biologickou membránu. Tato frakce zahrnuje nejenom polutanty volně rozpouštěné v pórové vodě, ale i ty, které jsou slabě vázány na povrchu nebo uvnitř půdních částic (obr. 1)¹.

Biodostupná frakce je část frakce biopřístupné a představuje pro organismy aktuálně dostupné množství. Biodostupné látky se v biotě akumulují, působí toxicky, jsou intracelulárně biodegradovány nebo biotransformovány¹.

Velikost biopřístupného a biodostupného množství závisí především na fyzikálně-chemických vlastnostech kontaminantů, na vlastnostech půdy a exponovaného organismu. Biopřístupná frakce je výsledkem komplexních interakcí, je obtížné ji zobecnit, a proto se v literatuře setkáváme s mnoha různými definicemi. Biodostupné je to množství látky, které se může asimilovat a působit toxicky². Biodostupná část látky je ta, která zůstane po vyprázdnění střeva v organismu na konci jeho stravovací periody³. Biodostupná je frakce určité látky, která může být absorbována živými organismy, nebo ji lze vyjádřit jako pravděpodobnost, se kterou lze očekávat toxické účinky⁴. Je to podíl chemické látky, který je dostupný pro rychlý transport do vodní fáze⁵.

Lanno a spol.⁶ rozdělili biodostupnost na tři složky. Environmentální dostupnost definovali jako část celkového množství látky v daném prostředí, která podléhá fyzikálně chemickým procesům a je potenciálně dostupná. Jedná se tedy o jiné označení frakce biopřístupné. Druhou složku, environmentální biodostupnost, definovali jako podíl přijatého množství látky k celkovému množství, se kterým byl organismus v kontaktu. Toxikologicky biodostupné jsou pak ty látky, které projdou membránou až



Obr. 1. Schématické znázornění biopřístupné, biodostupné a nedostupné frakce organických polutantů v půdách¹

na místo účinku a začlení se do biologických procesů v buňce.

Reichenberg a Mayer⁷ zavedli místo biodostupné a biopřístupné frakce dva jiné parametry: dosažitelnost a chemickou aktivitu. Dosažitelné je to množství látky, které se z kontaminovaných půd a sedimentů uvolní pomocí mírné extrakce. Chemická aktivita popisuje energetické změny kontaminantu při termodynamických pochodech a biodostupnou frakci odhaduje z energetického stavu, který odpovídá koncentraci látek rozpuštěných v pórové vodě.

O sjednocení definic se také pokusily některé mezinárodní organizace. Např. společnost NRC (National Research Council) definovala tzv. biodostupné procesy. Jedná se o fyzikální, chemické a biologické interakce, které mají vliv na expozici organismů v kontaminovaných půdách a sedimentech. Tyto procesy zahrnují transport vázaných a volných polutantů v prostředí, uvolnění polutantů z pevné matrice a příjem polutantů přes biologickou membránu⁸. Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization) připravila obecný koncept, ve kterém definuje pojem „biopřístupnost“ i obecné postupy, jak by mohla být stanovována. Avšak tato norma oproti definicím v literatuře pod pojem „biopřístupnost“ nejasně zahrnuje téměř všechny výše uvedené termíny (biodostupnost, environmentální dostupnost apod.), a to jak pro organické polutanty, tak i kovy⁹.

3. Metody stanovení biodostupné frakce

Biodostupnou frakci lze stanovit biologickými metodami, při kterých dochází k expozici organismů v kontaminovaných půdách nebo sedimentech.

Přímé biologické metody jsou založeny na měření bioakumulace a stanovují množství látky přijaté daným organismem po určitém čase¹⁰. Míru bioakumulace lze za rovnovážného stavu kvantifikovat pomocí rozdělovacího koeficientu biota-půda (BSAF – biota-soil accumulation factor), který je definován jako podíl koncentrace látky v organismu a koncentrace látky v okolním prostředí. Koncentrace polutantů v půdě se často vztahuje na organický uhlík a koncentrace polutantů v organismu na množství lipidů¹¹. K měření biodostupné frakce se běžně používají žížaly, protože jsou schopné akumulovat různé organické polutanty, např. polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)^{12,13}, polychlorované bifenyly (PCB)^{14,15}, chlorfenoly¹⁶, chlorbenzeny¹⁷ a pesticidy^{18,19}. Žížaly jsou v přímém kontaktu s kontaminovanou zemí nejenom vnější pokožkou, ale i zažívacím traktem, což zajišťuje relativně vysokou citlivost testu. Nejčastěji se používají žížaly *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei* a *Lumbricus terrestris*. Extrapolace výsledků na jiné druhy žíval může být problematická z důvodu jejich odlišné citlivosti²⁰. Bioakumulace polutantů v rostlinách je relativně specifická, závisí na mnoha faktorech, a proto jsou výsledky studií získaných za různých podmínek těžko srovnatelné^{21–23}.

Ke zhodnocení rizika biodostupné frakce lze využít i nepřímé biologické metody, které jsou založeny na měření toxicity biodostupného množství polutantů. Při těchto testech se nejčastěji sledují nespecifické akutní, subchronické nebo chronické účinky, jako jsou mortalita, inhibice růstu a inhibice reprodukce exponovaného organismu^{24–26}. Při testech s bakteriemi *Vibrio fischeri* se vyhodnocuje inhibice bioluminiscence^{27,28}. V některých případech je možné sledovat účinky specifické, např. indukci tvorby aminokyselin nebo proteinů²⁹.

Biodostupné PAU v dlouhodobě kontaminovaných zeminách studovali např. Čvančarová a spol.³⁰. Autoři pomocí série exotoxikologických testů (mortalita a inhibice růstu žízále *Eisenia fetida*, inhibice růstu okřešku *Lemna minor*, mortalita a inhibice růstu koryšů *Heterocypris incongruens*, inhibice bioluminiscence bakterií *Vibrio fischeri*) a vhodně navržených kontrolních vzorků poprvé poskytli důkaz, že ekotoxicita PAU koreluje s biodostupnou frakcí.

Nepřímé biologické metody jsou finančně a časově náročné a nepřinášejí informace o velikosti biodostupné frakce. Odpovědi organismů jsou většinou nespecifické, ale na rozdíl od chemických metod zahrnují biologické faktory. Výsledky biologických testů jsou relativně specifické a většinou je nelze extrapolovat na jiné druhy nebo do jiných podmínek. I přes všechny nevýhody lze tyto metody využít v kombinaci s dalšími postupy ke studiu biodostupnosti.

K nepřímým biologickým metodám je možné zařadit i biodegradční experimenty. Při mikrobiální degradaci dochází k rozkladu biodostupných látek. Velikost biodostupné frakce lze teoreticky odvodit na základě úbytku polutantů v kontaminovaných zeminách, nicméně správnost tohoto stanovení může být ovlivněna dalšími faktory, zejména transportem a abiotickou transformací polutantů^{31,32}. Mineralizace izotopicky značených sloučenin a měření produkce ¹⁴CO₂ sice představuje další možnost, jak stanovit mikrobiálně dostupnou frakci, ale pouze v umělé kontaminovaných zeminách^{33,34}.

V současné době se k monitorování biodostupné frakce a biodegradace začínají používat různé biosenzory³⁵. Většinou se jedná o geneticky upravené mikroorganismy, do kterých je vnesen gen bakteriální bioluminiscence³⁶. Pokud se bakterie dostanou do kontaktu s toxickými látkami, dojde k poklesu luminiscence, který je úměrný biodostupnému množství. Některé biosenzory jsou navrženy a geneticky upraveny tak, aby specificky reagovaly na přítomnost pouze některých polutantů, např. naftalenu³⁷, PCB³⁸ a chlorbenzoových kyselin³⁹. Biosenzory lze také využít ke zhodnocení toxicity biodostupných polutantů, což přináší několik výhod. Použití biosenzorů je většinou levnější, citlivější a méně časově náročné ve srovnání se standardními ekotoxikologickými testy⁴⁰.

