

**Organické polutanty – metody
monitorování a jejich působení na lidské
zdraví**

**Organic pollutants – methods
of monitoring and their effect on human
health**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Autor bakalářské práce: Veronika Michálková

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Hana Kalábová

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Michálková** Jméno: **Veronika** Osobní číslo: **483302**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Organické polutanty - metody monitorování a jejich působení na lidské zdraví

Název bakalářské práce anglicky:

Organic Pollutants - Methods of Monitoring and Their Effect on Human Health

Pokyny pro vypracování:

Organické polutanty jsou organické sloučeniny, převážně antropogenního původu, které jsou vysoce odolné vůči fotolytické, chemické a biologické degradaci. V obecné části práce bude vypracována literární rešerše problému organických polutantů a vypracován přehled analytických metod jejich monitorování. Rešerše se bude věnovat diskutování možných fyziologických účinků těchto znečišťujících látek na lidský organismus. Na základě rešerše problematiky bude vybrána konkrétní látka, u které bude popsán mechanismus působení, výskyt, účinky a bude využita v praktické části k testování na buněčných liniích. Na základě měření proliferace buněk bude vyhodnocen vliv této látky.

Seznam doporučené literatury:

- [1] GUO, Wenjing, Bohu PAN, Sugunadevi SAKKIAH, Gokhan YAVAS, Weigong GE, Wen ZOU, Weida TONG a Huixiao HONG, Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and Detection Methods, online, International Journal of Environmental Research and Public Health, ed. 2019, ročník 16, číslo 22, Přístupné z: doi:10.3390/ijerph16224361, ISSN 1660-4601
- [2] ALHARBI, Omar M.L., Al Arsh BASHEER, Rafat A. KHATTAB a Imran ALI, Health and environmental effects of persistent organic pollutants, online, Journal of Molecular Liquids, ed. 2018, ročník 263, Přístupné z: doi: 10.1016/j.molliq.2018.05.029, ISSN 0167-7322
- [3] ADEGUN AYODEJI, O, AKINNIYESI THOMPSON, A, OLOLADE a I ISAAC, Review of the Transport and Health Effects of Persistent Organic Pollutants, online, Scholars International Journal of Chemistry and Material Sciences, ed. 2020, ročník 3, číslo 5, Přístupné z: doi: 10.36348/sijcms.2020.v03i05.001, ISSN 26168669

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

Ing. Hana Kalábová

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

Mgr. Romana Šíroká, Ph.D.

Datum zadání bakalářské práce: **15.02.2022**

Platnost zadání bakalářské práce: **22.09.2023**

doc. Mgr. Zdeněk Hon, Ph.D.
vedoucí katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
děkan

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Organické polutanty – metody monitorování a jejich působení na lidské zdraví vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 12.05.2022

.....
Veronika Michálková

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat mé vedoucí práce Ing. Hana Kalábová za cenné rady, trpělivost a ochotu.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o organických polutantech, které perzistují v ekosystémech. V teoretické části jsou organické polutanty definovány, a pro jednotlivé látky uveden jejich výskyt, toxicita a účinek na lidské zdraví.

Praktická část zkoumá vliv deltamethrinu obsaženého v insekticidu na lidské zdraví. Deltamethrin byl v koncentracích 1 %, 0,1 % a 0,01 % aplikován k laboratorní buněčné linii lidských hepatocytů SNU-475 a byl sledován vliv na proliferaci buněk v závislosti na době působení. Vyhodnocení probíhalo pomocí mikroskopických technik a spektrofotometrickým stanovením metabolické aktivity MTT testem. Byl popsán princip, postup této analytické metody.

Výsledky laboratorních testů byly diskutovány a porovnány s literaturou. Bylo prokázáno, že insekticid obsahující deltamethrin působí postupnou redukcí buněčné kultury. Účinky jsou více cytotoxické pro vyšší koncentrace a delší dobu působení.

Klíčová slova

organické polutanty, deltamethrin, MTT test, SNU-475

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with organic pollutants that persist in ecosystems. In the theoretical part, organic pollutants are defined, and for the individual substances their occurrence, toxicity, and effect on human health.

The practical part examines the effect of deltamethrin contained in the insecticide on human health. Deltamethrin was applied to the human hepatocyte cell line SNU-475 at concentrations of 1 %, 0,1 % and 0,01 % and the effect on cell proliferation was monitored as a function of time of action. The evaluation was performed using microscopic techniques and spectrophotometric determination of metabolic activity by MTT assay. The principle and procedure of this analytical method were described.

The results of laboratory tests were discussed and compared with the literature. The deltamethrin-containing insecticide has been shown to gradually reduce cell culture. The effects are more cytotoxic for higher concentrations and longer duration of action.

Keywords

organic pollutants, deltamethrin, MTT assay, SNU-475

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Cíle práce.....	10
3	Přehled současného stavu.....	11
3.1	Organické polutanty	11
3.1.1	Pesticidy.....	14
3.1.2	Polychlorované bifenyly.....	15
3.1.2.1	Polychlorované dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany.....	16
3.1.2.2	Polybromované bifenyly	17
3.1.2.3	Polybromované difenylethery.....	18
3.1.3	Polycyklické aromatické uhlovodíky	20
3.1.4	Bisfenol A.....	23
3.1.5	Těžké kovy	25
3.1.5.1	Chrom.....	28
3.1.5.2	Kadmium.....	28
3.1.5.3	Arsen.....	29
3.1.5.4	Olovo.....	29
3.1.6	Deltamethrin	30
4	METODIKA	32
4.1	Nasazení buněk ze zamražené kultury	32
4.1.1	Chemikálie a pomůcky.....	32
4.1.2	Příprava média DMEM (High Glucose)	32
4.1.3	Buňky SNU-475.....	33
4.1.4	Postup	33

4.2	Pasážování buněk	33
4.3	Výměna růstového média	34
4.4	Pokus s insekticidem Prost Fast K.....	34
4.5	MTT test Sigma CGD1-1KT.....	35
4.6	Spektrofotometrie	37
5	Výsledky	40
5.1	Pokus s insekticidem Prost Fast K.....	40
5.2	MTT test Sigma CGD1-1KT.....	40
5.2.1	1. měření.....	40
5.2.2	2. měření	41
6	Diskuze	44
7	Závěr	48
8	Seznam použitých zkratek.....	49
9	Seznam použité literatury	51
10	Seznam použitých obrázků	64
11	Seznam použitých tabulek.....	65

1 ÚVOD

Životní prostředí ovlivňuje život každého tvora na Zemi. Na všechny organismy má vliv voda, potrava i okolní ovzduší. Pokud je v některé z těchto uvedených možností nalezena toxická látka, má to negativní vliv i na jednotlivé jedince, kteří zde žijí.

Organické polutanty se řadí mezi látky, které poškozují lidské zdraví a většina z nich má karcinogenní charakter. Jejich nebezpečnost spočívá v tom, že jsme jimi stále obklopeni – v půdě, vodě i potravě.

Polutanty jsou známé tím, že perzistují v ekosystémech. Jejich negativní účinky jsou různorodé, ale všechny tyto látky mají jedno společné, bioakumulací dochází k tomu, že je lze najít i v organismech, kde se poté hromadí.

Bioakumulace ovlivňuje celý potravní řetězec, včetně člověka. Nejvíce zasaženými organismy jsou právě ti na vrcholu potravního řetězce.

Většinu těchto látek je již zakázáno používat, což nařizuje Stockholmská úmluva, která platí i pro Českou republiku. I při zákazu používání organických polutantů najdeme oblasti, které se s těmito toxickými látkami stále potýkají. Nežádoucím vlivům na životní prostředí se dnes již nevyhneme, můžeme ale přispět k lepší odpovědnosti nás všech.

V této bakalářské práci se zabývám polutanty, které jsou známé a mají na člověka toxický účinek.

2 CÍLE PRÁCE

V teoretické části bakalářské práci zpracovat rešerši k problému organických polutantů a přehled metod k jejich monitorování. Dále také objasnit fyziologické účinky těchto znečišťujících látek na lidský organismus, které jsou velmi často velmi toxické nejen pro člověka.

V praktické části si vybrat jednu konkrétní látku, u které bude popsán mechanismus působení, výskyt, účinky a bude využita v praktické části k testování na buněčných liniích.

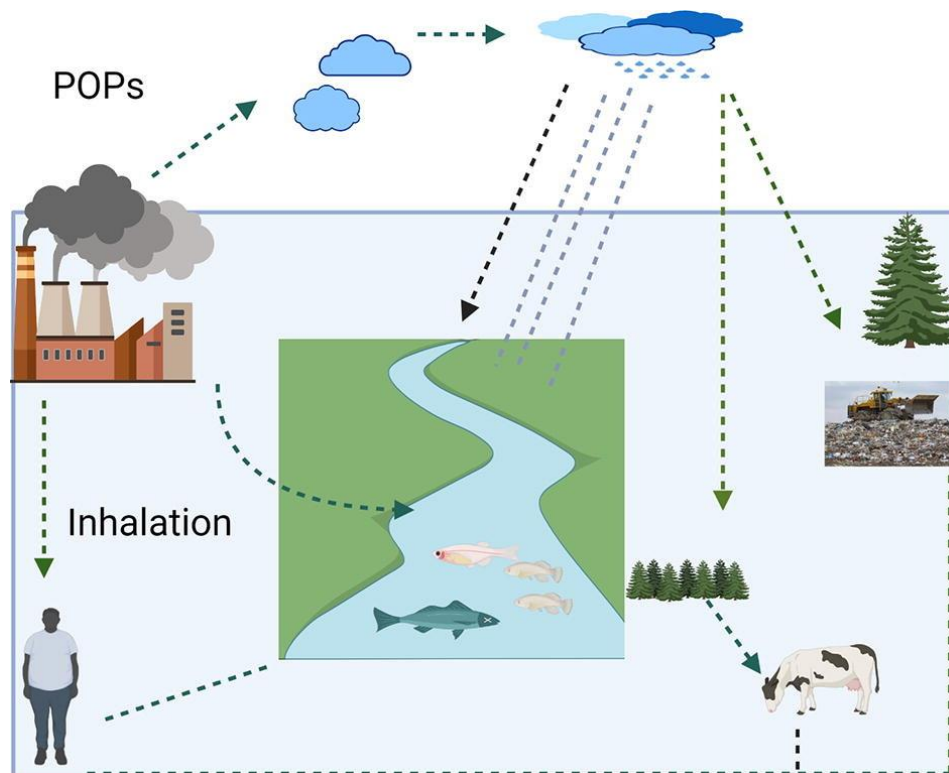
Konkrétně bude využit deltamethrin, u kterého se následně provede pokus s buněčnou linií SNU-475, s využitím MTT testu.

Praktická část se také bude zabývat buněčnou linií uvedenou v předchozím odstavci, MTT testem a spektrofotometrií, která je pro vyhodnocení tohoto testu nezbytná.

3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

3.1 Organické polutanty

Organické polutanty (POPs) se řadí mezi organické látky na bázi uhlíku. Jejich nebezpečnost spočívá v tom, že se mohou bioakumulovat v organismech (Obrázek 1), což může být pro daného jedince i život ohrožujícím stavem z hlediska toxicity (1; 2).



Obrázek 1 - Schéma perzistentních organických polutantů v ekosystému (11)

Vzhledem k potravnímu řetězci dochází k akumulaci polutantů směrem k vrcholu potravní pyramidy. Tento jev se nazývá biomagnifikace (3; 1).

Nejvýznamnější příjem těchto toxických látek představuje potrava, především ryby (2).

Bylo zjištěno, že již embryo v těle matky a následně narozené dítě, přichází na svět již s organickými polutanty v těle. Po narození se tak koncentrace těchto látek už jen zvyšuje kvůli jejich příjmu v potravě. Největší koncentrace polutantů nacházíme u starších lidí (3).

Mezi projevy perzistentních organických polutantů řadíme hormonální poruchy, rakovinu, nemoci kardiovaskulárního systému, obezitu, reprodukční a neurologické potíže, poruchy učení a cukrovku (Tabulka 1). Může se objevit i potrat u těhotných žen z důvodu defektu embrya (3).

