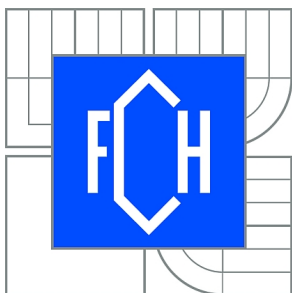




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

MULTIREZIDUÁLNÍ METODY PRO STANOVENÍ PESTICIDŮ VE VODÁCH

MULTIRESIDUAL METHODS FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDES IN WATERS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

MONIKA BUKÁČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0506/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Monika Bukáčková	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805R002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Multireziduální metody pro stanovení pesticidů ve vodách

Zadání bakalářské práce:

1. Práce je teoretického charakteru
2. Na základě literárních údajů posoudit možnosti stanovení skupin pesticidů vyskytujících se ve vodách, pro které by bylo možné využít multireziduální metody.

Termín odevzdání bakalářské práce: 28.5.2010

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Monika Bukáčková
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce teoretického charakteru se zabývá multireziduálním stanovením pesticidů ve vodách. Zaměřuje se především na pesticidy tvořící rezidua v povrchových vodách, které vzhledem ke své toxicitě a perzistenci v prostředí vyžadují cílené sledování.

V práci je uvedeno rozdělení pesticidů a jsou zde popsány jejich vlastnosti, toxicita a procesy odbourávání. Dále jsou zde popsány možnosti analytického stanovení, zejména metody plynové a kapalinové chromatografie s různými typy detektorů. V poslední kapitole je popsán kompletní analytický postup pro stanovení organochlorových pesticidů.

ABSTRACT

This bachelor's work of theoretical character deals with multiresidual determination of pesticides in water. It is especially focused on pesticides generating residues in surface water, which - due to their toxicity and persistence in environment - require goal-directed monitoring.

The division of pesticides is stated, and their properties, toxicity and elimination process are described in the work. Furthermore, possibilities of analytical determination, especially the methods of gas and liquid chromatography are introduced here. In the last chapter, the complete analytic procedure for determination of organochlorine pesticides is described.

KLÍČOVÁ SLOVA

pesticidy, insekticidy, herbicidy, fungicidy, voda, povrchová voda, extrakce, GPC, GC, LC, HPLC

KEYWORDS

pesticides, insecticides, herbicides, fungicides, water, surface water, extraction, GPC, GC, LC, HPLC

BUKÁČKOVÁ, M. *Multireziduální metody pro stanovení pesticidů ve vodách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 39 s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis

Poděkování: Chtěla bych poděkovat vedoucí bakalářské práce paní prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za odborné vedení, trpělivost při vzájemné spolupráci a pomoc při tvorbě této práce.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 Pesticidy	8
2.1 Všeobecná charakteristika	8
2.2 Vlastnosti	8
2.3 Toxicita pesticidů	9
2.3.1 Insekticidy	10
2.3.1.1 Chlorované uhlovodíky	10
2.3.1.2 Organofosfáty	10
2.3.1.3 Karbamáty	10
2.3.2 Fungicidy	10
2.3.2.1 Rtuťnaté sloučeniny	10
2.3.2.2 Dithiokarbamáty	11
2.3.2.3 Hexachlorbenzen	11
2.3.3 Herbicidy	11
2.3.3.1 Chlorfenoxysloučeniny	11
2.3.3.2 Dinitrofenoly	11
2.3.3.3 Dipyridilové sloučeniny	11
2.4 Rozdělení a příklady některých pesticidů	11
2.4.1 Insekticidy	11
2.4.1.1 Nikotin	12
2.4.1.2 Pyrethroidy	12
2.4.1.3 Organochlorové insekticidy	12
2.4.1.4 Organofosfáty	13
2.4.2 Fungicidy	13
2.4.2.1 Anorganické fungicidy	13
2.4.2.2 Dithiokarbamáty	13
2.4.2.3 Substituenty benzenu	13
2.4.2.4 Ftalimidy	13
2.4.2.5 Karboximidy	14
2.4.2.6 Fenoly	14
2.4.3 Herbicidy	14
2.4.3.1 Fenoxysteriváty alifatických karboxylových kyselin	14
2.4.3.2 Dipyridilové sloučeniny	14
2.4.3.3 Deriváty močoviny	15
2.4.3.4 Triazinové pesticidy	15
3 Voda	16
3.1 Koloběh vody	16
3.2 Dělení vod	17
3.3 Povrchová voda	18
3.3.1 Znečištění povrchových vod	19
3.3.1.1 Primární znečištění	20
3.3.1.2 Sekundární znečištění	20
3.4 Procesy odbourávání pesticidů ve vodě:	20
4 Stanovení pesticidů ve vodách	21
4.1 Výskyt pesticidů ve vodách a jejich stanovení	21