4. Metody stanovení biopřístupné frakce

K odhadu velikosti biopřístupné frakce lze použít některé chemické metody, které jsou založeny na mírné

extrakci polutantů z kontaminovaných materiálů. Přehled dosavadních studií biopřístupnosti je uveden v tabulkách I až V. Většina chemických metod vychází z předpokladu, že biopřístupné jsou pouze ty kontaminanty, které se mohou z půdy nebo sedimentu snadno desorbovat, a tudíž je lze i snadno vyextrahovat. Chemické metody jsou relativně rychlé a levné, ale neposkytují informace o toxicitě biodostupné frakce. Proto je vhodné chemické metody porovnávat s biologickými, což může přispět k přesnější a správnější predikci biodegradace kontaminantů a případného environmentálního rizika.

4.1. Uspořádání extrakčních metod

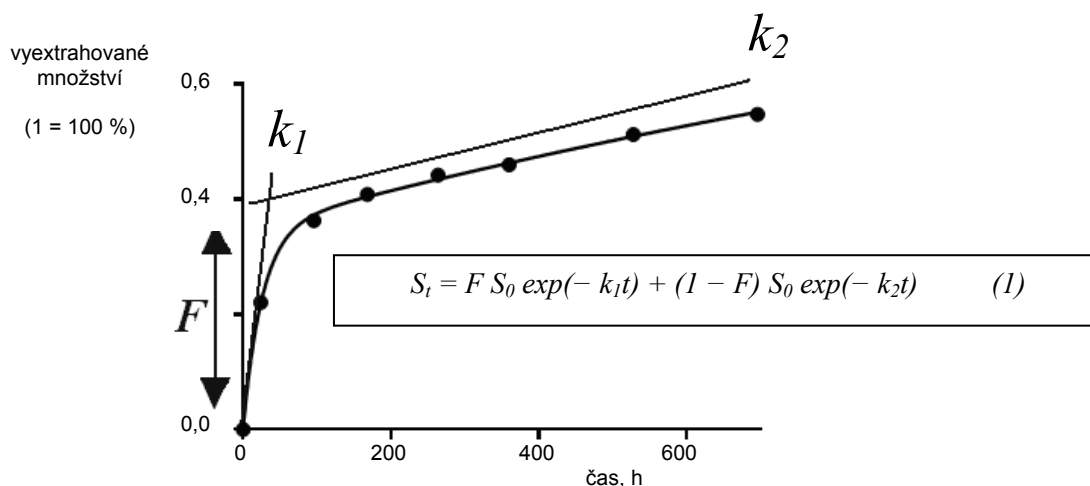
Mírné extrakční metody lze obecně rozdělit podle uspořádání na extrakce jednobodové, vícebodové rovnovážné, vícebodové nerovnovážné (sekvenční), statické a dynamické. Jako extrakční činidla se nejčastěji používají organická rozpouštědla, polymerní sorbenty ve vodném prostředí, nadkritický oxid uhličitý nebo vodný roztok cyklodextrinů.

4.1.1. Jednobodové a vícebodové extrakce

Při jednobodové extrakci je vzorek půdy extrahován určitý čas, po kterém se extrakční činidlo ze vzorku odebere a analyzuje. Biopřístupná frakce je následně stanovena z množství vyextrahovaných polutantů. Tyto metody nejsou příliš spolehlivé a v případě směsné kontaminace je jejich použití nevhodné. Nastavit extrakční podmínky tak, aby vyhovovaly všem přítomným polutantům, je velice obtížné. Využití jednobodových extrakcí k predikci biopřístupného množství různých polutantů většinou vyžaduje zdoluhavou optimalizaci extrakční doby a směsi.

Při vícebodové rovnovážné extrakci je půda rozdělena do několika extrakčních vzorků, které jsou extrahovány za stejných podmínek po různou dobu. Po dosažení extrakční doby je extrakční činidlo z patrony odebráno a analyzováno. Vyhodnocením všech časových odběrů získáme desorpční křivku, která po určitém čase dosáhne rovnovážného stavu. Biopřístupná frakce je následně stanovena z rovnovážné koncentrace a často se používá k predikci bioakumulace polutantů v půdních bezobratlých živočích^{12,19,41}.

Vícebodová nerovnovážná extrakce se někdy nazývá extrakce sekvenční. Při této metodě je ke vzorku půdy přidáno extrakční činidlo, které je v určitých časových intervalech odebíráno a nahrazováno činnidlem čerstvým. Během extrakce tedy nedochází k ustavení rovnováhy. Analýzou časových odběrů získáme desorpční kinetickou křivku (obr. 2), kterou lze pro většinu hydrofobních polutantů popsat rovnicí (I), kde S_t je koncentrace polutantu, který byl vyextrahován z půdy za čas t ; F je frakce, která podléhá rychlé desorpci; S_0 je celková koncentrace polutantu v půdě; k_1 a k_2 jsou rychlostní konstanty 1. řádu (cit.⁴²). Desorpční křivka má dvě fáze. Nejprve převládá rychlá desorpce, která má rychlostní konstantu k_1 , pak dominuje desorpce pomalá s rychlostní konstantou k_2 . Biopřístupné množství je stanoveno z rovnice (I) a odpovídá



Obr. 2. Desorpční kinetická rovnice a ukázka dvoufázové desorpční křivky pyrenu

velikosti frakce označované jako F .

Uvolňování hydrofobních polutantů v reálných podmínkách nejpřesněji simulují sekvenční extrakce se sorbentem o vysoké sorpční kapacitě ve vodném prostředí. Pokud jsou polutanty z půdy extrahovány za použití jiných extrakčních činidel, je nutné podmínky optimalizovat tak, aby desorpční kinetické křivky vykazovaly dvoufázové chování. Bylo prokázáno, že parametr F umožňuje přesnou predikci biopřístupného množství a mikrobiální degradace^{5,43,44}.

4.1.2. Statické a dynamické extrakce

Při dynamickém uspořádání je ke vzorku půdy neustále přiváděno nové extrakční médium. Příkladem takových metod může být nadkritická fluidní extrakce nebo subkritická vodní extrakce. Extrakce sekvenční jsou také částečně dynamické. Přívod nového extrakčního činidla je zajištěn jeho pravidelnou a častou výměnou. Dynamické metody umožňují nejpřesnější stanovení biopřístupné frakce za předpokladu, že jsou hydrofobní polutanty v extrakčním médiu dostatečně rozpustné. Limitujícím krokem celého procesu je rychlost jejich desorpce z půdy, a desorpční kinetické křivky polutantů vykazují dvoufázové chování.

Při statické extrakci se ustavuje rovnováha mezi vyextrahovaným množstvím a koncentrací polutantu v půdě. Statické metody neumožňují studovat desorpční kinetiku polutantů, a proto nejsou ke stanovení biopřístupné frakce příliš vhodné.

4.2. Extrakce pomocí organických rozpouštědel

Jedná se o metody statické a jednobodové, kde biopřístupná frakce je stanovena jako vyextrahované množství, což s sebou přináší řadu nevýhod. Extrakce je závislá na použitém extrakčním činidle a pro různé polutanty a kontaminované zeminy je nutná optimalizace extrakční doby.