Tabulka 1 - Vliv perzistentních organických polutantů na zdraví člověka (3)

Název POPs	Onemocnění
DDT	Obezita, diabetes mellitus 2. typu, endokrinní poruchy
PCB	Kardiovaskulární onemocnění, endokrinní disruptor, rakovina prsu, prostaty, varlat, vaječnicků a dělohy, obezita, diabetes mellitus 2. typu, markery jaterní dysfunkce (ALP, ALT, GGT)

Celý svět si uvědomuje rizika, které tyto toxické látky s sebou do celého světa přinášejí. Byl proto v roce 1995 vydán dokument, který obsahoval dvanáct perzistentních polutantů, které byly vybrány jako nejnebezpečnější pro organismus. V roce 2001 byla vytvořena Mezinárodní síť pro eliminaci POPs (IPEN), která si dala za úkol kontrolu rizik spojených s perzistentními organickými polutanty. Tato organizace spadá pod záštitu Stockholmské úmluvy (3; 4).

Stockholmskou úmluvu (Tabulka 2) přijalo v roce 2014 přibližně 179 zemí, včetně České republiky (3; 5).

Tabulka 2 – Vybrané perzistentní organické polutanty uznané Stockholmskou úmluvou (3)

Třída	Perzistentní organické polutanty
A	Aldrin, hexachlorbenzen, mirex, heptachlor, endosulfan
B	DDT, perfluorooktansulfonát (PFOS)
C	Pentachlorobenzen, polychlorované dibenzodioxiny (PCDD), polychlorované dibenzofurany (PCDF)
Nezařazené (stále se vyšetřují)	HBCD, hexachlorobutadien, pentachlorofenol

Všechny země, které Stockholmskou úmluvu přijaly, se zavázaly ke snižování organických polutantů perzistujících v ekosystémech. Především se klade důraz na snižování tvorby a používání perzistentních organických polutantů. Jako nejlepší možné řešení byl vyhodnocen zákaz výroby a následného využívání těchto toxických látek (3).

Dalším způsobem omezení je zapojení bioremediačních metod. Ty využívají geneticky modifikované mikroby spolu s polycyklickými aromatickými uhlovodíky. Enzymy zapojené do těchto metod, jsou upraveny na úrovni enzymatické exprese, aktivity a specifčnosti (3).

Pro odstranění perzistentních organických polutantů v ovzduší se používají adsorbenty schopné zachytit tyto látky i ve stopových množstvích (3).

3.1.1 Pesticidy

Pesticidy se využívají jako ochrana rostlin před škůdci. Mezi tyto látky řadíme i dichlordifenyltrichlorethan (DDT). DDT má prokázaný perzistentní a toxický účinek a z tohoto důvodu byl i zakázán. DDT se hromadí v tukové tkáni kvůli jeho lipofilitě (2; 6).

Jeho akumulace pak vede k poruchám nervového systému, ledvin, jater a reprodukce. Lze ho nalézt i v mateřském mléce. Je taktéž považován za lidský karcinogen (7; 8).

Při bioakumulaci DDT v těle se mohou například objevovat příznaky nevolnosti, zvracení, třesu, bolesti hlavy, slabosti, malátnosti, křečí, poškození jater, nádory jater či rakovina (8).

Pro odstranění DDT z půdy se využívá bioremediačních metod, například mikrob *Rhodococcus wratislaviensis*. Bioremediace znamená proces, při kterém se využívají u živých organismů, ať už mikroorganismů či rostlin, jejich enzymy k odstranění, degradaci nebo mineralizaci látek. Tyto látky následně transformují do méně toxických až neškodných forem (7; 9).

V některých rozvojových zemích je však stále používán při kontrole šíření malárie. Zde rizika spojená s bioakumulací DDT v potravě převážilo riziko nakažení malárií (2).

„Mezi novější, sofistikovanější pesticidy patří organofosfáty, karbamáty, neonikotinoidy, a pyrethroidy“ (1, s. 100). Tyto pesticidy nejsou příliš perzistentní, ovšem představují jiné potíže například pro včely kvůli jejich toxicitě (1).

3.1.2 Polychlorované bifenyly

Polychlorované bifenyly (PCB) se řadí mezi skupinu 209 substituovaných bifenyly, v jejichž struktuře nalezneme i chlor. Tyto látky byly komerčně syntetizovány (1; 10).

Další možností vzniku PCB jsou skládky, kde se nachází jak v domácím odpadu, tak i v tom průmyslovém (10).

Díky tepelné stabilitě, dielektrickým vlastnostem a oxidační odolnosti byly PCB široce používány v mazivech, regulátorech, elektrických kondenzátorech, jističích, transformátorech, průmyslové výrobě a kovových nátěrech, lepidlech, plastech a směsích barev (11).

„PCB působí jako endokrinní disruptory (narušují hormonální funkce) a patří mezi látky neurotoxické a mezi podezřelé karcinogeny“ (1, s. 100).

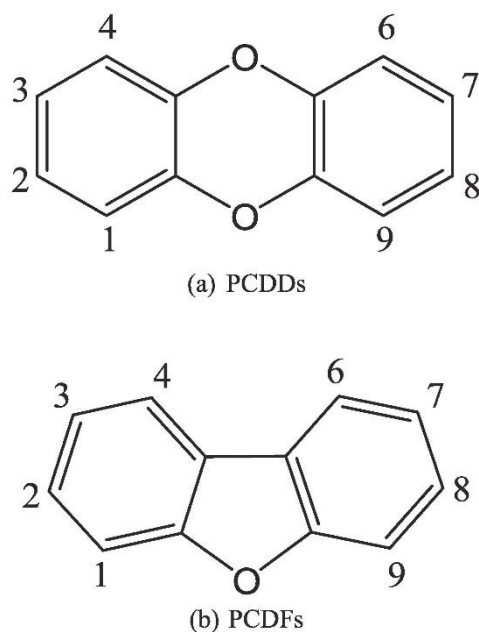
Ženy vystavené PCB během těhotenství mohou mít za následek těžkou poruchu motoriky a neurologické problémy, u dětí způsobují krátkodobou ztrátu paměti a snížené IQ (11).

Pro odstranění PCB se osvědčily grampozitivní i gramnegativní bakterie. Z grampozitivních například *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium* a z gramnegativních kmeny *Enterobacter*, *Alcaligenes* a *Pseudomonas*. Platí ovšem, že pro co nejúčinnější odstranění PCB se musí jednat o polychlorovaný bifenyly s pěti a méně chlory (11).

I přes to, že je výroba PCB již zakázána, stále se ve vysokém množství vykytuje u vrcholových predátorů, například kosatek, kteří žijí ve vodním prostředí (12).

3.1.2.1 Polychlorované dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany

Polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDD) a dibenzofurany (PCDF) vznikají především emisemi průmyslových procesů, mezi které řadíme spalování komunálních a zdravotnických odpadů. PCDD i PCDF (Obrázek 2) se mohou do ekosystému dostat i z čističek odpadních vod (13; 14).



Obrázek 2 - Struktura PCDD a PCDF (15)

V lidském organismu může PCDD a PCDF vyvolat toxické účinky, které zasahují reprodukční orgány, nervovou soustavu, imunitní systém, a i narušení endokrinního systému (13).

Toxicita polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů se liší v závislosti na počtu a poloze chloru. Zdaleka nejhorší z této skupiny látek je 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD), u kterého byl také prokázán karcinogenní účinek (1; 13; 15).

Emise PCDD i PCDF do životního prostředí se v posledních letech neustále snižují. Je tomu tak proto, že některé důležité zdroje těchto emisí, jako jsou spalovny odpadu, podléhají přísným kontrolám (13).

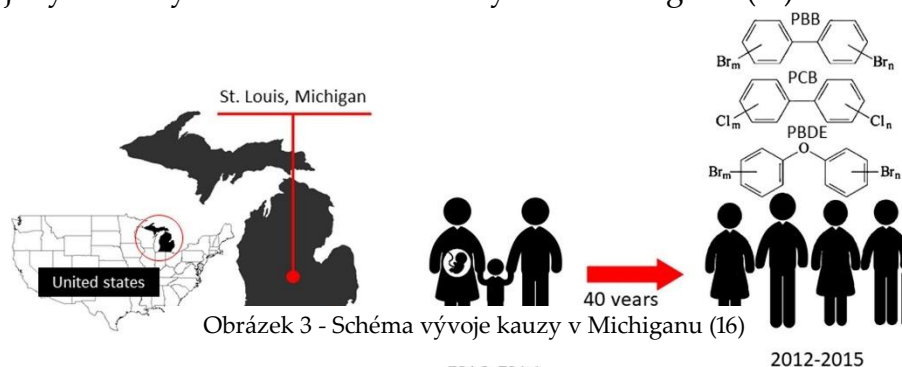
3.1.2.2 Polybromované bifenyly

Polybromované bifenyly (PBB) byly široce používány jako zpomalovače hoření v elektronických zařízeních, plastech, textiliích a nábytku. Tyto zpomalovače hoření, mezi které řadíme i polybromované difenylethery, se v Československu rozšířily na začátku roku 1990 (16; 17).

PBB mají u člověka medián poločasu eliminace přibližně 13 let. Po vstupu do lidského těla se PBB rychle dostávají do tkání bohatých na lipidy, zatímco část je metabolizována a pomalu vylučována stolicí během několika dní (16).

Rozšířená kontaminace polybromovanými bifenyly se vyskytla v Michiganu od roku 1973 do roku 1974, kdy byly PBB náhodně nahrazeny výživovým doplňkem v krmivech pro hospodářská zvířata. Lidé, kteří žili ve státě, byli vystaveni PBB několika cestami, a to včetně požití, inhalace a absorpce kůže. Odhaduje se, že 230-450 kg směsi s PBB bylo distribuováno na farmy a maloobchodníky po celém státě Michigan. Obyvatelé farem v Michiganu a okolních komunit byli vystaveni PBB konzumací kontaminovaného masa, vajec a mléčných výrobků (16).

V letech 2012 až 2015 byla prováděna monitorovací měření u obyvatel Michiganu. Hladiny PBB v séru mezi původními vysoce exponovanými skupinami (tj. chemickými pracovníky, rodinou chemických pracovníků a jednotlivci, kteří žili nebo dostávali potraviny z kontaminovaných farem) zůstávají výrazně vyšší než u ostatních obyvatel Michiganu (16).



PBB mohou být také přeneseny z matky na plod prostřednictvím placenty a kojení. Odpovídá to i tomu, že děti narozené po začátku kontaminace PBB mají násobně vyšší koncentrace PBB v séru oproti jejich vrstevníkům v USA. Vyšší míra potratů byla zjištěna u dcer vysoce exponovaných matek v reprodukčním věku (16).

Ve studiích na zvířatech bylo prokázáno, že vysoká perorální expozice PBB způsobuje negativní účinky štítné žlázy, jater, reprodukční a vývojové účinky a rakovinu (16).

Ženy, které byly vystaveny PBB jako děti, měly změněné hladiny menstruačních hormonů a měly větší pravděpodobnost, že budou mít dítě s nízkým Apgarovým skóre (16).

V roce 2016 byl Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny, která spadá pod Světovou zdravotnickou organizaci (WHO), přidán na seznam pravděpodobných karcinogenů, namísto pouze možného karcinogenu (16).

3.1.2.3 Polybromované difenylethery

Mezi zdroje PBDE řadíme zařízení pro elektronický odpad, zemědělské kaly z čistíren odpadních vod, spalování, prach, nebo eroze půdy (18).

Celková celosvětová produkce PBDE od roku 1970 do roku 2005 byla odhadnuta na 1,3–1,5 milionu tun (18).

I když PBDE byly omezeny Stockholmskou úmluvou, jsou stále často detekovány v prachu, ve vnitřním vzduchu, potravinách, tukové tkáni a v lidském séru ve vysokých koncentracích, což naznačuje, že lidé jsou často vystaveny PBDE. Také byly zjištěny v mateřském mléce, pupečníku a placentě (19; 20).