4.2 Příprava vzorku na analýzu	22
4.2.1 Extrakce.....	22
4.2.1.1 Extrakce z kapaliny do kapaliny	22
4.2.1.2 Mikroextrakce kapalnou fází.....	23
4.2.1.3 Extrakce pevnou fází.....	23
4.2.1.4 Mikroextrakce pevnou fází.....	23
4.2.2 Způsoby desorpce a zapojení analytické kolony	24
4.2.2.1 Desorpce rozpouštědlem, zapojení off-line.....	24
4.2.2.2 Desorpce rozpouštědlem, zapojení on-line	25
4.2.2.3 Desorpce teplem, zapojení on-line	25
4.2.3 Čištění vzorku (clean-up)	26
4.2.3.1 Gelová permeační chromatografie	26
4.2.4 Derivatizace.....	27
4.3 Vlastní stanovení pesticidů technikou GC	27
4.3.1 Instrumentace v plynové chromatografii.....	27
4.3.1.1 Detektory v plynové chromatografii	28
4.3.2 Spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem.....	29
4.4 Vlastní stanovení pesticidů technikou LC.....	30
4.4.1 Instrumentace v HPLC	30
4.4.1.1 Detektory v HPLC.....	31
4.4.2 Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem	32
4.4.2.1 Spojení HPLC-MS s particle beam (PB).....	32
4.4.2.2 Spojení HPLC-MS s měkkými ionizačními technikami	32
4.5 Postup pro GC stanovení organochlorových pesticidů	34
5 ZÁVĚR.....	35
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	36
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	39

1 ÚVOD

Voda tvoří základní podmínky pro existenci života na Zemi. Proto poutala pozornost vědců již od nejstarších dob. Teprve v 18. století bylo dokázáno složení vody z vodíku a z kyslíku a určen jejich objemový poměr. V druhé polovině 19. století byla vydána řada knih o analýze vody. Jednu z prvních napsal Kubel roku 1866 [28].

V současnosti rychle se rozvíjející průmysl a zemědělství nepříznivě ovlivňují čistotu povrchových vod, což se projevuje jak v nedostatku pitné vody, tak i v nedostatku vody pro technické použití. Hlavními zdroji kontaminace jsou splašky, průmyslové odpadní vody a zemědělské odpady a splachy. Čištění městských splašků představuje v dnešní době nejmenší problém a také organické zbytky tohoto typu se ve vodách nejsnadněji odbourávají. Daleko závažnějším problémem jsou odpadní průmyslové vody, které přinášejí do povrchových toků celou řadu organických i anorganických látek. Velké nebezpečí pro životní prostředí představují i splachy pesticidů, jejichž používání se v zemědělství stále zvyšuje. Pesticidy ve vyšších koncentracích mohou porušit biologickou rovnováhu v tocích. Toxicky působí na některé složky vodní biocenózy, mohou nepříznivě ovlivňovat samočisticí schopnost vody, její chuť, pach a v případě proniknutí do pitné vody ohrožují i zdraví člověka. Ve vodách lze prokázat hlavně biochemicky stabilní pesticidy (např. organochlorové nebo triazinové) [1, 4].

Pro získání komplexních informací o používaných pesticidech je nutné mít k dispozici analytické metody, které umožňují s dostatečnou přesností stanovit někdy až velmi nízké koncentrace těchto látek. V posledních letech se v analýze pesticidů vedle metod, které umožňují stanovení pouze jedné látky, stále více používají multireziduální metody. Pomocí této techniky lze stanovit větší počet analytů najednou [24].

Cílem této práce je poskytnout ucelený přehled o pesticidech vyskytujících se ve vodách, pro které je možné použít stanovení na bázi multireziduálních metod.