Výsledky studií jsou různorodé a jen těžko porovnatelné a přenositelné do jiných podmínek. Příklady těchto postupů jsou uvedeny tab. I. Kelsey a spol.⁴⁵ se pokusili predikovat biodostupné množství izotopicky značeného atrazinu a fenanthrenu pro žížaly *Eisenia fetida* a bakterie *Pseudomonas* sp. v čerstvě kontaminované a v 11, 54 a 124 dní staré zemině. Z výsledků vyplývá, že pro predikci biodostupné frakce různých polutantů nelze použít jen jedno rozpouštědlo, což dokazují i následující práce^{18,46}. Bergknut a spol.⁴⁷ porovnali pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) různé extrakční techniky a z výsledků vyplynulo, že použité extrakční metody nebyly schopné s vysokou přesností předpovědět množství jednotlivých PAU akumulovaných v žížalách *Eisenia fetida*. I přesto, že tyto metody nejsou příliš spolehlivé, používá mírnou extrakci s *n*-butanolem nebo jinými organickými rozpouštědly stále řada autorů, což vede k častému nadhodnocení nebo podhodnocení biopřístupné frakce organických polutantů^{48–50}.

4.3. Extrakce na tuhou fázi s využitím sorbentů

Při této extrakci se kontinuálně míchá půda, voda a sorbent v uzavřené extrakční nádobě. Polutanty vázané v hlubokých půdních pórech se uvolňují a dostávají se na povrch, kde dochází k přímému kontaktu se sorbentem a k jeho zachycení. Nejčastěji se používají sorbenty volné (polymerní sorbent Tenax, pryskyřice amberlite XAD-2), nebo vázané na pevném nosiči (mikrovlákná s nepolární polydimethylsiloxanovou vrstvou, C18 disky) viz tab. II. Hlavní nevýhodou je časová náročnost, kdy extrakce mohou trvat řádově i několik týdnů. Biopřístupná frakce je v případě jednobodového uspořádání stanovena z množství polutantů, které se za dobu extrakce na sorbent naváza-

Tabulka I
Metody odhadu biopřístupného (biodostupného) množství organických polutantů: Extrakce pomocí organických rozpouštědel

Extrakční činidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí umělé kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství představuje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
<i>n</i> -butanol, methanol-voda (1:1, v/v), methanol-voda (9:1, v/v), ethanol, hexan, methanol, voda, toluen	1 bodová statická	2 h	izotopicky značený atrazin	0, 11, 54, 124 dnů	ne	množství atrazinu vyextrahovaného po 2 h	přijem žížalami <i>Eisenia fetida</i> po 8 dnech expozice, mineralizace bakteriemi <i>Pseudomonas</i> sp. po 15 dnech	ne	Pro predikci biodostupného množství nelze použít jedno rozpouštědlo, pro žížaly byla nejvhodnější směs methanol-voda (9:1, v/v) a pro bakterie methanol-voda (1:1, v/v)	45
<i>n</i> -butanol, acetonitril-voda (1:1, v/v), ethanol-voda (3:2, v/v), methanol-voda (45:55, v/v), methanol-voda (1:1, v/v)	1 bodová statická	2 h	izotopicky značený fenanthren	0, 7, 50, 120 dnů	ne	množství fenanthrenu vyextrahovaného po 2 h	přijem žížalami <i>Eisenia fetida</i> po 8 dnech expozice, mineralizace bakteriemi <i>Pseudomonas</i> sp. po 15 dnech	ne	Pro predikci biodostupného množství byla nejvhodnější extrakce s <i>n</i> -butanolem	45
25% vodný roztok tetrahydrofuranu, 95% ethanol	1 bodová statická	5–10 s	PAU	0, 293 dnů	ne	množství PAU vyextrahovaných po 5–10 s	přijem žížalami <i>Eisenia fetida</i> po 14 dnech expozice	extrakce na tuhou fázi (C18 membrány) – 24 h, metoda jednobodová, statická	Pro predikci biodostupného množství byla nejvhodnější extrakce s 25% tetrahydrofuranem a s C18 membránami	46
25% vodný roztok tetrahydrofuranu	1 bodová statická	24 h	DDT, DDE, DDD	0, 186 a 0, 924 dnů	ano 30 a 49 let	množství polutantů vyextrahovaných po 24 h	přijem žížalami <i>Eisenia fetida</i> po 10 dnech expozice	extrakce na tuhou fázi (C18 membrány) – 24 h, metoda jednobodová, statická	Obě metody – relativně přesná predikce biodostupného množství pro žížaly, korelační koeficienty > než 0,921 a 0,831	18
100% methanol, 50% methanol, 1% methanol, <i>n</i> -butanol, Tween-80 (3 mM), voda	1 bodová statická	24 h	PAU	ne	ano	množství PAU vyextrahovaných po 24 h	přijem žížalami <i>Eisenia fetida</i> po 32 dnech expozice	hydroxypropyl- β -cyclodextrin (50 mM) – 24 h, polopropustné membrány – 21 dnů, SPME – 21 dnů, metody jednobodové, statické	Analyza hlavních komponent – velké rozdíly mezi metodami, vhodné extrakční podmínky pro predikci biodostupného množství pro žížaly nenalezeny	47

Tabulka II
Metody odhadu biopřístupného (biodostupného) množství organických polutantů: mikroextrakce nebo extrakce na tuhou fázi

Extrakční číidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí umělé kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství představuje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěty	Lit.
Tenax SPME	1 bodová statická	6 h	hexachlorobiphenyl, DDE, permethrin, chlorpyrifos, fenanthren	7 dnů	ano	množství sorbovaných polutantů po 6 h	přijem žízalami <i>Lumbriculus variegatus</i> po 14 a 28 dnech expozice	Tenax 6 hod. SPME (30 μm polydimethylsiloxan) – 14 dnů, metoda jednobodová, statická tických analýz	Relativně přesná predikce bioakumulace pouze u některých kontaminantů, fenanthren vyloučen ze statistických analýz	19
C18 disky	1 bodová statická	15 dnů	PAU, PCB	ne	ano	množství sorbovaných polutantů po 15 dnech	přijem žízalami <i>Lumbriculus terrestris</i> po 5, 10, 20 a 30 dnech expozice	ne	Porovnání rovnovážných koncentrací C18 disk/půda (K_{disk}) a biota/půd (BSAF), $\text{BSAF} > K_{\text{disk}}$ pro PAU o molekulové hmotnosti vyšší než 202 g/mol	12
Tenax	vícebodová rovnovážná statická	336 h	izotopicky značený pyren	21 dnů	ne	z množství sorbovaného pyrenu po 336 h	biodegradace bakteriemi <i>Mycobacterium vanbaalenii</i> po 336 h	ne	Studium závislosti desorpce a rychlosti mineralizace pyrenu na množství organického uhlíku, velikosti a specifickém povrchu částic	53
Tenax	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna sorbentu po dobu 350 h	PAU	ne	ano	výpočet F frakce z desorpční kinetické křivky	dace – bioreaktor 4 měsíce, landfarming 2 roky	ne	F frakce vhodná k predikci biodegradace PAU	5
Tenax	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna sorbentu po dobu 400 h	PAU, PCB, chlorbenzeny	ne	ano	výpočet F frakce z desorpční kinetické křivky	ne	Tenax – 6 h, Tenax – 30 h, metody jednobodové, statické	Nutný záznam celé desorpční křivky, jednobodové extrakce nepřesné	54
Tenax	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna sorbentu po dobu 336 h	Aroclor 1254	ne	ano	výpočet F frakce z desorpční kinetické křivky	přijem žízalami <i>Lumbriculus variegatus</i> po 28 dnech expozice	SPME (10 μm polydimethylsiloxan) 12–28 dnů, metoda jednobodová, statická na SPME	S bioakumulaci PCB v žízalách lépe korelovala F frakce než rovnovážná koncentrace	55
XAD-2	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna sorbentu po dobu 336 h	izotopicky značený fenanthren, pyren a benzo[a]pyren	10, 21, 53, 170, 259 a 525 dnů	ne	výpočet F frakce z desorpční kinetické křivky	ne	ne	Vliv stárnutí „aging“ neměl významný vliv na velikost F frakce a tvar desorpčních křivek	56