Nejvíce toxicky na plod, játra, nervovou soustavu či reprodukční systém působí PDBE s jedním až čtyřmi bromy. Bylo prokázáno, že PBDE narušuje homeostázu hormonů štítné žlázy u zvířat a lidí. Vzhledem k tomu, že jsou podobné struktury jako hormony štítné žlázy, trijodthyroninu (T3) a tyroxinu (T4), PBDE a jejich metabolity se mohou vázat na transportní proteiny hormonů štítné žlázy, což vede ke snížení cirkulace hormonů štítné žlázy. Je zde předpoklad, že díky narušené proliferaci štítné žlázy může dojít i ke vzniku nádorů. Existuje také možnost, že PBDE mohou hrát roli ve výskytu a rozvoji rakoviny prsu (19; 21; 18; 17).

Koncentrace PBDE v séru u dětí jsou dvakrát až třikrát vyšší než u jejich matek, pravděpodobně z důvodu více expozičních cest, včetně placentárního přenosu, mateřského mléka a z povrchů, na kterých ulpívá prach. Studie naznačují, že kojenci a batolata mají vyšší expozici PBDE ve srovnání se staršími dětmi nebo dospělými z důvodu požití půdy nebo kvůli sahání na kontaminované povrchy, na kterých se drží prach (20; 22).

U PBDE existuje také riziko, že při expozici v dětském věku narušuje jejich chování. Výsledky studií naznačují možnost, že se může rozvinout až do poruchy pozornosti. PBDE je schopné poškodit vývoj mozku dítěte během těhotenství, což může vést ke sníženému inteligenčnímu kvocientu (23; 24).

PBDE nalezneme v půdě, ve vodním prostředí, ale i ve sněhu či dešťových přeháňkách. Koncentrace PBDE jsou mnohem vyšší v asijských zemích, oproti těm evropským (18).

3.1.3 Polycyklické aromatické uhlovodíky

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) se skládají ze dvou nebo více benzenových kruhů. Většina PAU jsou bezbarvé, bílé nebo světle žluté pevné látky (25).

PAU jsou velkou skupinou více než 10 000 sloučenin, z nichž více než 100 je detekováno v atmosféře. Předpokládá se, že většina PAU pochází z pyrogenních zdrojů, jako jsou sopky a spalování ropných produktů. Mezi hlavní zdroje PAU v atmosféře patří spalování uhlí a dřeva pro automobilové plyny a vytápění domácností. (25; 26).

Mnoho studií potvrdilo přítomnost více než 500 typů PAU v cigaretovém kouři. Jak aktivní kouření, tak expozice pasivnímu kouření jsou důležitými zdroji toxických PAU (27).

Globální emise PAU dosáhly vrcholu v roce 1995 a postupně klesaly. Emise z rozvojových zemí se však v posledních letech zvyšují v důsledku rychlého růstu populace a následné vyšší poptávky po energii a zvýšené spalovací činnosti (28).

Nedávné studie uvádějí výskyt PAU v různých vodních systémech, jako jsou přítoky a odtoky z čistíren odpadních vod, podzemních vod, povrchových vod nebo mořských vod (25).

PAU jsou většinou hydrofobní a lipofilní, a proto je velmi obtížné je biologicky rozložit. Nejlépe se rozkládají ty, které mají dva až tři benzenové kruhy, protože jsou těžké. Rozpustnost PAU ve vodě se obvykle snižuje s rostoucí molekulovou hmotností, zatímco jejich teplota varu a tání se zvyšuje (25).

Jedním ze zástupců PAU je benzo[a]pyren, který vzniká v důsledku nedokonalého spalování při teplotách mezi 300 °C a 600 °C. Nachází se ve výrobcích od uhelného dehtu, zejména v uzeném a grilovaném masu či tabákovém kouři. Tato sloučenina má také prokázaný karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinek (25; 29).

V atmosféře může docházet k substituci PAU. Namísto původních prvků jako je síra, kyslík nebo dusík, může dojít k substituci za NO_x, O₃ či OH. Tyto substituované PAU se pak následně mohou dostávat zpět do ekosystému ve formě dešťových přeháněk (25).

Například substituované PAU s dusíkem činí látky polárnějšími a zvyšuje se jejich rozpustnost ve vodě. Dochází tak k tomu, že tyto látky mají výraznější toxicitu oproti původním PAU. (25).

PAU s kyslíkem tvoří OH radikál, což způsobuje fatální poškození biologických molekul v důsledku oxidačního stresu. Dochází zde tak k poškození DNA, proteinů a lipidů, zánětům, redukci antioxidantů, apoptóze (27).

PAU se bioakumulují v lidských a zvířecích tkáních, mají prokázaný mutagenní a karcinogenní účinek, včetně rakoviny trávicího traktu, jater, prsu a plic. Vyšší riziko rakoviny plic v důsledku expozice PAU byly hlášeny zejména v rozvojových zemích. Má také teratogenní účinky na plod, dále je zde možnost postižení dítěte, nízká porodní hmotnost, předčasný porod, opožděný vývoj dítěte a nízké IQ (25; 26; 27; 28; 30).

PAU byly detekovány v sedimentech, vodních zdrojích a odpadních vodách. Studie také ukázaly, že PAU mohou migrovat z prostředí na plodiny a potraviny, jako jsou oleje, ovoce a zelenina, ryby, mořské plody, mléko, hovězí maso, uzené

potraviny a pekařské výrobky. Procesy výroby potravin, zejména ty, které používají vysoké teploty, jako je pečení, uzení, smažení a pečení, s větší pravděpodobností vytvářejí a hromadí velké množství PAU. (25; 26; 30).

PAU jsou lipofilní sloučeniny, proto je najdeme i v olejích, jak již bylo uvedeno. Olivový olej lze rozdělit podle jejich kvality, od vysoce kvalitního extra panenského olivového oleje až po nekvalitní olivový olej z pokrutin. Extra panenský olivový olej se extrahuje z olivových plodů pouze mechanickými a fyzikálními metodami bez dalšího vysokoteplotního pražení a rafinace. Extra panenský olivový olej obvykle obsahuje velmi malé množství PAU, které pocházejí pouze ze stromu. Oproti tomu olivový olej z pokrutin se vyrábí sušením olivových výlisků hořícím kouřem a horkým vzduchem, následovaných extrakcí rozpouštědlem. Tyto procesy mají za následek vysokou koncentraci PAH v olivovém oleji (26).

PAU, které jsou v současné době detekovány v potravinách, jsou většinou v koncentracích $\mu\text{g}/\text{kg}$ (např. v jedlých olejích) nebo ng/ml (např. v nápojích). Tyto jednotky jsou široce používány v různých kategoriích potravin (26).

K odstranění PAU z ekosystému se využívá bioremediace. U těchto typů látek se může využít konkrétně fytobioremediace, tedy použití rostlin. Rostliny mohou totiž fungovat jako kontaminující bioakumulátory a bioindikátory kvůli jejich rozsáhlému rozložení povrchu a specifickým reakcím. Rostliny využívají svých rostlinných lipidů a následně libovolný počet reakcí oxidace, redukce nebo hydrolýzu. Nejvíce látek je zadrženo v kořenech rostlin, o něco méně pak ve stoncích. Fytobioremediace se využívá především pro PAU s malým počtem benzenových kruhů (25).

Dalším typem bioremediace je využití mikrobů. Zde se využívá *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes eutrophus* nebo *Neptunomonas naphthovorans* (25).

Jedním z problémů spojených s bioremediací PAU je toxicita těchto sloučenin pro buňky, protože tyto lipofilní látky mají přímý dopad na buněčné membrány (25).

K odstranění PAU lze využít i různé membránové filtrační systémy, jako je mikrofiltrace, ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmóza. Ty se používají při čištění vody a odpadních vod (25).

I přes to, že mnohé země, včetně Evropské unie, vydaly standardy, které mají snížit PAU v ekosystémech, jsou zde stále vysoké hodnoty PAU v potravinách v důsledku zvýšených emisí či jiné kontaminace (26; 31).

3.1.4 Bisfenol A

Bisfenol A, jinak nazývaný jako 2,2-bis (4-hydroxyfenyl)propan nebo BPA, byl poprvé syntetizován ruským chemikem Alexandrem Pavlovičem Dianinem v roce 1891. Jedná se o sloučeninu ve formě bezbarvých krystalů nebo prášku a může být uvolněna plastovými výrobky do potravin a nápojů (32; 33).

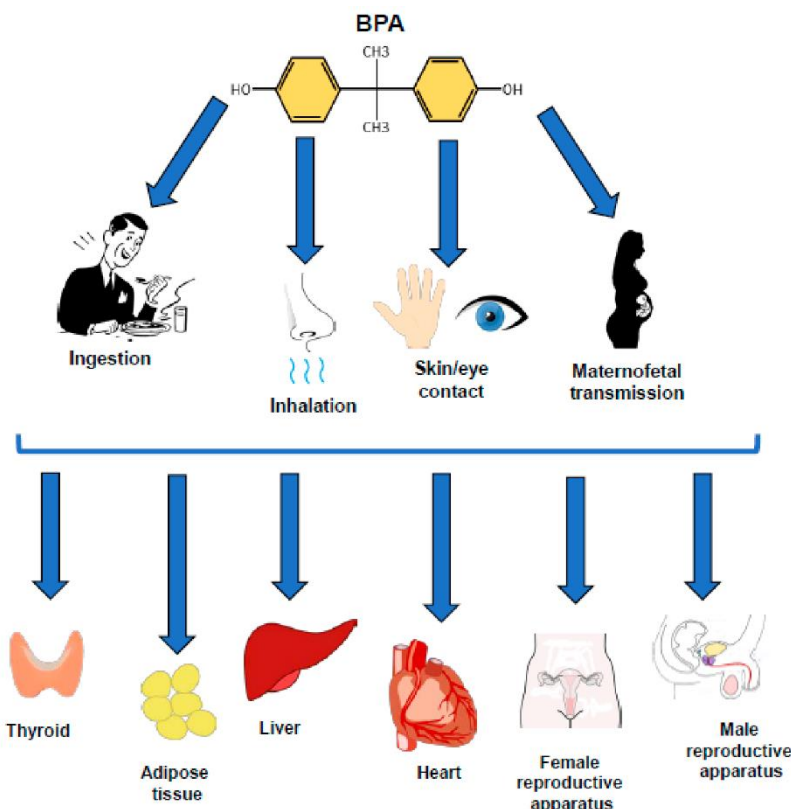
Od roku 1950 se BPA používá především k výrobě polymerních materiálů, jako jsou epoxidové pryskyřice, polykarbonáty a polysulfonové pryskyřice. Najdeme ho také v termotiskárnách, kde se s ním pak nejčastěji setkáme při tisku účtenek z obchodů (1; 32).

Vzhledem k rozšířenému používání těchto produktů se BPA stal jednou z nejvíce produkovanou chemikálií na světě. (32).

BPA byl detekován v povrchových vodách a říčních sedimentech po celém světě. Dále pak také v odpadních vodách a kalech uvolňovaných z čistíren odpadních vod a ovzduší (32).

Studie uvádí přítomnost BPA v lidské a zvířecí krvi, moči, tukové tkáni, mateřském mléce, placentě a plodové vodě (32; 33).

Bylo také prokázáno, že expozice BPA (Obrázek 4) je spojena s rozvojem onemocnění spojených s reprodukcí a plodností, včetně různých nádorů (vaječníků, prsu, dělohy, varlat, prostaty a jater). Existuje také souvislost mezi BPA a vyšším rizikem kardiovaskulárního onemocnění, diabetu druhého typu a obezity. Vyšší hladiny BPA jsou spojeny se špatnou funkcí ledvin a nižší glomerulární filtrací. Expozice u dětí může mít za následek poruchu učení a paměti (32; 33; 34).



Obrázek 4 - Způsoby příjmu BPA do organismu a následný možný účinek na člověka (33)

V poslední době se tato chemická látka stala známou kvůli tomu, že spadá do skupiny endokrinních disruptorů. BPA totiž patří do třídy sloučenin narušujících endokrinní činnost a vykazuje vlastnosti podobné hormonům. (32).