2 PESTICIDY

2.1 Všeobecná charakteristika

Pesticidy jsou biologicky aktivní látky používané na ochranu užitkových rostlin v zemědělství a lesnictví, proti plevelům, houbám a živočišným škůdcům. Tyto látky našly uplatnění i ve vodním hospodářství, kde mohou např. sloužit k likvidaci některých vodních rostlin, k redukci zooplanktonu v případě ohrožení ryb kyslíkovým deficitem nebo k antiparazitárnímu ošetření kaprovitých ryb. Pesticidy se používají v různých formách, a to jako poprašky, postřiky, granuláty, suspenze, emulze, aerosoly, pěny, pasty atd. Výhodná a relativně bezpečná forma použití pesticidů dodávaných do půdy jsou granuláty, které se rozpustí v určitých podmínkách pH vody a vlhkosti. Způsob použití je závislý na jejich fyzikálních vlastnostech. Užívání pesticidů je jednou z cest k zajištění výživy lidstva, má však i nepříznivý vliv na životní prostředí. Vedle cíleného použití se mohou pesticidy dostat i do jiných ekosystémů, např. neodborným používáním, přenosem větrem nebo vodní dopravou, kde mohou způsobit znečištění vod i ovzduší, znehodnocení půdy, poškození nebo vyhubení užitečných živočichů i vegetace. Pro člověka představuje největší nebezpečí chronické působení pesticidů.

Pesticidy můžeme rozdělit podle jejich stability, podle biologické účinnosti nebo podle chemického typu účinné látky [1, 2, 3].

Podle stability:

- lehce odbouratelné sloučeniny,
- trvanlivé (perzistentní) sloučeniny, které mohou být ve své původní nebo změněné formě prokazatelné v ekosystému po dlouho dobu [6].

Podle biologické účinnosti:

- insekticidy (prostředky proti hmyzu),
- fungicidy (prostředky proti houbám a plísním),
- herbicidy (prostředky proti plevelům) [1].

Podle chemického typu účinné látky:

- kontaktně (dotykově) působící, které zůstávají na povrchu,
- systémově působící, které pronikají do organismu živočichů nebo rostlin [2].

2.2 Vlastnosti

Pesticidy mají velmi rozdílnou chemickou strukturu a rozdílná je tedy i jejich rozpustnost. Nejméně rozpustné jsou organochlorové látky (např. u DDT je uváděna hodnota rozpustnosti od 1,2 µg/l až do 100 µg/l). Naproti tomu organofosforové pesticidy jsou značně rozpustné, hodnota jejich rozpustnosti dosahuje až 1000 µg/l.

V životním prostředí se pesticidy mohou odbourávat působením vody, kyslíku, světla, půdními bakteriemi apod., avšak některé produkty a meziprodukty degradace mohou přecházet do potravního řetězce, na jehož konci je člověk. Tyto přeměny pesticidů často

závisí na prostředí, ve kterém probíhají. K jiným přeměnám dochází v půdě, ve vodním prostředí a jiné jsou metabolické přeměny v živém organismu.

Pesticidy ve vodách podléhají chemickému, fotochemickému nebo biologickému rozkladu. Zejména zde probíhá hydrolýza (u organofosforových sloučenin) nebo fotolýza, kde se nejčastěji jedná o izomeraci, epoxidaci a aromatickou substituci.

Biologická rozložitelnost pesticidů závisí na jejich struktuře. Biologicky těžce rozložitelné jsou hlavně organochlorové pesticidy. Snadněji se biologicky rozkládají např. organofosforové sloučeniny, karbamáty nebo deriváty kyseliny fenoxycetové.

Velkou chemickou a biochemickou stálostí vynikají chlorované pesticidy, které setrvávají v prostředí po velmi dlouhou dobu. Jejich používání se v zemědělské praxi proto omezuje nebo již bylo zastaveno, ale v životním prostředí jsou stále ještě prokazatelné [1, 4].