Tabulka II
Pokračování

Extrakční číidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí umělé kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství předstáváje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
XAD-2	1 bodová statická	14 dnů	PAU	ne	ano	množství sorbovaných polutantů po 14 dnech	mikrobiální degradace 24 týdnů	ne	U PAU s méně než 5 aromatickými kruhy relativně přesná predikce biodostupného množství	51
XAD-2	1 bodová statická	6 h	PAU	ne	ano	množství sorbovaných polutantů po 6 h	bioakumulace v benthické škebli <i>Tellina deltoidalis</i> 14 dnů	ne	Bioakumulace lépe koreluje s celkovou koncentrací PAU v sedimentu než s množstvím sorbovaným po 6 h na XAD-2	52

lo^{12,19,51,52}. Při vícebodové rovnovážné extrakci je biopřístupná frakce stanovena z rovnovážné koncentrace, která se po dostatečně dlouhém čase ustavuje mezi půdou a sorbentem⁵³. Uvolňování hydrofobních polutantů v reálných podmínkách dobře simulují sekvenční extrakce se sorbentem o vysoké sorpční kapacitě. V tomto systému se sice ustavuje rovnováha mezi půdou a sorbentem po relativně dlouhé době a desorpční kinetické křivky polutantů lze teoreticky získat pomocí vícebodové rovnovážné extrakce, ale vhodnější je pravděpodobně opět metoda sekvenční, při které je nutné sorbent v určitých časových intervalech v extrakční cele vyměňovat^{5,54–56}. Pokud dojde k ustavení rovnováhy, tak v případě vícebodové rovnovážné extrakce nelze ze získaných křivek rozpoznat, zda došlo k nasycení sorbentu, nebo zda se nasorbovaly všechny slabě vázané polutanty a v půdě zůstala pouze nedostupná frakce. Některé současné práce^{41,57} jsou založeny na podobném principu a také odhadují bioakumulaci polutantů v různých půdních organismech na základě jejich koncentrace v rovnovážném stavu.

Desorpční kinetikou hydrofobních polutantů z půd a sedimentů s využitím Tenaxu a pryskyřice XAD-2 se zabývalo několik prací. Jejich přehled je opět uveden v tab. II (cit.^{5,53–56}). Další práce srovnávající SFE a XAD-2 jsou uvedeny v kapitole 4.5., tab. IV (cit.^{43,60}). Rovněž se někteří autoři se pokusili charakterizovat schopnost adsorpce PAU a PCB na Tenaxu a dokumentovali vysokou efektivitu tohoto sorbentu^{58,59}. Odhadem bioakumulace polutantů v různých benthických a půdních organismech pomocí Tenaxu se také dále zabývaly práce^{61–63}.

Obecně lze říci, že extrakce pomocí sorbentu Tenax nebo pryskyřice XAD-2 jsou proveditelné v akceptovatelném čase a mohou mít sekvenční uspořádání. Při použití vláken pro mikroextrakci na tuhou fázi (SPME) se v extrakčním systému nechává ustanovit rovnováha. To může trvat týdny až měsíce, proto nejsou SPME vlákna příliš vhodná pro látky, které se rychle degradují. Použití zmíněných sorbentů (Tenax a XAD-2) je omezeno pouze na hydrofobní organopolutanty. Oproti tomu vlákna SPME mohou být vybrána dle svých vlastností tak, aby umožňovala odhad biopřístupné frakce i relativně polárních látek. SPME vlákna lze aplikovat *in situ* při polních studiích, což přináší další výhodu oproti Tenaxu⁶⁴.

4.4. Extrakce pomocí cyklodextrinů

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy s hydrofilním povrchem a kruhovou nepolární dutinou, ve které se mohou hydrofobní polutanty zachytávat. Sorpční kapacita je závislá na velikosti a tvaru molekuly polutantu i nepolární dutině cyklodextrinu. Tyto extrakce mohou mít, stejně jako extrakce na tuhou fázi, jednobodové, vícebodové rovnovážné a vícebodové sekvenční uspořádání. Metoda je relativně jednoduchá, vyžaduje pouze míchání půdy a vodného roztoku cyklodextrinu v extrakční cele. Přehled publikovaných metod je veden v tab. III (cit.^{65–69}). Reid a spol.⁶⁵ studovali extrakci PAU z půdy pomocí hydroxypropyl- β -cyclodextrinu pomocí jednobodové statické ex-

Tabulka III
Metody odhadu biopřístupného (biodostupného) množství organických polutantů: extrakce pomocí cyklohexaninu

Extrakční činidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí umělé kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství předstává	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
Hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM	1 bodová statická	20 h	izotopicky značený fenanthren, pyren a benzo[a]pyren	7 dnů	ne	množství sorbovaných polutantů po 20 h	mineralizace bakteriemi <i>Pseudomonas</i> sp. 10 dnů	<i>n</i> -butanol – 12 h, dichlormethan – 3 h, metody jednobodové, statické	Extrakce pomocí cyklohexaninu ovlivněna velikostí a strukturou molekuly PAU, optimalizovaná cyklohexaninová extrakce relativně přesně predikovala mineralizaci fenanthrenu, <i>n</i> -butanol a dichlormethan – nadhodnocení o více jak 60 %	65
Hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna 72 h	PAU, alifatické uhlovodíky	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	mikrobiální degradace 245 dnů	Tenax – 72 h, metoda vícebodová sekvenční, dynamická	Obě metody – relativně přesná predikce mikrobiální degradace, nicméně metoda s cyklohexaninem experimentálně jednodušší	66
Hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM	1 bodová statická	20 h	izotopicky značený pyren a lindan	1, 14, 28 a 56 dnů	ne	množství sorbovaných polutantů po 20 h	přijem žíhalami <i>Eisenia fetida</i> po 1, 14, 28 a 56 dnech expozice	ne	Srovnání sterilních a nesterilních půd, sterilizace potlačila vliv sírnutí, tudíž s rostoucím časem nedocházelo k významné sekvestraci polutantů a snížení biodostupné frakce – potvrzeno testem se žíhalami	67
Hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna 104 h	izotopicky značený fenanthren	1, 25, 50 a 100 dnů	ne	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	mikrobiální degradace 10 dnů	hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM – 24 h, metoda jednobodová, statická	<i>F</i> frakce srovnatelná s množstvím vyextrahovaným po 24 h, obě metody – relativně přesná predikce mikrobiální degradace	68
Hydroxypropyl- β -cyklohexanin 50 mM	vícebodová sekvenční dynamická	periodická výměna cyklohexaninu po dobu 120 h	PAU	ne	ano	porovnání desorpčních kinetických křivek s křivkou mikrobiální degradace	mikrobiální degradace 7, 14, 21 dnů	Tenax – 192 h, metoda vícebodová sekvenční, dynamická, surfaktant Triton X-100 (10 mmol) – 172 h, metoda vícebodová rovnovážná, statická	Cyklohexanin a Tenax – relativně přesná predikce mikrobiální degradace, surfaktant Triton X-100 biodostupné množství nadhodnocuje	69