BPA interferuje se syntézou, sekrecí a signalizací hormonů štítné žlázy. Díky svému antiandrogennímu účinku působí BPA jako agonista na estrogenových receptorech a antagonist na androgenních receptorech. BPA interferuje se spermatogenezí a zhoršuje mužskou reprodukční funkci. Dále také ovlivňuje metabolismus glukózy, nástup a progresi několika nádorů a imunitní funkci vazbou různých receptorů, modulací transkripčních faktorů a vyvoláním epigenetických změn (33).

Obavy z potenciálně škodlivých účinků BPA na zdraví vedly k zákazu mnoha plastových výrobků, zejména těch, které se používají pro kojence a malé děti (33).

3.1.5 Těžké kovy

Těžkými kovy rozumíme látky, které mají buď vysokou atomovou hmotnost, nebo vysokou hustotě. Jedná se o kovové chemické prvky a metaloidy, které jsou toxické pro životní prostředí a člověka (35).

Těžké kovy se přirozeně nacházejí v zemské kůře od vzniku Země. Vzhledem k nárůstu používání těžkých kovů došlo k nárůstu kovových látek v ekosystému. Mezi zdroje těžkých kovů v přírodě řadíme těžbu kovů, tavení, vyluhování kovů z různých zdrojů, jako jsou skládky či skládky odpadu. Dalším důvodem vzrůstu těžkých kovů je i zemědělství, při kterém byly používány pesticidy, insekticidy a hnojiva. Přírodní zdroje mohou také zvýšit znečištění těžkými kovy, spadá sem sopečná činnost, koroze kovů, odpařování kovů z půdy a vody, eroze půdy i geologické zvětrávání (35).

Těžké kovy mohou vstoupit do organismu požitím kontaminovaných potravin, dýcháním, pitím kontaminované vody, kontaktem s kůží ze zemědělských, farmaceutických, výrobních, obytných a průmyslových oblastí (35).

Kovy nelze rozložit a jsou biologicky nerozložitelné. Organismy mohou detoxikovat kovové ionty skrytím prvku v proteinu nebo jejich uložením do intracelulárních granulí v nerozpustné formě, která se vylučuje stolicí nebo jej dlouhodobé skladovat. Když jsou těžké kovy spolknuty či vdechnuty do našeho těla, dochází k bioakumulaci. Nejběžnější způsob příjmu těžkých kovů spočívá ve formě potravin, především ryb. Některé kovy jsou ovšem nezbytné pro organismus, které jsou potřebné pro různé biochemické a fyziologické funkce. Mohou však být toxické, pokud jsou přítomny ve velkém množství (35; 36).

Toxicita těžkých kovů ovlivňuje mitochondrie, jádra buněk, lysozomy, buněčnou membránu a enzymy. Ukázalo se, že kovové ionty interagují s DNA a jadernými proteiny, což způsobuje poškození DNA, což následně vede k poškození buněčného cyklu, apoptóze nebo karcinogenezi. Toxicita kovů pak způsobuje tvorbu volných radikálů, které způsobují poškození DNA (35).

Těžké kovy způsobují gastrointestinální a renální potíže, kardiovaskulární poruchy, nádory, tubulární a glomerulární dysfunkce anebo osteoporózu (36).

Dlouhodobá expozice těžkým kovům může způsobit svalovou dystrofii, Alzheimerovu chorobu, různé typy rakoviny, roztroušenou sklerózu, dysfunkci ledvin, poruchy plodnosti, funkce jater, imunitního, nervového a endokrinního systému (36; 37).

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) rozdělila těžké kovy do čtyř skupin (Tabulka 3) (35).

Tabulka 3 – Rozdělení vybraných těžkých kovů dle IARC z hlediska karcinogenity (35)

Skupina	Stupeň karcinogenity	Těžký kov
1	Karcinogenní	Arsen, kadmium, sloučeniny niklu
2A	Pravděpodobně karcinogenní	Anorganické sloučeniny olova
2B	Možná karcinogenní	Oxid molybdeničitý, olovo, kobalt
3	Neklasifikovatelná karcinogenita	Měď, selen
4	Pravděpodobně není karcinogenní	Mangan, stříbro, zinek

K odstranění těžkých kovů z odpadních vod je využíváno přidávání srážecího činidla. To následně reaguje s ionty těžkých kovů a vznikají nerozpustné sraženiny. Vzniklé sraženiny se následně odstraní pomocí sedimentace nebo filtrace. K odstranění například mědi či chromu se používají hydroxidová činidla, konkrétně $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a NaOH (36).

Dále může být použita fytobioremediace. Rostliny jsou citlivé na přítomnost těžkých kovů, proto se využívají geneticky pozměněné druhy. Příjem kovů do rostlin se odehrává díky fytoextrakci, fytostabilizaci, rhizoremediaci nebo fytofiltraci. Některé rostliny dokážou díky detoxikačnímu systému přijmout větší i množství kovů. Lze také využít bioremediaci s mikroblem, například *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* a *Pseudomonas fluorescens* (36).

3.1.5.1 Chrom

Perorální příjem $\text{Cr}^{\text{VI}+}$ způsobuje akutní otravu a s tím spojené příznaky, nevolnost, zvracení, horečky, průjmy, závratě, toxické nefritidy, poškození jater, případně až kóma anebo smrt (35).

Vdechování $\text{Cr}^{\text{VI}+}$ nebo kontaktem s kůží způsobuje chronickou otravu, což může způsobit alergickou kontaktní dermatitidu a ekzém, zánět dásní, podráždění sliznic, bronchitidu, onemocnění jater a ledvin, sinusitidy, zápal plic nebo rakovinu plic (35).

Přechodné stavy chromu jako Cr^{5+} a zejména Cr^{4+} vedou k tvorbě volných radikálů, které pravděpodobně poškozují lipidy, proteiny a DNA (38; 35).

3.1.5.2 Kadmium

Člověk se do kontaktu s tímto prvkem dostane při spalování fosilních paliv, v tabákovém kouři, komunálním odpadu anebo v kontaminovaných potravinách či vodě (38).

Kadmium je prvek, který je známý pro svou karcinogenitu a je extrémně toxický i při nízkých koncentracích (38).

Způsobuje nefrotoxicitu, neplodnost, psychologické poruchy, gastrointestinální poruchy, poruchy centrálního nervového systému, poruchy imunitního systému a rakovinu. Narušuje metabolismus vitamínu D a díky své podobě s vápníkem se může ukládat v kostech, což se projevuje zlomeninami kostí. Má negativní vliv i na DNA. Studie uvádějí, že inhibuje reparaci DNA, protože působí jako slabý mutagen, což následně vede ke zvýšené produkci protoonkogenů (38; 35).

3.1.5.3 Arsen

Primárním zdrojem expozice arsenem je pro člověka kontaminovaná pitná voda (38).

Arsen najedeme v organické i anorganické podobě. U organické formy ale nedochází k bioakumulaci (38).

Oxidační stavy arsenu jsou buď As^{3+} , nebo As^{5+} . Toxičtější pro organismus je stav s oxidačním stavem As^{3+} , má totiž pomalejší rychlost vylučování a snadný vstup do buněk (38).

Anorganická forma arsenu má za následek podráždění gastrointestinálního systému, podráždění plic, změny na kůži, sníženou produkci erytrocytů a leukocytů, srdeční problémy, diabetes mellitus, poškození mozku, poškození DNA, epigenetické modifikace, neplodnost a potraty (35; 38).

Organický arsen způsobuje žaludeční nevolnosti a poškození nervů bez toho, aby ovlivňoval DNA (35).

Chronická expozice arsenem způsobuje multisystémové onemocnění nazývané jako arsenikóza (38).

3.1.5.4 Olovo

Expozice olovem nastává prostřednictvím kontaminované vody, půdy nebo vzduchem (38).

U dospělých lidí způsobuje deformity kostí, hematologické poruchy, neurodegeneraci, hypertenzi, potraty, poruchy funkce ledvin, poranění mozku, bolesti břicha, poškození spermií, kognitivní poruchy (38; 35).

Naopak u dětí vede k neurologickým poruchám, které mají za následek změny ve vývoji mozku a centrálního nervového systému, sníženou inteligenci, nižší stupeň dosaženého vzdělání, snížení pozornosti a asociální chování (35; 38).

Olovo se hromadí v měkkých tkáních, nervových buňkách a kostech. Zároveň také díky podobnosti s vápníkem, hořčíkem a železem dochází k poruchám signalizace neurotransmiterů, enzymatické regulace a tvorbě proteinů (38).

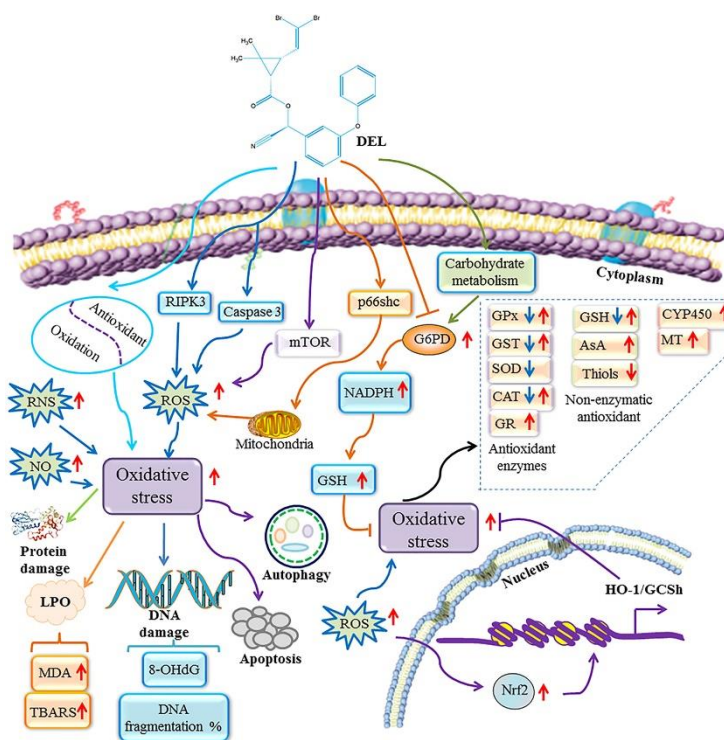
3.1.6 Deltamethrin

Deltamethrin, který patří do skupiny pyrethroidů, se používá jako insekticid a akaricid po celém světě. Je to jeden z nejúčinnějších známých insekticidů a je široce používán k ochraně plodin, ovoce, zeleniny a ryb před škůdci a parazity. Lidé jsou tak vystaveni pyrethroidům kvůli jejich rozšířenému použití v zemědělství, domácnostech, školách, parcích, bytech a pracovnících. Lidé jsou také vystaveni pyrethroidním zbytkům v potravinách, zejména na ovoci a zelenině. (39; 40).

Vzhledem k tomu, že je deltamethrin v různých oblastech široce nadužíván, velké množství zbytkového deltamethrinu se nevyhnutelně hromadí ve vodních zdrojích a půdě, což způsobuje jedovaté znečištění ekologického prostředí (41).

Orální požití vody a potravin znečištěných deltamethrinem je pro člověka škodlivé (39).

Deltamethrin způsobuje výraznou toxicitu u obratlovců a bezobratlých, pravděpodobně v důsledku oxidačního stresu (Obrázek 5) (39).



Obrázek 5 – Vývoj oxidačního stresu v důsledku působení deltamethrinu (39)

V této bakalářské práci byl insekticid obsahující deltamethrin využit v praktické části.

4 METODIKA

4.1 Nasazení buněk ze zamražené kultury

4.1.1 Chemikálie a pomůcky

- DMEM (High Glucose)
- Fetální bovinní sérum (FBS)
- Antibiotika (ATB)
- Buňky SNU-475

- Pipeta BIOHIT Midi Plus
- Pipeta 1000 µl
- Špičky
- Mikrozkušavky
- Centrifuga Sigma 3-30 KS
- Mrazák ULT C75
- Laminární box Aura Vertical S. D. 4
- Termobox (37 °C) v atmosféře s 5% CO₂ a 90% vlhkostí
- Petriho misky TC treated o průměru 10 cm a 6 cm
- Sterilní sítko
- Sterilní stříkačka
- Třepačka Biosan ES-20
- Spektrofotometr BioTek Synergy HT

4.1.2 Příprava média DMEM (High Glucose)

Do 50 ml zkušavky napipetujeme 45 ml DMEM High Glucose, 5 ml FBS a 1 ml antibiotik.