2.3 Toxicita pesticidů

Škodlivý účinek pesticidů se vyjadřuje toxicitou, která způsobuje akutní nebo chronickou otravu. Akutní toxicita pesticidů pro člověka a teplokrevné živočichy je vyjádřena tzv. letální dávkou (LD_{50}). Letální dávka udává množství pesticidu (v miligramech na kilogram hmotnosti pokusného zvířete), při jehož jednorázovém požití zahyne 50% pokusných zvířat. Chronická toxicita vyjadřuje přijatelnou denní dávku pro člověka v mg (ADI). Pesticidy pronikají do organismu člověka nejčastěji přes trávicí soustavu, pokožku nebo dýchací cesty. Všechny pesticidy i jejich směsi se musí před zavedením do praxe podrobit toxikologickému výzkumu. Tyto výzkumy jsou zaměřeny na základní hodnocení nově vyrobených sloučenin a jejich použití, které by mělo posoudit, zda existuje riziko poškození životního prostředí a zdraví člověka. První částí provádění těchto toxikologických výzkumů je identifikace sloučeniny, určení jejího chemického složení a struktury dané sloučeniny, protože za osud pesticidů v životním prostředí odpovídají hlavně jeho fyzikálně-chemické vlastnosti. Z fyzikálně-chemických vlastností se sleduje např. molekulová hmotnost, teplota varu, rozpustnost ve vodě a v tucích, sorpční koeficient v půdě, stálost a reakce v prostředí. Tyto fyzikálně-chemické vlastnosti poukazují na to, za jakých podmínek můžeme očekávat přítomnost pesticidů v životním prostředí, jaké jsou jejich produkty rozkladu a případně jak je omezeno znečištění při výrobě. Pesticidy se mohou dostat do podzemních vod, jestliže jejich rozpustnost ve vodě je větší než 20 mg/l, jejich sorpční koeficient v půdě je nižší než 300 - 500 cm³/g, poločas rozpadu v půdě je delší než 2 až 3 týdny a poločas rozpadu pomocí fotolýzy je delší než 3 dny. Druhou částí jsou výzkumy prováděné na pokusných zvířatech, které určují akutní a chronickou toxicitu, karcinogenitu, mutagenitu a teratogenitu účinky, vliv na plodnost a vliv na nervovou soustavu.

WHO (World Health Organization) doporučuje rozdělení pesticidů do pěti tříd, a to na základě jejich letální dávky. Rozděluje je na extrémně nebezpečné ($LD_{50} < 5$ mg/kg), vysoce nebezpečné (LD_{50} od 5 do 50 mg/kg), mírně nebezpečné (LD_{50} od 50 do 500 mg/kg), slabě nebezpečné ($LD_{50} > 500$ mg/kg) a látky, které při normálním použití nepředstavují žádné riziko pro člověka ($LD_{50} > 2000$ mg/kg) [2, 3, 14].

2.3.1 Insekticidy

2.3.1.1 Chlorované uhlovodíky

Z této skupiny pesticidů se dříve hojně používaly DDT a HCH, avšak vzhledem ke kumulaci mnohých organochlorových pesticidů v jednotlivých článcích potravního řetězce, na jehož konci je člověk, byly tyto látky označeny jako nebezpečné a většina z nich byla zakázána nebo nahrazena organofosfáty.

Tyto látky se vyznačují velkou afinitou k tukům a jsou velmi stálé. Do organismu pronikají přes pokožku, trávicí soustavu nebo pomocí dýchacích cest. Těžko podléhají metabolickým přeměnám a pozvolna se vylučují močí, mlékem nebo stolicí. Hromadí se zejména v tukové tkáni, játrech, mozku, svalech a srdci. Organochlorové pesticidy jsou požadovány za nervové jedy. Při akutních otravách dochází ke stimulaci CNS, což může vést až k ochrnutí motorických nervů. Smrt může nastat v důsledku ochrnutí dýchacího centra a opuchnutí plic. I chronické otravy mohou nepříznivě působit na CNS. Ty se projevují celkovým oslabením, nechutí k jídlu, hubnutím a bolestí hlavy. Příznaky se mohou zesilovat až na silné nervové poruchy [3, 5, 30].