trakce. Extrakce byla závislá na přidávaném množství cyklodextrinu. Za optimální koncentraci byl považován jeho 50 mM roztok a optimální doba extrakce byla stanovena na 20 h. Stejně extrakční podmínky následně používala řada autorů k predikci biodegradace^{70–72} nebo bioakumulace PAU^{67,73,74} v umělé i dlouhodobě kontaminovaných zemínách. Bernhardt a spol.⁶⁶ extrahovali PAU a ropné uhlovodíky z dlouhodobě kontaminovaných zemin. Autoři porovnali dvě metody, extrakci pomocí roztoku hydroxypropyl- β -cyklodextrinu a sorbentu Tenax, které měly vícebodové sekvenční uspořádání. Obě metody relativně přesně predikovaly biopřístupné množství polutantů pro půdní mikroorganismy. Vícebodová sekvenční extrakce PAU je také popsána v práci⁶⁹. Autoři extrahovali polutanty ze sedimentů pomocí roztoku hydroxypropyl- β -cyklodextrinu, surfaktantu Triton X-100 a polymerního sorbentu Tenax. Následně porovnali desorpční kinetické křivky s množstvím PAU, které v sedimentech zůstalo po biodegradaci. Výsledky ukázaly, že sekvenční extrakce pomocí hydroxypropyl- β -cyklodextrinu a polymeru Tenax predikovaly biopřístupné množství s vysokou přesností, a že použití surfaktantu Triton X-100 vedlo k extrakci i nedostupných PAU, a tedy biopřístupné množství bylo významně nadhodnoceno.

4.5. Nadkritická fluidní extrakce

Při nadkritické fluidní extrakci (SFE) dochází k rozpouštění látek v nadkritických tekutinách, které vznikají zahřátím plynu nebo kapaliny nad kritickou teplotu při současném stlačení nad kritický tlak. Ke studiu desorpčního chování organopolutantů se nejčastěji používá oxid uhličitý. Jeho hlavními výhodami jsou nízké hodnoty kritických parametrů (teplota 31 °C, tlak 0,73 MPa), bezpečnost, zdravotní a ekologická nezávadnost a ve srovnání s ostatními možnými tekutinami i nižší cena. Molekula CO₂ nemá dipólový moment, a proto se chová převážně jako nepolární rozpouštědlo. Při SFE je vzorek umístěn v extrakční cele, do které obvykle neustále proudí nové extrakční médium. Jedná se tedy o dynamickou metodu, která může mít jednobodové nebo vícebodové sekvenční uspořádání. Hlavní nevýhodou této techniky je její náročná instrumentace. Při extrakci se pracuje za vysokého tlaku, což vyžaduje dokonalou těsnost systému. Stanovení biopřístupné frakce metodou SFE je v porovnání s jinými metodami relativně rychlé, extrakce obvykle trvá několik desítek až stovek minut.

Průběh desorpce PCB studovali pomocí vícebodové sekvenční SFE (cit.^{75–77}). Sedimenty byly extrahovány oxidem uhličitým po dobu 4 h. Každou hodinu byly zvyšovány hodnoty pracovního tlaku a teploty. Změřené kinetické křivky byly porovnány a rozděleny na části rychlé, mírné, pomalé a velmi pomalé desorpce. Pokud se v průběhu extrakce mění extrakční parametry, nelze desorpční křivku popsat dvoufázovým kinetickým modelem. Proto se další autoři zaměřili na extrakce polutantů za konstantního tlaku a konstantní teploty, které při vícebodovém sekvenčním uspořádání umožňují F frakci stanovit.

Přehled prací, v nichž se autoři pomocí SFE snažili odhadnout velikost biopřístupné frakce různých polutantů, je uveden v tab. IV (cit.^{30,43,44,60,78–83}). Vícebodovou sekvenční SFE s nadkritickým CO₂ a vícebodovou sekvenční extrakci se sorbentem XAD-2, která simuluje uvolňování hydrofobních organických polutantů v reálných podmínkách, porovnávala práce⁴³. Autoři nejprve sledovali vliv teploty a tlaku CO₂ na tvar desorpčních křivek PAU. Extrakční podmínky SFE následně upravili tak, aby F frakce stanovené oběma metodami vzájemně korelovaly ($r^2 > 0,80$). Optimalizovanou SFE extrakci (50 °C, 20 MPa) a extrakci se sorbentem XAD-2 pak autoři použili ke studiu desorpce PAU z dlouhodobě kontaminovaných zemin na počátku, v průběhu a na konci bioremediačního experimentu. Porovnáním kinetických křivek a vypočítaných hodnot F autoři zjistili, že se obě použité extrakční metody významně neliší. Hodnoty F se zároveň shodovaly s množstvím PAU, které bylo po 343 dnech degradováno. Z výsledků této práce vyplynulo, že lze obě extrakční techniky použít k predikci mikrobiální degradace. Podstatnou výhodou SFE byla krátká doba extrakce (200 min), která s použitím sorbentu XAD-2 dosahovala 120 dnů. Z podmínek SFE této práce poté vycházela většina dalších autorů. Např. v pracích^{78,79} extrahovali PAU ze sazí a sedimentů nadkritickým CO₂ při teplotě 50 °C a tlaku 20 MPa. Kinetické křivky vyhodnotili pomocí dvoufázového modelu a zjistili, že jsou PAU velmi silně sorbované. Aby došlo k jejich úplnému uvolnění do prostředí, byl odhadnut potřebný čas na desítky až stovky let. Předpoklad, že tyto PAU nepředstavují velké riziko pro životní prostředí, nebyl v těchto pracích potvrzen žádným ekotoxikologickým testem.

Existují práce, které nepoužívají techniku vícebodové sekvenční SFE, ale mají jednobodové dynamické uspořádání^{82,83}. Vzorek je sice v neustálém kontaktu s novým CO₂, ale nedochází k pravidelnému odběru frakcí a velikost biopřístupné frakce je stanovena z celkového množství polutantů vyextrahovaného po určitém čase.

4.6. Subkritická vodní extrakce

Při subkritické vodní extrakci (SWE) je vzorek extrahován pomocí vody v kapalném stavu při vyšší teplotě a tlaku. Přehled publikovaných prací je uveden v tab. V. Pro tuto extrakci lze použít komerčně dostupný ASE[®] (accelerated solvent extraction) extraktor^{84,85}. Hlavní nevýhoda tohoto extraktoru spočívá v tom, že extrakce je rozdělena pouze do několika statických kroků. Tento nedostatek byl vyřešen konstrukcí relativně jednoduchého extraktoru, jehož základem jsou dvě vysokotlaké pumpy, a který pracuje v dynamickém uspořádání. Při extrakci zůstávají extrakční podmínky v cele se vzorkem po celou dobu extrakce konstantní a vzorek je v neustálém kontaktu s čerstvým extrakčním médiem, ve kterém by měly být polutanty dostatečně rozpustné^{86,87}.