4.1.3 Buňky SNU-475

SNU (Seoul National University) čítá celkem 109 buněčných linií, které pochází od korejských pacientů trpících různým typem rakoviny od roku 1982. (42; 43)

Tyto linie buněk si lze následně zakoupit od Korean Cell Line Bank. Slouží k výzkumům a studiím (42; 43).

Buňky SNU-475, které jsou používány v praktické části, byly získány od korejského pacienta trpícího konkrétně rakovinou jater. Navíc trpěl i hepatitidou typu B (42; 43; 44).

4.1.4 Postup

1. Buňky SNU-475 rozmrazíme ve vodní lázni po dobu několika minut.
2. Do 15 ml zkumavky si napipetujeme 2 ml buněčné suspenze SNU-475 a po kapkách přidáme 6 ml růstového média.
3. Zkumavku dáme do centrifugy a točíme na 1100 ot/min po dobu 5 minut.
4. Supernatant slijeme a peletu rozmícháme, přidáme do 1 ml média. Tuto směs pipetujeme do příslušných Petriho misek a dáme do kultivačního boxu vyhřátého na 37 °C.

4.2 Pasážování buněk

1. Médium z Petriho misky odsajeme pomocí pipety a buňky opláchneme pomocí PBS.
2. PBS poté opět odpipetujeme a přidáme 0,25% trypsin smíchaný s EDTA.

3. Petriho misku vložíme do termoboxu vyhřátého na 37 °C po dobu 10 minut. Buňky zkontrolujeme v mikroskopu.
4. Přidáme do Petriho misek 8 ml DMEM, které zastaví účinek trypsinu. Do 15 ml zkumavky si přepipetujeme směs DMEM a trypsinu z Petriho misek.
5. Zkumavku dáme centrifugovat při 1100 ot/min po dobu 5 minut. Supernatant slijeme a zbývající peletu pipetujeme do nové Petriho misky.

4.3 Výměna růstového média

1. Buňky pravidelně 2x týdně kontrolujeme pod mikroskopem a vyměníme růstové médium.
2. Staré médium odsajeme a napipetujeme 8 ml čerstvého média do Petriho misky, dáme opět do inkubátoru.

4.4 Pokus s insekticidem Prost Fast K

Insekticid Prost Fast K o objemu 250 ml byl vybrán a koupen zcela nový a neotevřený. Tento insekticid se používá k hubení mšic a jiného savého a žravého hmyzu. Obsahuje účinnou látku deltamethrin o koncentraci 0,06 g/l. Sám výrobce uvádí, že se deltamethrin déle rozkládá, ale „*nepředpokládá se perzistence, bioakumulace a toxicita* (45, s. 9).“

1. Postupujeme stejně jako u pasážování buněk, pouze s tím rozdílem, že zbývající peletu nedáváme do Petriho misky, ale na sklíčko, kde přidáme trypanovou modř. Pipetujeme 8 μ l buněk i trypanové modři. Směs smícháme a přepipetujeme opět 8 μ l do Bürkerovy komůrky.
2. Buňky spočítáme a uděláme průměr.

Průměrná hodnota buněk v Bürkerově komůrce byla 115 na velký čtverec.

$$115 \cdot 2 \cdot 10^4 = 3\,000\,000 \text{ v 1 ml suspenze}$$

V rámci počtu buněk v 1 ml suspenze je adekvátní, aby v Petriho misce bylo 100 000 buněk v 1 ml, potřebujeme tedy napipetovat 33 μ l buněčné suspenze.

3. Do Petriho misek pipetujeme 5 ml média a 33 μ l buněk, tato miska slouží jako kontrolní médium.
4. Do další Petriho misky pipetujeme 5 ml média, 33 μ l buněk a 50 μ l insekticidu Prost Fast K, kde je koncentrace insekticidu 1 %. Do další misky dáme opět 5 ml média, 33 μ l buněk a 5 μ l insekticidu, zde je koncentrace 0,1 %. Insekticid byl před pipetováním sterilizován přes sterilizační sítko a do čisté mikrozkuhavky pipetován sterilní stříkačkou.

Hodnota koncentrace na obalu výrobku = 0,06 g/l

Hodnota koncentrace u 1% insekticidu byla tedy 0,0117 mmol/l,

u 0,1% insekticidu 0,00118 mmol/l.

5. Petriho misky dáme do inkubátoru a pravidelně vyměňujeme médium.

4.5 MTT test Sigma CGD1-1KT

MTT test Sigma CGD1-1KT využívá principu měření živých buněk díky aktivitě mitochondriální dehydrogenázy, která se nachází v buňce. Ta přeměňuje žlutý MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyltetrazolium bromid) na fialový formazan, který je nerozpustný (46; 47).

Měření se následně provádí spektrofotometricky. Platí, že čím je roztok fialovější, tím je i vyšší absorbance, což značí více živých buněk v roztoku (46; 47).

- Po pasážování a zhodnocení celkového počtu buněk v Bürkerově komůrce si připravíme mikrotitrační destičku. Na destičku jsme vložili 10 buněk na cm^2 .
- Do jamek pipetujeme jako negativní kontrolu (NK) 17 μl buněk a 100 μl média. Do dalších jamek pipetujeme stejný objem, ale přidáváme navíc i insekticid Prost Fast K o koncentracích 1 % (vzorek 1), 0,1 % (vzorek 2) a 0,01 % (vzorek 3). Koncentrace byly připraveny desítkovým ředěním, ředěno bylo pomocí PBS. Z každé koncentrace bylo pipetováno 10 μl . V každém jednom měření jsou vzorky v tripletu (Tabulka 4).

Tabulka 4 – Ukázka jednoho tripletu na mikrotitrační destičce

Sloupec	Řádek	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	

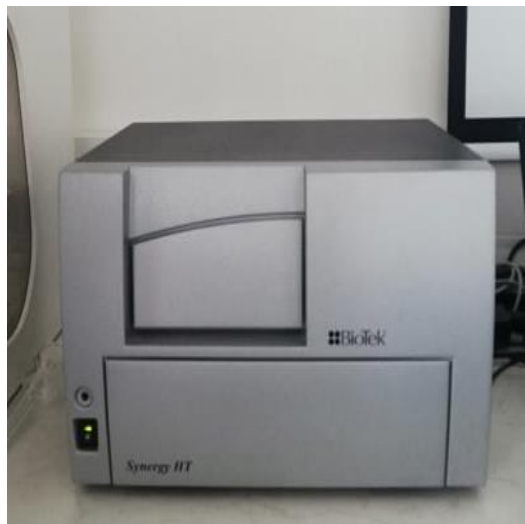
Tripletly měly být celkem třikrát (celkem 36 jamek), ale u třetího tripletu došlo k tomu, že došly buňky, takže celkový počet jamek připravených k měření je 31 (32 i s blankem).

- Inkubujeme 24 hodin v inkubátoru při 37 °C.
- Po inkubaci přidáváme MTT roztok do jamek. K negativní kontrole a blanku pipetujeme 11,7 μl , ke vzorkům 12,7 μl . K blanku přidáváme navíc ještě 117 μl média. Inkubujeme 3 hodiny při 37 °C.

5. Médium odsajeme a pipetujeme do jamek isopropanol. K negativním kontrolám 117 μl a ke vzorkům 127 μl . Destičku přeneseme na třepačku do temné místnosti po dobu 5 minut.
6. Obsah jamek o objemu 100 μl pipetujeme do stripů a měříme absorbanci na spektrofotometru.



Obrázek 6 - Třepačka Biosan ES-20 (vlastní zdroj)



Obrázek 7 - Spektrofotometr BioTek Synergy HT (vlastní zdroj)

4.6 Spektrofotometrie

UV absorpční spektrometrie je široce aplikována v analytické chemii, biochemii a biomedicínských aplikacích díky své jednoduchosti, flexibilitě a nízkým nákladům (48).

Ultrafialová a viditelná absorpční spektrofotometrie je technika založená na měření útlumu elektromagnetického záření absorpční látkou (49).

Spektrofotometrie se používá ke kvantifikaci množství chromogenu produkovaného chemickou reakcí mezi analytem v klinickém vzorku a činidly selektivními pro tento analyt. Množství chromogenu z reakce je úměrné množství analytu ve vzorku (50).

Tuto vlastnost lze vyjádřit pomocí Lambert-Beerova zákona:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c,$$

kde A značí absorbanci, ε je molární absorpční koeficient, l znamená délku absorpční vrstvy a c udává koncentraci (49).

Absorbance udává, kolik světla bylo pohlceno vzorkem. Jedná se veličinu, která patří mezi bezrozměrné (51).

Transmitance τ značí, kolik dopadajícího světla určité vlnové délky prošlo vzorkem, což lze vyjádřit vztahem

$$\tau = \frac{\Phi}{\Phi_0},$$

kde Φ značí záření, které prošlo absorpčním prostředím, Φ_0 znamená záření, které do prostředí vstoupilo (51; 52).

Mezi transmitancí a absorbancí platí vztah

$$A = -\log_{\tau},$$

kde A znamená absorbanci, τ transmitanci (52).

Tato metoda patří mezi metody srovnávací, přičemž se měří hodnota absorbance. Tato hodnota pak udává koncentraci měřeného analytu ve vzorku (52).

Výsledky lze vyhodnocovat pomocí metody kalibrační křivky, kdy proměříme absorbanci kalibračních roztoků o známé koncentraci, nebo metodou standardního přídatku (52).

5 VÝSLEDKY

5.1 Pokus s insekticidem Prost Fast K

Po třech dnech se na Petriho misce s 1% objevilo přibližně < 10 % mrtvých buněk. U Petriho misky s 0,1% insekticidem to bylo přibližně < 5 % mrtvých buněk oproti kontrolní misce. Zbylé buňky byly narostlé a živé.

Po pěti dnech na 1% insekticidu narostla plíseň, která překrývala polovinu Petriho misky.

U 0,1% koncentrace byly buňky většinou živé, pouze přibližně v < 10 % případech se jednalo o buňky mrtvé. Neobsahovaly jakoukoliv viditelnou kontaminaci.

Po sedmi dnech narostla plíseň i u 0,1% insekticidu, ta překrývala plochu Petriho misky přibližně ze dvou třetin.

Sterilizace přes buněčné síto tak nebyla dostačující, což se projevilo tak, že u vyšší koncentrace se insekticidu přidávalo větší množství, což mělo za následek rychlejší nárůst plísně.

5.2 MTT test Sigma CGD1-1KT

5.2.1 1. měření

Tabulka 5 - Naměřené hodnoty absorbance v 1. měření při 570 nm

	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	Blank
Absorbance	0,120	0,168	0,176	0,163	0,139	0,114	0,050	0,053	0,040	0,052	0,063	0,102	0,050

Tabulka 6 - Naměřené hodnoty absorpance v 1. měření při 690 nm

	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	Blank
Absorbance	0,062	0,097	0,096	0,093	0,082	0,064	0,043	0,050	0,039	0,043	0,053	0,065	0,042

Uvedené hodnoty absorpance jsou velmi nízké. Také očekávané fialové zbarvení jamek nebylo přítomno, naopak spektrum barev bylo od průhledné po světle žlutou.

5.2.2 2. měření

Tabulka 7 - Naměřené hodnoty absorpance ve 2. měření při 570 nm

	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	Blank
Absorbance	0,049	0,137	0,051	0,092	0,042	0,058	0,041	0,042	0,039	0,045	0,053	0,062	0,048

Tabulka 8 - Naměřené hodnoty absorpance ve 2. měření při 690 nm

	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	NK	Vz. 1	Vz. 2	Vz. 3	Blank
Absorbance	0,049	0,137	0,051	0,092	0,042	0,058	0,041	0,042	0,039	0,045	0,053	0,062	0,046

K posouzení výsledků se používají vzorce pro stanovení toxicity buněk C

$$C = \left(1 - \left(\frac{A_V}{A_{NK}}\right)\right) \cdot 100,$$

kde A_V značí absorpaci vzorku a A_{NK} absorpaci negativní kontroly.

V rámci statistického zpracování se využívá aritmetický průměr \tilde{x}

$$\tilde{x} = \frac{A_{1A} + A_{1B} + A_{1C}}{3},$$

kde A_{1A} značí hodnotu absorbance vzorku č. 1 z prvního tripletu, A_{1B} absorbance vzorku č. 1 z druhého tripletu a A_{1C} absorbanci vzorku č. 1 z třetího tripletu. Dělíme číslem tři, které odpovídá počtu hodnot v čitateli.

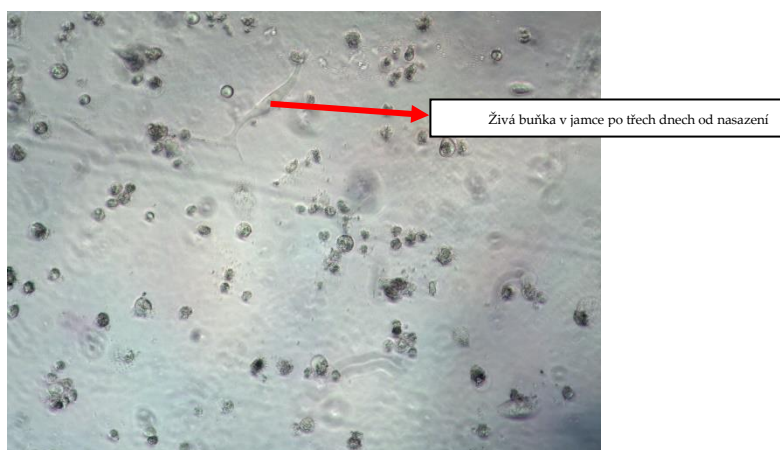
Směrodatnou odchylku σ těchto dat spočítáme jako

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{3} \sum (A_{1A,1B,1C} - \tilde{x})^2},$$

kde čerpáme z hodnoty aritmetického průměru, která vyšla v předchozím výpočtu.



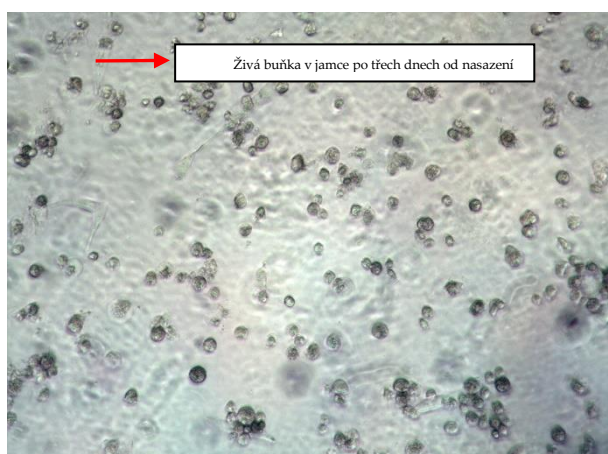
Obrázek 8 – Jamka s negativní kontrolou po třech dnech od nasazení (vlastní zdroj)



Obrázek 9 – Jamka se vzorkem č. 1 po třech dnech od nasazení (vlastní zdroj)



Obrázek 11 – Jamka se vzorkem č. 2 po třech dnech od nasazení (vlastní zdroj)

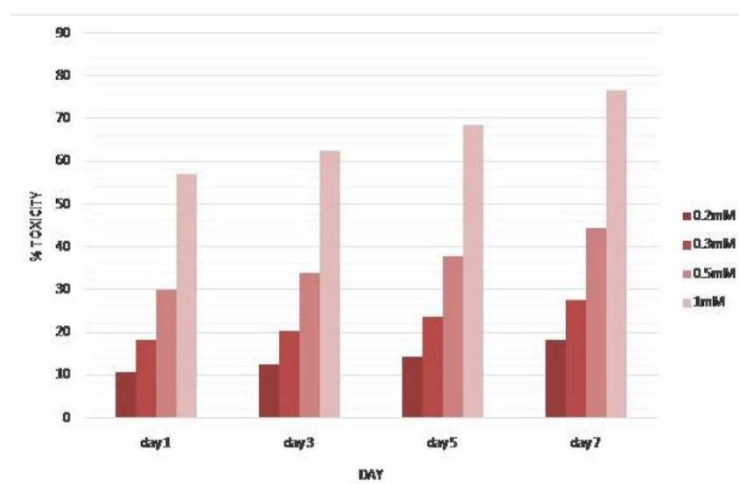


Obrázek 10 – Jamka se vzorkem č. 3 po třech dnech od nasazení (vlastní zdroj)

Pokus pokračoval druhým měřením po třech dnech, kdy jsme očekávaly nárůst buněk. Ten se ovšem nekonal, pokus byl ukončen konstatováním, že buňky v mikrotitrační destičce sice byly přítomny, ale nebyly schopné se uchytit a metabolizovat. Pokus tak byl následně ukončen.

6 DISKUZE

Přestože praktická část bakalářské práce neodpovídá očekávaným výsledkům jiných prací kvůli neuchycení buněk na mikrotitrační destičku a schopnosti samostatně metabolizovat, tak v zahraniční studii zkoumaly účinky deltamethrinu na buňky kostní dřeně. Také pracovaly metodou MTT testu, kdy buňky pocházely od zdravých koz určených k porážce. Jejich studie ukázala, že vliv deltamethrinu negativně ovlivňoval buněčnou linii. Koncentrace látky v mikrotitrační destičce byla v rozmezí 200 μmol – 1 mol (Obrázek 12). Ke vzorkům, kde byla přítomna koncentrace již 1 mmol docházelo ke zvýšenému nárůstu apoptózy buněk. Autoři studie si to vysvětlují tím, že to mohlo být v důsledku zvýšeného přísunu vápenatých iontů do buněk, což následně vedlo ke zvýšené apoptóze buněk (53).



Obrázek 12 - Graf vývoje toxicity buněk vlivem deltamethrinu v závislosti na koncentracích (53)

Oproti studii, která využívala koncentrace 200 μmol – 1 mol, jsem já nasadila koncentrace pod 8,5 μmol .

Bylo také zjištěno, že čím je doba expozice delší, tak tím dochází i ke zvýšení toxicity pro buňky. Nárůst toxicity byl hlavně u koncentrací, které byly vyšší. Autoři předpokládají, že deltamethrin obsadil vazebná místa pro imunitní

buňky, čímž poté došlo k buněčné smrti, což pak může ovlivnit celkovou imunitní odpověď organismu (53).

Další studie potvrzuje, že deltamethrin způsobuje u potkaních hepatocytů tvorbu oxidačního stresu, což vedlo k následné apoptóze buněk (54).

Jiná studie zkoumala účinek deltamethrinu spolu s thiaklopridem, což je také insekticid, na plicní buňky. Bylo prokázáno, že spolu s přibývajícím časem účinku insekticidů, došlo ke snížení životaschopnosti buněk. Tyto výsledky ukázaly, že jak směs deltamethrinu a thiaklopridu, tak jejich metabolity mohou významně snížit životaschopnost buněk a indukovat cytotoxicitu v lidských plicních fibroblastech, a to zejména při vyšších koncentracích (55).

Předchozí studii potvrzuje i další výzkum, který zkoumal taktéž účinek deltamethrinu spolu s thiaklopridem. Bylo potvrzeno, že kombinace těchto dvou látek výrazně ovlivnila životaschopnost buněk, která měla sestupný charakter. Také došly k názoru, že deltamethrin indukoval cytotoxické účinky, které vedly k poškození DNA. Došlo ke snížení jaderného dělení v kulturách lidských lymfocytů (56).

Výsledky MTT testu ukázaly, že deltamethrin a jeho dva metabolity (2'-OH-deltamethrin a 4'-OH-deltamethrin) indukovaly cytotoxicitu snížením životaschopnosti buněk (56).

Další studie zkoumala vliv deltamethrinu na lidský model epidermis, který je složený z vícevrstvých a plně diferencovaných lidských keratinocytů. Ukázalo se, že deltamethrin i v nejvyšší koncentraci, kterou při studii použili, tedy 0,05 %, kůži nijak nedeformovala a nezpůsobila podráždění kůže (57).

Studie zabývající se deltamethrinem si dala za cíl objasnit, jestli nižší koncentrace deltamethrinu, nemusí způsobit apoptózu v normálních zdravých buňkách, ale může indukovat apoptotickou buněčnou smrt v rakovinných buňkách. Ke studii byla použita buněčná linie Jurkat-J6, což jsou vlastně T-lymfocytární buňky od pacienta s akutní leukémií. Během testu došlo k významné ztrátě životaschopnosti buněk Jurkat-J6 se všemi koncentracemi deltamethrinu. Při velmi nízké molární koncentraci (0,1–1 μmol) se prokázalo, že deltamethrin způsobuje buněčnou smrt, která je pozitivní reakcí na jeho protirakovinné vlastnosti. Přičemž u zdravých buněk při stejné koncentraci se uvádí, že smrt buněk způsobena nebyla (58).

Při oxidačním stresu klesá koncentrace přírodních antioxidantů, takže tento výsledek naznačuje, že deltamethrin může vyvolat oxidační stres v buněčné linii Jurkat-J6 (58).

Růstový faktor T-buněk, interleukin-2, je nezbytnou součástí těchto buněk, najdeme je i v buněčné linii Jurkat-J6. Zatímco v médiu spolu s deltamethrinem je jejich hladina snížena, což znamená pro tyto buňky smrtelný účinek (58).

V jiné studii bylo prokázáno, že jaterní enzymy ALT a AST vlivem deltamethrinu zvýšily aktivitu v závislosti na dávce, což následně vedlo k dysfunkci jater (59).

Další metodou vhodnou k použití kromě MTT testu, který byl použit v praktické části, je i fluorescence. Mechanismus fluorescence vznikl díky fotoindukovanému přenosu elektronů (PET), přenosu energie fluorescenční rezonancí (FRET) nebo agregačnímu procesu. Výsledky naznačují, že tato metoda může být užitečná pro detekci deltamethrinu ve vzorcích životního prostředí a potravin (60).

V současnosti se při stanovení zbytku deltamethrinu přednostně používá vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), plynová spektrometrie (GC) a kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie (LC-MS). Tyto metody vykazovaly citlivost a specifičnost. Jejich praktickému uplatnění však bránila nevyhnutelná omezení, včetně vysokých nákladů, sofistikované předúpravy, komplikovaných profesionálních operací a nedostupnosti monitorování na místě v reálném čase (61).

Další metodou vhodnou k použití jsou i mikrofluidní analytická zařízení na bázi papíru. Ty přitahují široký zájem o testování na místě díky svým jednoduchým, přenosným, levným a ekologickým vlastnostem. Je zde pouze měření změny barvy, které vzniká z důvodu chemické reakce mezi specifickým cílem a odpovídajícími činidly (ušlechtilé kovy či chromogenní činidla) potažené papírovým substrátem. Tato změna barvy, vyžadující jen malé množství ušlechtilých kovů nebo jiného chromogenního činidla, by mohla být nejen pozorována pouhým okem pro kvalitativní analýzu, ale také shromažďována digitální kamerou pro kvantitativní analýzu. Díky svým velkým výhodám, jako je přenositelnost, nízká cena, připravená dostupnost a snadná detekce na místě bez zvláštního požadavku technického personálu, lze mikrofluidní analytická zařízení na bázi papíru použít na farmách, supermarketech, a dokonce i v domácnostech, aby byla zajištěna bezpečnost potravin (61).

Další studie přinesla také senzor rGO-PEI-AgNPs. Ten byl navržen jako nová účinná platforma pro citlivou voltametrickou detekci a stanovení deltamethrinu ve vzorcích lidské plazmy. Ukázalo se, že má vynikající analytický výkon pro detekci deltamethrinu s vysokou citlivostí a reprodukovatelností. Výsledky potvrzují, že tento senzor a jeho nové biokompatibilní rozhraní může poskytnout vhodné, spolehlivé, cenově dostupné, rychlé a uživatelsky přívětivé diagnostické nástroje pro detekci deltamethrinu v reálných lidských vzorcích (62).