Kubátová a spol.⁸⁷ porovnali vícebodovou sekvenční SWE (175 °C, 5 MPa) a SFE s oxidem uhličitým (50 °C, 20 MPa). Autoři sledovali vliv průtoku mobilní fáze na

Tabulka IV
Metody odhadu biopřístupného (biodostupného) množství organických polutantů: nadkritická fluidní extrakce

Extrakční činidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí uměle kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství představuje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	120 min	PAU	ne	ano - extrakce ze sazí a uhlí	výpočet <i>F</i> frakce ne z desorpční kinetické křivky	ne	ne	Velmi silná sorpce PAU na uhlí a saze, <i>F</i> frakce byla v 58 % případů < než 1 %	78
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce ne z desorpční kinetické křivky	ne	ne	Velmi silná sorpce PAU na říční sedimenty, k jejich úplnému uvolnění do prostředí, by byl potřeba čas dlouhý desítky až stovky let	79
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	ne	ne	Ekotoxicita PAU koreluje s biodostupnou i biopřístupnou frakcí, důkaz pomocí série vhodně navzájemných kontrolních vzorků	30
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky (po 60 s (Flash test))	ne	XAD – 120 dnů, metoda mediální účinnosti, biodegradace a <i>F</i> frakce stanovené oběma sekvenční, metodami – korelační koeficient > než 0,80	Relativně přesná predikce bioregradace a <i>F</i> frakce stanovené oběma sekvenční, metodami – korelační koeficient > než 0,80	43
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	120 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	ne	XAD – 120 dnů, metoda s rozdílnými vlastnostmi a různým obsahem PAU, <i>F</i> frakce stanovené oběma metodami – korelační koeficient > než 0,87	Ověření metod – extrakce půd dnů, metoda s rozdílnými vlastnostmi a různým obsahem PAU, <i>F</i> frakce stanovené oběma metodami – korelační koeficient > než 0,87	60
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20, 30 a 40 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	ne	ne	Relativně přesný a rychlý odhad přístupných PAU, nejvyšší korelace (r^2 0,81 až 0,99) mezi degradovaným množstvím PAU a velikostí <i>F</i> frakce při pracovním tlaku 300 bar	44

Tabulka IV
Pokračování

Extrakční číidlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí uměle kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství představuje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 30 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	degradace houbami bílé hniloby – <i>Irpex lacteus</i> a <i>Pleurotus ostreatus</i> po dobu 6 týdnů	ne	Korelační koeficienty mezi degradovaným množstvím PAU a velikostí <i>F</i> frakce byly 0,60–0,83	80
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	vícebodová sekvenční dynamická	200 min	PAU	ne	ano	výpočet <i>F</i> frakce z desorpční kinetické křivky	degradace houbami bílé hniloby – <i>Irpex lacteus</i> a <i>Panus tigrinus</i> po dobu 60 dnů	ne	Korelační koeficienty mezi degradovaným množstvím PAU a velikostí <i>F</i> frakce byly 0,62–0,90	81
Nadkritický oxid uhličitý, 40 °C, 40 MPa	1 bodová dynamická	60 min	PCB	ne	ano	množství PCB vyextrahovaných po 60 min	přijem larvami <i>Chironimus pallidivittatis</i> po 2,5 měsíční expozici	ne	SFE odstranila část biopřístupné frakce PCB, což se projevilo poklesem bioakumulačního faktoru	82
Nadkritický oxid uhličitý, 50 °C, 20 MPa	1 bodová dynamická	40 min	PAU a deuterované PAU	24 h	ano	množství PAU vyextrahovaných po 40 min	úmrtnost a příjem žítalami <i>Eisenia fetida</i> po 7, 14 a 28 dnech expozice, bioakumulace v žítalách <i>Aporrectodea caliginosa</i> nalezených v testované půdě	ne	Bioakumulační faktor v umělé kontaminovaných zemínách o 1–2 řády vyšší, predikce bioakumulace přesnější pomocí SFE oproti matematickému modelu	83

množství extrahovaných polutantů za konstantní teploty a tlaku. Z výsledků vyplynulo, že s rostoucím průtokem subkritické vody od 0,25 do 4 ml min⁻¹ rostlo množství vyextrahovaných PAU. Autoři proto použili k popisu desorpce termodynamický model. Naopak extrakce s nadkritickým CO₂ byla na průtoku téměř nezávislá a desorpční křivky popsali dvoufázovým kinetickým modelem. Tyto výsledky odpovídají faktu, že PAU ve vodě vykazovaly nedostatečnou rozpustnost. Islam a spol.⁸⁸ modelovali desorpční a kinetické chování naftalenu, fenanthrenu, fluoranthenu a pyrenu a zjistili, že v průběhu extrakce podkritickou vodou z uměle kontaminované zeminy dochází k postupnému uvolňování PAU. Autoři sice popsali desorpční křivky pomocí dvoufázového kinetického modelu, avšak tyto křivky byly získány z půdy pouze 14 dnů kontaminované, což dvoufázové chování PAU nevysvětluje. Velmi pravděpodobně získali křivky ovlivněné nižší rozpustností PAU v médiu.

5. Závěr

Chemické metody mají velký potenciál, který lze využít ke studiu biopřístupné a biodostupné frakce organických polutantů a k predikci environmentálního rizika, což také potvrdili v nejnovější souborné publikaci Cachada a spol.⁸⁹. Výběr vhodné extrakční metody a nastavení mírných extrakčních podmínek jsou klíčové a zvyšují přesnost stanovení. Mnohé techniky jsou nespolehlivé nebo vyžadují zdoluhavou optimalizaci. Zejména podmínky jednobodových extrakcí jsou těžko přenositelné pro jiný případ matrice, a proto se jeví jako nevhodné. Obecně vhodnější a univerzálnější se zdají být vícebodové sekvenční extrakce, které umožňují odhad rychle desorbovatelné frakce *F* hydrofobních organických polutantů v reálných podmínkách. Vícebodové sekvenční extrakce se sorbentem se tedy jeví jako nejpřesnější, avšak hlavním problémem zůstává jejich časová náročnost. Adekvátní náhradou se zdají být dynamické metody v sekvenčním uspořádání např. SFE nebo SWE, které mohou zkrátit dobu extrakce i o několik řádů. SWE je oproti SFE instrumentálně jednodušší, což může zajistit její snadnou dostupnost, nicméně extrakční podmínky SWE, které by byly vhodné k predikci biopřístupného množství hydrofobních polutantů, nebyly dosud spolehlivě optimalizovány.

Tato práce vznikla za podpory projektu Centrum kompetence číslo TE01020218 Tech-

Tabulka V
Metody odhadu biopřístupného (biodostupného) množství organických polutantů: subkritická vodní extrakce

Extrakční čímdlo	Metoda	Čas	Polutanty	Stárnutí uměle kontamin. zeminy	Stará zátěž	Biopřístupné množství představuje	Biologické metody – porovnání	Chemické metody – porovnání	Závěry	Lit.
Voda, 40, 80, 120, 160, 180 a 200 °C, 10,3 MPa	1 bodová, statická	5, 10, 20 min	izotopicky značený fenantren	14, 28, 49 dnů	ne	množství fenantrenu vyextrahováno po 5, 10, 20 min	mineralizace bakteriemi <i>Pseudomonas</i> sp. 21 dnů	ne	Biodegradaci nejvíce odpovídalo množství fenantrenu vyextrahováno po 10 min při 160 °C	84
Voda, 200 °C, 10,3 MPa	1 bodová, statická	10 min	PAU	21 dnů	ano	množství PAU vyextrahovaných po 10 min	mineralizace bakteriemi <i>Pseudomonas</i> sp. 28 dnů	hydroxypropyl- β -cyklodextrin 60 mM – 20 h, surfaktant Brij 700, 5,25 mM – 16 h, <i>n</i> -butanol – 120 s, metody jednobodové, statické	Nejpřesnější predikce biodegradace pomocí cyklodextrinu, nicméně výhodou surfaktantu je nižší cena, u SWE je kratká doba extrakce	85
Voda, 175 °C, 0,5 MPa	vícebodová, sekvenční, dynamická	1 h	PAU	ne	ano	porovnání desorpčních křivek	ne	SFE, 50 °C, 20 MPa – 120 min, metoda vícebodová, sekvenční, dynamická	SWE – vyextrahované množství PAU je závislé na průtoku mobilní fáze, pravděpodobně nedostatečná rozpustnost PAU v médiu, SFE – vyextrahované množství PAU na průtoku mobilní fáze nezávislé, desorpční křivky lze popsat dvoufázovým kinetickým modelem	86
Voda, 100, 150, 200, 250 a 300 °C, 10 MPa	vícebodová, sekvenční, dynamická	1 h	naftalen, fenantren, fluoranthen a pyren	14 dnů	ne	výpočet <i>F</i> frakce z desorpčních kinetické křivky	ne	ne	Křivky pravděpodobně ovlivněné nižší rozpustností PAU v médiu	87

nologické agentury České republiky a projektu číslo 13-28283S Grantové agentury České republiky.