7 ZÁVĚR

V této práci jsem zpracovala literární rešerši zabývající se organickými polutanty, metodami a způsoby monitorování. Tato část práce se nachází v kapitole Přehled současného stavu.

Do praktické části jsem si vybrala insekticid obsahující deltamethrin, u kterého jsem popsala mechanismus působení, výskyt a účinky.

Praktickou část jsem vykonávala v laboratoři Fakulty biomedicínského inženýrství, kde jsem se naučila pracovat sterilně v laminárním boxu, práci s růstovým médiem, pasážovat buňky či rozpoznat živé buňky pod mikroskopem.

Byly vybrány tři koncentrace insekticidu – 1%, 0,1%, 0,01%, které byly použity k buněčné linii lidských hepatocytů SNU-475. Postup laboratorní práce je uveden v kapitole Metodika.

Snížená proliferace buněk se ukázala na pokusu v Petriho miskách, kde se ukázal vliv koncentrace na dobu působení insekticidu. MTT test použitý k vyhodnocení viability buněk, jsem teoreticky zpracovala, ale jeho vyhodnocení, vzhledem k neprůkazným výsledkům, nebylo možné.

Experiment v praktické části ukázal, že deltamethrin má toxický vliv na buňky, které souvisí především s vyššími koncentracemi. Výsledky této práce se shodují se zahraničními studiemi, které jsem porovnávala v kapitole Diskuze.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
As	arsen
ATB	antibiotika
BPA	bisfenol A; 2,2-bis (4-hydroxyfenyl)propan
Ca(OH) ₂	hydroxid vápenatý
Cr	chrom
DDT	dichlordifenyltrichlorethan; 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FSB	fetální bovinní sérum
GGT	γ-glutamyltransferáza
HBCD	hexabromcyklododekan
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
μg/kg	mikrogram/kilogram
NaOH	hydroxid sodný
ng/ml	nanogram/mililitr
NO _x	oxidy dusíku
O ₃	ozon
OH radikál	hydroxylový radikál
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PBB	polybromované bifenyly
PBDE	polybromované difenylethery
PCB	polychlorované bifenyly
PCDD	polychlorované dibenzo-p-dioxiny
PCDF	dibenzofurany
PFOS	perfluorooktansulfonát
POPs	perzistentní organické látky

SNU	Seoul National University
SNU-475	buněčná linie lidských hepatocytů
T3	trijodtyronin; 3, 5, 3' - trijodtyronin
T4	tyroxin; 3, 5, 3', 5' - tetrajodtyronin
TCDD	2,3,7,8-tetrachloroxanthren; 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin; dioxin
tj.	to jest
WHO	Světová zdravotnická organizace

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1 LINHART, Igor. *Základní pojmy v toxikologii, ekologii a ekotoxikologii: Basic terms in toxicology, ecology and ecotoxicology*. Vydání první. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-040-9.
- (2 GUO, Wenjing, Bohu PAN, Sugunadevi SAKKIAH, Gokhan YAVAS, Weigong GE, Wen ZOU, Weida TONG a Huixiao HONG. Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and Detection Methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2019, **16**(22), 1-5 [cit. 2022-01-24]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph16224361
- (3 ALHARBI, Omar, Al BASHEER, Rafat KHATTAB a Imran ALI. Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2018, **263**, 442-453 [cit. 2022-01-25]. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2018.05.029
- (4 Text of the Convention. In: *Stockholm Convention* [online]. Stockholm, 2019 [cit. 2022-01-28]. Dostupné z: <http://www.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>
- (5 Stockholmská úmluva o persistentních organických polutantech (2001). In: *Ministerstvo životního prostředí* [online]. Praha. Dostupné také z: https://www.mzp.cz/cz/stockholmska_umluva_polutanty

- (6 O, Adegun, Akinnifesi A, Ololade . a Isaac I. A Critical Review of the
) Transport and Health Effects of Persistent Organic Pollutants. *Scholars International Journal of Chemistry and Material Sciences* [online]. 2020, 3(5), 5 [cit. 2022-01-24]. ISSN 26168669. Dostupné z: doi:10.36348/sijcms.2020.v03i05.001
- (7 ITO, Koji, Ahmad MAHMOOD, Ryota KATAOKA a Kazuhiro TAKAGI.
) Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) degradation by *Streptomyces* sp. isolated from DDT contaminated soil. *Bioremediation Journal* [online]. 2021, 25(2), 148-158 [cit. 2022-01-25]. ISSN 1088-9868. Dostupné z: doi:10.1080/10889868.2020.1867050
- (8 GRUMEZESCU, Alexandru a Alina HOLBAN. *Food Safety and*
) *Preservation: Modern Biological Approaches to Improving Consumer Health*. Elsevier, 2018. ISBN 978-0-1281-4957-7.
- (9 SAXENA, Gaurav, Vineet KUMAR a Maulin SHAH. *Bioremediation for*
) *Environmental Sustainability: Toxicity, Mechanisms of Contaminants Degradation, Detoxification, and Challenges*. 1st Edition. Elsevier, 2021. ISBN 978-0-12-820524-2. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-820524-2.00024-9
- (1 WARENIK-BANY, Malgorzata, Sebastian MASZEWSKI, Szczepan
0) MIKOLAJCZYK a Jadwiga PISKORSKA-PLISZCZYNSKA. Impact of environmental pollution on PCDD/F and PCB bioaccumulation in game animals. *Environmental Pollution* [online]. 2019, 255 [cit. 2022-01-26]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2019.113159

- (1 ZAYNAB, Madiha, Mahpara FATIMA, Yasir SHARIF, Kalsoom
- 1) SUGHRA, Mateen SAJID, Khalid KHAN, A.H. SNEHARANI a Shuangfei LI. Health and environmental effects of silent killers Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl. *Journal of King Saud University - Science* [online]. 2021, **33**(6) [cit. 2022-01-26]. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2021.101511
- (1 LI, Xiaomin, Shujun DONG, Peilong WANG, Xiaoou SU a Jianjie FU.
- 2) Polychlorinated biphenyls are still alarming persistent organic pollutants in marine-origin animal feed (fishmeal). *Chemosphere* [online]. 2019, **233**, 355-362 [cit. 2022-01-26]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2019.05.250
- (1 MARQUÈS, Montse a Jose DOMINGO. Concentrations of PCDD/Fs in
- 3) Human Blood: A Review of Data from the Current Decade. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2019, **16**(19) [cit. 2022-01-27]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph16193566
- (1 EL-RAHMAN, M., Ashraf HASSANIN, M. EL-SHAHAT a Y. NABIL.
- 4) PCDD/PCDFs and PCBs in the irrigation water in Egypt: levels, patterns, and potential sources. *Environmental Monitoring and Assessment* [online]. 2019, **191**(8), 2 [cit. 2022-01-28]. ISSN 0167-6369. Dostupné z: doi:10.1007/s10661-019-7623-9
- (1 ZHENG, Qinzhen, Zhen LIU, Lin YANG, Jianhui LU, Congying QIU,
- 5) Xiantao GUAN a Keping YAN. The degradation of PCDD/Fs in fly ash using dielectric barrier discharge in a lab-scale reactor. *Chemical*

Engineering Journal [online]. 2020, **387** [cit. 2022-01-28]. ISSN 13858947.
Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2019.124005

- (1 6) CHANG, Che-Jung, Metrecia TERRELL, Michele MARCUS et al. Serum concentrations of polybrominated biphenyls (PBBs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Michigan PBB Registry 40 years after the PBB contamination incident. *Environment International* [online]. 2020, **137** [cit. 2022-01-28]. ISSN 01604120.
Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2020.105526
- (1 7) LOGEROVÁ, Hana, Petr TŮMA, Michal STUPÁK, Jana PULKRÁBOVÁ a Pavel DLOUHÝ. Evaluation of the Burdening on the Czech Population by Brominated Flame Retardants. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2019, **1621**(4105) [cit. 2022-01-30].
Dostupné z: doi:doi.org/10.3390/ijerph16214105
- (1 8) WU, Zhineng, Wej CHAN, Xin YANG, Jao LI a Yingying WANG. The occurrence of polybrominated diphenyl ether (PBDE) contamination in soil, water/sediment, and air. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2019, (23219–23241) [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1007/s11356-019-05768-w
- (1 9) ZHANG, Ruiming, Pengfei LI, Xiangli SHI, Ruiying ZHANG, Junjie WANG, Yanwei LI, Qingzhu ZHANG a Wenxing WANG. Insights into the metabolic mechanism of PBDEs catalyzed by cytochrome P450 enzyme 3A4: A QM/MM study. *Chemosphere* [online]. 2021, **278** [cit. 2022-01-28]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130430

- (2 LIANG, Hong, Ann VUONG, Changchun XIE et al. Childhood
0) polybrominated diphenyl ether (PBDE) serum concentration and reading
ability at ages 5 and 8 years: The HOME Study. *Environment International*
[online]. 2019, **122**, 330-339 [cit. 2022-01-29]. ISSN 01604120. Dostupné z:
doi:10.1016/j.envint.2018.11.026
- (2 DEZIEL, Nicole, Javier ALFONSO-GARRIDO, Joshua WARREN,
1) Huang HUANG, Andreas SJODIN a Yawei ZHANG. Exposure to
Polybrominated Diphenyl Ethers and a Polybrominated Biphenyl and Risk
of Thyroid Cancer in Women: Single and Multi-Pollutant Approaches.
Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention [online]. 2019, **28**(10), 1755-1764
[cit. 2022-01-28]. ISSN 1055-9965. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-19-
0526
- (2 DROBNÁ, Beata, Anna FABIŠIKOVÁ, Kamil ČONKA, František
2) GAGO, Petra ORAVCOVÁ, Soňa WIMMEROVÁ, Marina OKTAPODAS
FEILER a Eva ŠOVČÍKOVÁ. PBDE serum concentration and preschool
maturity of children from Slovakia. *Chemosphere* [online]. 2019, **233**, 387-395
[cit. 2022-01-30]. ISSN 00456535. Dostupné z:
doi:10.1016/j.chemosphere.2019.05.284
- (2 JI, Honglei, Hong LIANG, Ziliang WANG et al. Associations of prenatal
3) exposures to low levels of Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) with
thyroid hormones in cord plasma and neurobehavioral development in
children at 2 and 4 years. *Environment International* [online]. 2019, **131** [cit.
2022-01-29]. ISSN 01604120. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2019.105010

- (2 VARSHAVSKY, Julia, Saunak SEN, Joshua ROBINSON et al.
- 4) Racial/ethnic and geographic differences in polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels across maternal, placental, and fetal tissues during mid-gestation. *Scientific Reports* [online]. 2020, (12247) [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1038/s41598-020-69067-y
- (2 MOJIRI, Amin, John ZHOU, Akiyoshi OHASHI, Noriatsu OZAKI a
- 5) Tomonori KINDAICHI. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, 696 [cit. 2022-01-31]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.133971
- (2 SUN, Yaqing, Shimin WU a Guangyi GONG. Trends of research on
- 6) polycyclic aromatic hydrocarbons in food: A 20-year perspective from 1997 to 2017. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2019, 83, 86-98 [cit. 2022-01-31]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2018.11.015
- (2 IDOWU, Oluyoye, Kirk SEMPLE, Kavitha RAMADASS, Wayne
- 7) O'CONNOR, Phil HANSBRO a Palanisami THAVAMANI. Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environment International* [online]. 2019, 123, 543-557 [cit. 2022-01-31]. ISSN 01604120. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2018.12.051
- (2 HAN, Fenglin, Hao GUO, Jianlin HU, Jie ZHANG, Qi YING a
- 8) Hongliang ZHANG. Sources and health risks of ambient polycyclic aromatic hydrocarbons in China. *Science of The Total Environment* [online]. 2020, 698 [cit. 2022-02-01]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134229

- (2 POLACHOVA, Andrea, Tomas GRAMBLICKA, Ondrej PARIZEK,
9) Radim SRAM, Michal STUPAK, Jana HAJŠLOVA a Jana PULKRABOVA. Estimation of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) based on the dietary and outdoor atmospheric monitoring in the Czech Republic. *Environmental Research* [online]. 2020, **182** [cit. 2022-02-01]. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2019.108977
- (3 AMIRDIVANI, Shabboo, Nasim KHORSHIDIAN, Maryam GHOBADI
0) DANA, Reza MOHAMMADI, Amir MORTAZAVIAN, Simone QUITERIO DE SOUZA, Henrique BARBOSA ROCHA a Renata RAICES. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and dairy products. *International Journal of Dairy Technology* [online]. 2019, **72**(1), 120-131 [cit. 2022-02-01]. ISSN 1364727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12567
- (3 *Commission Regulation (EU) 2015/1933 of 27 October 2015*. In: . Brusel, 2015,
1) 282/11, 1881/2006. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1933&from=EN>
- (3 XIAO, Changyun, Lihong WANG, Qing ZHOU a Xiaohua HUANG.
2) Hazards of bisphenol A (BPA) exposure: A systematic review of plant toxicology studies. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2020, **384** [cit. 2022-02-02]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121488
- (3 CIMMINO, Ilaria, Francesca FIORY, Giuseppe PERRUOLO, Claudia
3) MIELE, Francesco BEGUINOT, Pietro FORMISANO a Francesco ORIENTE. Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA) Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, (5761) [cit. 2022-02-02]. Dostupné z: doi:doi.org/10.3390/ijms21165761

- (3 MA, Ya, Haohao LIU, Jinxia WU et al. The adverse health effects of
4) bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental Research*
[online]. 2019, **176** [cit. 2022-02-03]. ISSN 00139351. Dostupné z:
doi:10.1016/j.envres.2019.108575
- (3 BRIFFA, Jessica, Emmanuel SINAGRA a Renald BLUNDELL. Heavy
5) metal pollution in the environment and their toxicological effects on
humans. *Heliyon* [online]. 2020, **6(9)** [cit. 2022-02-08]. ISSN 24058440.
Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04691
- (3 VARDHAN, Kilaru, Ponnusamy KUMAR a Rames PANDA. A review
6) on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends
and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2019, **290** [cit.
2022-02-08]. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2019.111197
- (3 HU, Bifeng, Shuai SHAO, Hao NI et al. Current status, spatial features,
7) health risks, and potential driving factors of soil heavy metal pollution in
China at province level. *Environmental Pollution* [online]. 2020, **266** [cit.
2022-02-09]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2020.114961
- (3 PAITHANKAR, Jagdish, Sanjay SAINI, Shiwangi DWIVEDI, Anurag
8) SHARMA a Debapratim CHOWDHURI. Heavy metal associated health
hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction.
Chemosphere [online]. 2021, **262** [cit. 2022-02-11]. ISSN 00456535. Dostupné z:
doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128350
- (3 LU, Qirong, Yaqi SUN, Irma ARES et al. Deltamethrin toxicity: A review
9) of oxidative stress and metabolism. *Environmental Research* [online]. 2019,

- 170, 260-281 [cit. 2022-05-06]. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2018.12.045
- (4 PITZER, Emily, Michael WILLIAMS a Charles VORHEES. Effects of
0) pyrethroids on brain development and behavior: Deltamethrin. *Neurotoxicology and Teratology* [online]. 2021, **87** [cit. 2022-05-06]. ISSN 08920362. Dostupné z: doi:10.1016/j.ntt.2021.106983
- (4 LI, Jiayi, Huijie JIANG, Pengfei WU et al. Toxicological effects of
1) deltamethrin on quail cerebrum: Weakened antioxidant defense and enhanced apoptosis. *Environmental Pollution* [online]. 2021, **286** [cit. 2022-05-06]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2021.117319
- (4 KU, Ja-Lok a Jae-Gahb PARK. Biology of SNU Cell Lines. *Cancer Research
2) and Treatment* [online]. 2005, **37(1)** [cit. 2022-05-06]. ISSN 1598-2998. Dostupné z: doi:10.4143/crt.2005.37.1.1
- (4 KVASNICOVÁ, Bibiana. *Experimentální analýza mechanických vlastností
3) modelových buněčných linií hepatocelulárního karcinomu*. Kladno, 2021. Diplomová práce. České vysoké učení technické. Vedoucí práce Ing. Martin Otáhal, Ph.D.
- (4 XU, Yan, Xueling YANG, Tongguo SI, Haipeng YU, Yong LI, Wenge
4) XING a Zhi GUO. MCM4 in human hepatocellular carcinoma: a potent prognostic factor associated with cell proliferation. *BioScience Trends* [online]. 2021, **15(2)**, 100-106 [cit. 2022-04-29]. ISSN 1881-7815. Dostupné z: doi:10.5582/bst.2021.01016

- (4) *Bezpečnostní list FAST K*. In: . Náměšť nad Oslavou, 2015, ročník 2010, č. 5) 453. Dostupné také z: <http://prost.as/wp-content/uploads/2016/05/fast-k.pdf>
- (4) *Cell Growth Determination Kit MTT Based*. In: . Saint Louis, Missouri: 6) Sigma-Aldrich, Inc. Dostupné také z: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/411/234/cgd1dat.pdf>
- (4) ŠVECOVÁ, Gabriela. *Stanovení fototoxicity aktivních látek pro kosmetický 7) průmysl*. Zlín, 2020. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ing. Zdenka Capáková, Ph.D.
- (4) KHAN, Sulaiman, David NEWPORT a Stéphane LE CALVÉ. Gas 8) Detection Using Portable Deep-UV Absorption Spectrophotometry: A Review. *Sensors* [online]. 2019, **19**(23) [cit. 2022-05-02]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s19235210
- (4) L.C. PASSOS, Marieta a M. M.F.S. SARAIVA. Detection in UV-visible 9) spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement* [online]. 2019, **135**, 896-904 [cit. 2022-05-02]. ISSN 02632241. Dostupné z: doi:10.1016/j.measurement.2018.12.045
- (5) BACHMANN, Lorin a W. MILLER. Spectrophotometry. *Contemporary 0) Practice in Clinical Chemistry* [online]. Elsevier, 2020, s. 119-133 [cit. 2022-05-02]. ISBN 9780128154991. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-815499-1.00007-7

- (5 KAFLE, Bhim Prasad. *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*. 1st Edition. Elsevier, 2019. ISBN 978-01-28-14866-2.
- 1)
- (5 KAŇA, Antonín, Magda VOSMANSKÁ a Oto MESTEK. *Sbírka laboratorních úloh z atomové spektrometrie: Atomic spectrometry laboratory tasks*. Vydání první. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2021. ISBN 978-80-7592-088-1.
- 2)
- (5 ASHOKKUMAR, A. a A. GOWRI. *Predicted and In-vitro Effect of Deltamethrin on Bone Marrow progenitors*. India, 2021. Dostupné také z: <http://arccarticles.s3.amazonaws.com/arcc/Attachment-at-accept-article-B-4328.pdf>
- 3)
- (5 LEE, Hee-Seop, Hee-Jung SONG, Yeonhwa PARK, Dmitriy SMOLENSKY a Seong-Ho LEE. Permethrin inhibits tube formation and viability of endothelial cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2022 [cit. 2022-05-08]. ISSN 0022-5142. Dostupné z: [doi:10.1002/jsfa.11757](https://doi.org/10.1002/jsfa.11757)
- 4)
- (5 ŞEKEROĞLU, Vedat, Alperen KARABIYIK a Zülal ŞEKEROĞLU. Co-exposure to deltamethrin and thiacloprid induces cytotoxicity and oxidative stress in human lung cells. *Toxicology and Industrial Health* [online]. 2020, **36**(11), 916-924 [cit. 2022-05-08]. ISSN 0748-2337. Dostupné z: [doi:10.1177/0748233720964367](https://doi.org/10.1177/0748233720964367)
- 5)
- (5 ŞEKEROĞLU, Vedat, Barbaros ERTÜRK a Zülal ATLI ŞEKEROĞLU. Effects of deltamethrin and thiacloprid on cell viability, colony formation and DNA double-strand breaks in human bronchial epithelial cells.
- 6)

- Chemosphere* [online]. 2021, **263** [cit. 2022-05-08]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128293
- (5 HWANG, Jee-hyun, Haengdueng JEONG, Ye-on JUNG, Ki NAM a
7) Kyung-Min LIM. Skin irritation and inhalation toxicity of biocides evaluated with reconstructed human epidermis and airway models. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2021, **150** [cit. 2022-05-08]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2021.112064
- (5 SHARMA, Neelima, Sayantan BANERJEE a Papiya MAZUMDER.
8) Evaluation of the mechanism of anticancer activity of deltamethrin in Jurkat-J6 cell line. *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 2018, **149**, 98-103 [cit. 2022-05-08]. ISSN 00483575. Dostupné z: doi:10.1016/j.pestbp.2018.06.010
- (5 HAN, Bing, Zhanjun LV, Xiaoya ZHANG et al. Deltamethrin induces
9) liver fibrosis in quails via activation of the TGF- β 1/Smad signaling pathway. *Environmental Pollution* [online]. 2020, **259** [cit. 2022-05-08]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2019.113870
- (6 BHAMORE, Jigna, Sanjay JHA, Rakesh SINGHAL, Z.V.P. MURTHY a
0) Suresh KAILASA. Amylase protected gold nanoclusters as chemo- and bio- sensor for nanomolar detection of deltamethrin and glutathione. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2019, **281**, 812-820 [cit. 2022-05-08]. ISSN 09254005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2018.11.001
- (6 ZHU, Jingyang, Lifeng YIN, Weiyi ZHANG, Meilian CHEN, Dongsheng
1) FENG, Yong ZHAO a Yongheng ZHU. Colorimetric Measurement of Deltamethrin Pesticide Using a Paper Sensor Based on Aggregation of Gold

Nanoparticles. *Coatings* [online]. 2022, **12**(1) [cit. 2022-05-08]. ISSN 2079-6412. Dostupné z: doi:10.3390/coatings12010038

- (6 ADEL, Bashir, Mohsen JAFARI a Mohammad HASANZADEH.
2) Utilization of rGO-PEI- supported AgNPs for sensitive recognition of deltamethrin in human plasma samples: A new platform for the biomedical analysis of pesticides in human biofluids. *Journal of Molecular Recognition* [online]. 2021, **34**(10) [cit. 2022-05-08]. ISSN 0952-3499. Dostupné z: doi:10.1002/jmr.2900

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Schéma perzistentních organických polutantů v ekosystému	11
Obrázek 2 - Struktura PCDD a PCDF	16
Obrázek 3 - Schéma vývoje kauzy v Michiganu.....	17
Obrázek 4 - Způsoby příjmu BPA do organismu a následný možný účinek na člověka.....	24
Obrázek 5 – Vývoj oxidačního stresu v důsledku působení deltamethrinu ...	31
Obrázek 6 - Třepačka Biosan ES-20	37
Obrázek 7 - Spektrofotometr BioTek Synergy HT	37
Obrázek 8 – Jamka s negativní kontrolou po třech dnech od nasazení	42
Obrázek 9 – Jamka se vzorkem č. 1 po třech dnech od nasazení.....	42
Obrázek 10 – Jamka se vzorkem č. 3 po třech dnech od nasazení.....	43
Obrázek 11 – Jamka se vzorkem č. 2 po třech dnech od nasazení	43
Obrázek 12 - Graf vývoje toxicity buněk vlivem deltamethrinu v závislosti na koncentracích.....	44

11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1 - Vliv perzistentních organických polutantů na zdraví člověka.....	12
Tabulka 2 – Vybrané perzistentní organické polutanty uznané Stockholmskou úmluvou	13
Tabulka 3 – Rozdělení vybraných těžkých kovů dle IARC z hlediska karcinogenity	27
Tabulka 4 – Ukázka jednoho tripletu na mikrotitrační destičce	36
Tabulka 5 - Naměřené hodnoty absorbance v 1. měření při 570 nm	40
Tabulka 6 - Naměřené hodnoty absorbance v 1. měření při 690 nm.....	41
Tabulka 7 - Naměřené hodnoty absorbance ve 2. měření při 570 nm.....	41
Tabulka 8 - Naměřené hodnoty absorbance ve 2. měření při 690 nm	41