LITERATURA

1. Semple K. T., Doick K. J., Jones K. C., Burauel P., Craven A., Harms H.: *Environ. Sci. Technol.* **38**, 228A (2004).
2. Alexander M.: *Environ. Sci. Technol.* **34**, 4259 (2000).
3. Hamelink J. L., Landrum P. F., Bergnam H. F., Benson W. H. (ed.): *Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions*. CRC Press, Boca Raton 1994.
4. Haws N. W., Ball W. P., Bouwer E. J.: *J. Contam. Hydrol.* **82**, 255 (2006).
5. Cornelissen G., Rigterink H., Ferdinandy M. M. A., van Noort P. C. M.: *Environ. Sci. Technol.* **32**, 966 (1998).
6. Lanno R., Wells J., Conder J., Bradham K., Basta N.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **57**, 39 (2004).
7. Reichenberg F., Mayer P.: *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 1239 (2006).
8. National Research Council. *Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Processes, Tools and Applications*. National Academies Press, Washington, DC 2002.
9. DIN ISO 17402: *Soil Quality – Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials*.
10. Harmsen J., Rulkens W., Eijsackers H.: *Land Contam. Reclamat.* **13**, 161 (2005).
11. Ma W. C., van Kleunen A., Immerzeel J., de Maagd P. G. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* **17**, 1730 (1998).
12. Krauss M., Wilcke W.: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 3931 (2001).
13. Jonker M. T. O., van der Heijden S. A., Kreitinger J. P., Hawthorne S. B.: *Environ. Sci. Technol.* **41**, 7472 (2007).
14. Hallgren P., Westbom R., Nilsson T., Sporring S., Bjorklund E.: *Chemosphere* **63**, 1532 (2006).
15. Trimble T. A., You J., Lydy M. J.: *Chemosphere* **71**, 337 (2008).
16. Haimi J., Paavola S.: *Environ. Toxicol. Chem.* **17**, 1114 (1998).
17. Jager T., Fleuren R. H. L. J., Hogendoorn E. A., De Korte G.: *Environ. Sci. Technol.* **37**, 3399 (2003).
18. Tang J. X., Robertson B. K., Alexander M.: *Environ. Sci. Technol.* **33**, 4346 (1999).
19. You J., Landrum P. F., Lydy M. J.: *Environ. Sci. Technol.* **40**, 6348 (2006).
20. Jager T., van der Wal L., Fleuren R. H. L. J., Barendregt A., Hermens J. L. M.: *Environ. Sci. Technol.* **39**, 293 (2005).
21. Schroll R., Bierling B., Cao G., Dörfler U., Lahaniati M., Langenbach T., Scheunert I., Winkler R.: *Chemosphere* **28**, 297 (1994).
22. Whitfield Åslund M. L., Zeeb B. A., Rutter A., Reimer, K. J.: *Sci. Total Environ.* **374**, 1 (2007).
23. Ficko S. A., Rutter A., Zeeb B. A.: *J. Environ. Qual.* **40**, 1870 (2011).
24. Sverdrup L. E., Nielsen T., Krogh P. H.: *Environ. Sci. Technol.* **36**, 2429 (2002).
25. Droge S. T. J., Paumen M. L., Bleeker E. A. J., Kraak M. H. S., van Gestel C. A. M.: *Environ. Toxicol. Chem.* **25**, 2423 (2006).
26. Eom I. C., Rast C., Veber A. M., Vasseur P.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **67**, 190 (2007).
27. Loibner A. P., Szolar O. H. J., Braun R., Hirmann D.: *Environ. Toxicol. Chem.* **23**, 557 (2004).
28. Lappalainen J., Juvonen R., Nurmi J., Karp M.: *Chemosphere* **45**, 635 (2001).
29. Simpson M. J., McKelvie J. R.: *Anal. Bioanal. Chem.* **394**, 137 (2009).
30. Čvančarová M., Křesinová Z., Cajthaml T.: *J. Hazard. Mater.* **254**, 116 (2013).
31. Semple K. T., Morriss A. W. J., Paton G. I.: *Eur. J. Soil Sci.* **54**, 809 (2003).
32. Semple K. T., Dew N. M., Doick K. J., Rhodes A. H.: *Environ. Pollut.* **140**, 164 (2006).
33. Praveček T. L., Christman R. F., Pfaender F. K.: *J. Contam. Hydrol.* **86**, 72 (2006).
34. Jazestani J., Prasher S. O.: *Biol. Eng. Trans.* **5**, 201 (2012).
35. Su L., Jia W., Hou C., Lei Y.: *Biosens. Bioelectron.* **26**, 1788 (2011).
36. Palmer G., McFadzean R., Killam K., Sinclair A., Paton G. I.: *Chemosphere* **36**, 2683 (1998).
37. Paton G. I., Reid B. J., Semple K. T.: *Environ. Pollut.* **157**, 1643 (2009).
38. Power B., Liu X., Germaine K. J., Ryan D., Brazil D., Dowling D. N.: *J. Appl. Microbiol.* **110**, 1351 (2011).
39. Liu X., Germaine K. J., Ryan D., Dowling D. N.: *Bioeng. Bugs* **1**, 198 (2010).
40. Girotti S., Ferri E. N., Fumo M. G., Maiolini E.: *Anal. Chim. Acta* **608**, 2 (2008).
41. Pehkonen S., You J., Akkanen J., Kukkonen J. V. K., Lydy M. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* **29**, 1976 (2010).
42. Cornelissen G., van Noort P. C. M., Govers H. A. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 1351 (1997).
43. Hawthorne S. B., Poppendieck D. G., Grabanski C. B., Loehr R. C.: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 4577 (2001).
44. Cajthaml T., Šašek V.: *Environ. Sci. Technol.* **39**, 8448 (2005).
45. Kelsey J. W., Kottler B. D., Alexander M.: *Environ. Sci. Technol.* **31**, 214 (1997).
46. Tang J. X., Liste H. H., Alexander M.: *Chemosphere* **48**, 35 (2002).
47. Bergknot M., Sehlin E., Lundstedt S., Andersson P. L., Haglund P., Tysklind M.: *Environ. Pollut.* **145**, 154 (2007).
48. Johnson D. L., Jones K. C., Langdon C. J., Pearce T. G., Semple K. T.: *Soil Biol. Biochem.* **34**, 1363 (2002).
49. Sun H. W., Li J. G.: *Water, Air, Soil Pollut.* **166**, 353

- (2005).
50. Gomez-Eyles J. L., Collins C. D., Hodson M. E.: *Environ. Pollut.* **159**, 918 (2011).
 51. Lei L., Suidan M. T., Khodadoust A. P., Tabak H. H.: *Environ. Sci. Technol.* **38**, 1786 (2004).
 52. Simpson S. L., Burston V. L., Jolley D. F., Chau K.: *Chemosphere* **65**, 2401 (2006).
 53. Cui X., Hunter W., Yang Y., Chen Y., Gan J.: *Biodegradation* **22**, 297 (2011).
 54. Cornelissen G., Rigterink H., ten Hulscher D. E. M., Vrind B. A., van Noort P. C. M.: *Environ. Toxicol. Chem.* **20**, 706 (2001).
 55. You J., Landrum P. E., Trimble T. A., Lydy M. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* **26**, 1940 (2007).
 56. Northcott G. L., Jones K. C.: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1111 (2001).
 57. Jefimova J., Irha N., Mägi R., Kirso U.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **89**, 888 (2012).
 58. Zhao D. Y., Pignatello J. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* **23**, 1592 (2004).
 59. van Noort P. C. M., Cornelissen G., ten Hulscher T. E. M., Belfroid A.: *Environ. Toxicol. Chem.* **21**, 2326 (2002).
 60. Hawthorne S. B., Poppendieck D. G., Grabanski C. B., Loehr R. C.: *Environ. Sci. Technol.* **36**, 4795 (2002).
 61. Landrum P. F., Robinson S. D., Gossiaux D. C., You J., Lydy M. J., Mitra S., ten Hulscher T. E. M.: *Environ. Sci. Technol.* **41**, 6442 (2007).
 62. ten Hulscher T. E. M., Postma J., den Besten P. J., Stroomberg G. J., Belfroid A., Wegener J. W., Faber J. H., van der Pol J. J. C., Hendriks A. J., van Noort P. C. M.: *Environ. Toxicol. Chem.* **22**, 2258 (2003).
 63. Sormunen A. J., Tuikka A. I., Akkanen J., Leppanen M. T., Kukkonen J. V. K.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **59**, 80 (2010).
 64. You J., Harwood A. D., Li H., Lydy M. J.: *J. Environ. Monit.* **13**, 792 (2011).
 65. Reid B. J., Stokes J. D., Jones K. C., Semple K. T.: *Environ. Sci. Technol.* **34**, 3174 (2000).
 66. Bernhardt C., Derz K., Kördel W., Terytze K.: *J. Hazard. Mater.* **261**, 711 (2013).
 67. Šmídová K., Hofman J., Ite A. E., Semple K. T.: *Environ. Pollut.* **171**, 93 (2012).
 68. Rhodes A. H., McAllister L. E., Semple K. T.: *Environ. Pollut.* **158**, 1348 (2010).
 69. Cuypers C., Pancras T., Grotenhuis T., Rulkens W.: *Chemosphere* **46**, 1235 (2002).
 70. Reid B. J., Stokes J. D., Jones K. C., Semple K. T.: *Environ. Toxicol. Chem.* **23**, 550 (2004).
 71. Stokes J. D., Wilkinson A., Reid B. J., Jones K. C., Semple K. T.: *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, 1325 (2005).
 72. Mayer P., Olsen J. L., Gouliarmou V., Hasinger M., Kandler R., Loibner A. P.: *Environ. Sci. Technol.* **45**, 2932 (2011).
 73. Gomez-Eyles J. L., Collins C. D., Hodson M. E.: *Environ. Pollut.* **158**, 278 (2010).
 74. Khan M. I., Cheema S. A., Shen C., Zhang C., Tang X., Malik Z., Chen X., Chen Y.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **60**, 107 (2011).
 75. Bjorklund E., Bowadt S., Mathiasson L., Hawthorne S. B.: *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2193 (1999).
 76. Pilorz K., Bjorklund E., Bowadt S., Mathiasson L., Hawthorne S. B.: *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2204 (1999).
 77. Hawthorne S. B., Bjorklund E., Bowadt S., Mathiasson L.: *Environ. Sci. Technol.* **33**, 3152 (1999).
 78. Jonker M. T. O., Hawthorne S. B., Koelmans A. A.: *Environ. Sci. Technol.* **39**, 7889 (2005).
 79. Yang Y., Cajthaml T., Hofmann T.: *Environ. Pollut.* **156**, 745 (2008).
 80. Leonardi V., Šašek V., Petruccioli M., D'Annibale A., Erbanová P., Cajthaml T.: *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **60**, 165 (2007).
 81. Covino S., Čvančarová M., Muzikář M., Svobodová K., D'annibale A., Petruccioli M., Federici F., Křesinová Z., Cajthaml T.: *J. Hazard. Mater.* **183**, 669 (2010).
 82. Nilsson T., Bjorklund E.: *Chemosphere* **60**, 141 (2005).
 83. Kreitinger J. P., Quinones-Rivera A., Neuhauser E. F., Alexander M., Hawthorne S. B.: *Environ. Toxicol. Chem.* **26**, 1809 (2007).
 84. Latawiec A. E., Swindell A. L., Reid B. J.: *Environ. Pollut.* **156**, 467 (2008).
 85. Latawiec A. E., Reid B. J.: *Environ. Int.* **35**, 911 (2009).
 86. Innemanová P., Velebová R., Najmanová P., Hudcová T., Cajthaml T., Čvančarová M., Pokorná L.: *Česká patentová přihláška UPV. PV 2013-294*.
 87. Kubátová A., Jansen B., Vaudoisot J. F., Hawthorne S. B.: *J. Chromatogr., A* **975**, 175 (2002).
 88. Islam M. N., Jo Y., Jung S., Park J.: *J. Ind. Eng. Chem.* **19**, 129 (2013).
 89. Cachada A., Pereira R., da Silva E. F., Duarte A. C.: *Sci. Total Environ.* **472**, 463 (2014).
- M. Čvančarová^{a,b} and T. Cajthaml^{a,b}** (^a*Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b*Institute for Environmental Studies, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Methods for Determination of Bioaccessibility and Bioavailability of Hydrophobic Organic Pollutants**
- Sorption of hydrophobic pollutants on organics in soil causes a substantial decrease in pollutant availability for transport and transformation processes. The pollutants gradually become unavailable for organisms, which can result in a reduction of ecotoxicity but also in a decrease in biodegradation efficiency. This review describes various biological and chemical methods that can be used for determination of bioaccessible or bioavailable compounds. The biological methods make it possible to study bioaccumulation or to measure toxicity of the pollutants. The chemical methods are based on incomplete extraction of the pollutants from the contaminated soil. The bioaccessi-

ble portion can be estimated at the equilibrium stage. Other and probably more appropriate approaches are represented by sequential dynamic methods modelling two-site desorption kinetic curves of pollutants which can be used for relatively precise and reliable assessment of the bioaccessibility (bioavailability) parameter.



Ústav lékařské chemie a biochemie Lékařské Fakulty Univerzity Palackého v Olomouci vypisuje v rámci doktorského studijního programu Lékařská chemie a klinická biochemie pro rok 2015 následující témata:

Aplikace elektrochemických senzorů a elektronických součástek v biomedicině

(školitel: Doc. Jan Vacek, Ph.D.); Projekt: GAČR 14-08032S a COST LD14033

Chemická modifikace proteinů ve vztahu k jejich struktuře a funkci (školitel: Doc. Jan Vacek, Ph.D.); Projekt: COST LD14033 a GAČR 14-08032S

Vliv mikrobiomu na vstřebávání a metabolismus cizorodých látek (školitelka: Doc. RNDr. Eva Anzenbacherová, CSc.); Projekt: GAČR (P303-12-0535)

Studium fototoxických a fotoprotektivních účinků přírodních látek (školitelka: doc. Alena Rajnochová Svobodová, Ph.D.); Projekt: podpořeno prostředky RVO: 61989592

Vývoj experimentálních metod studia metabolismu střeva pomocí in vivo mikrodialýzy (školitel: MUDr. Norbert Cibiček, Ph.D.); Projekt: GAČR (P303-12-0535)

Studium probíhá v prezenční formě. Termín pro podání přihlášky: **16. 5. 2015**, termín a místo přijímacího řízení: **19. 6. 2014**, začátek v 9:00 h, knihovna Ústavu lékařské chemie a biochemie, LF UP v Olomouci, Hněvotínská 3, Olomouc, kontakt: prof. RNDr. Jitka Ulrichová, CSc. Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, Česká republika, Tel: +420-585 632 302, e-mail: medchem@tunw.upol.cz, web: <http://www.medchem.upol.cz>