2.3.1.2 Organofosfáty

Skupina organofosfátů se liší od organochlorových insekticidů zejména rychlým rozpadem a tím, že nedochází k tak výrazné kumulaci v životním prostředí a v organismu. Po proniknutí do organismu se metabolizují. Jejich nevýhodou je to, že mají mnohem větší akutní toxicitu. V zemích, kde se tyto přípravky používají, způsobují každoročně velký počet intoxikací. Z chemického hlediska se převážně jedná o estery kyselin fosforečné, popř. thiofosforečné. Organofosfáty jsou rovněž vysoce lipofilní látky a velice rychle se absorbují. Do organismu se dostávají různými cestami. Mechanismus působení těchto látek je v blokování enzymových esteráz, cholin- a zejména acetylcholin- esterázy. Na základě toho nemůže nastat hydrolýza na cholin a kyselinu octovou, což vede ke hromadění acetylcholinu v organismu. Intoxikace se projevuje zvýšenou aktivitou parasympatické soustavy, podrážděním CNS (bolesti hlavy, nervozita, závratě, nespavost) a zvýšením aktivity pruhovaných svalů (celková únava a svalové oslabení). Akutní otravy jsou velmi nebezpečné, často mají rychlý průběh, který vede až k smrti [3, 5].

2.3.1.3 Karbamáty

Patří mezi pesticidy, které v životním prostředí sice dlouhodobě nepřetrvávají, ale patří mezi vysoce toxické látky. Mechanismus toxického účinku je stejný jako u organofosfátů, avšak komplex enzym-karbamát je v tomto případě velmi nestabilní. Acetylcholin se rychle uvolňuje a obnovuje se tak jeho činnost. Akutní otravy nejsou tak časté a vesměs mají mírnější průběh než u organofosfátů [3, 5].

2.3.2 Fungicidy

2.3.2.1 Rtuťnaté sloučeniny

Tyto látky pronikají do organismu nejčastěji trávicí a dýchací soustavou. Rtuť vázaná na methyl se z organismu vylučuje pozvolna, nejčastěji stolicí. Polovina kumulovaného množství se vyloučí z organismu člověka v průběhu asi 70 až 90 dnů, z krve v průběhu 40 až 70 dnů a

z mozku za více než 90 dnů. Dnes se tyto rtuťnaté přípravky již nepoužívají, většina z nich patří mezi teratogeny [3, 2].

2.3.2.2 Dithiokarbamáty

V procesech výroby existuje možnost vzniku ethylenthioamocoviny, která má karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky. Sloučeniny z této skupiny mají obvykle nízkou akutní toxicitu. Některé látky jsou strukturně podobné disulfiramu a v kombinaci s alkoholem může nastat acetaldehydový syndrom. Proto by neměly být konzumovány alkoholické nápoje dříve než 10 dnů po expozici [3, 5].

2.3.2.3 Hexachlorbenzen

Tento pesticid se používal především k ošetřování osiva. HCB bývá často exkretován do mateřského mléka; taková expozice u dětí může způsobit křeče a ve vzácných případech vede až ke smrti. Při akutní intoxikaci dochází k hromadění porfyrinů v kůži, které způsobují nadměrnou citlivost na sluneční záření [5].

2.3.3 Herbicidy

2.3.3.1 Chlorfenoxysloučeniny

Do organismu pronikají trávicí a dýchací soustavou. U nich nedochází ke kumulaci v organismu a vylučují se především močí. Mohou vyvolat případné alergie, kožní vyrážky a podráždění oční sliznice [3, 5].

2.3.3.2 Dinitrofenoly

K intoxikaci dochází zejména inhalací prachu, avšak např. 2,4-dinitrofenol se velmi rychle vstřebává kůží. Dinitrofenoly blokují proces oxidační fosforylace a vyvolávají značné zvýšení teploty těla a metabolismu a ovlivňují také proces glykolýzy. Při akutních otravách se toxické účinky těchto sloučenin zvyšují se zvyšující se teplotou prostředí [3, 5].

2.3.3.3 Dipyridilové sloučeniny

Hlavním představitelem této skupiny je paraquat; v jeho případě došlo již k mnoha smrtelným intoxikacím. Paraquat je distribuován do všech orgánů, kumuluje se v plicích, které jsou cílovým místem jeho fatálního účinku. Požití této sloučeniny způsobuje poleptání zažívacího traktu. Po vstřebání dochází v průběhu 2 - 5 dnů k poškození jater, ledvin a myokardu. Za 7 až 21 dní následuje fibróza plic, která vede k hypoxii, případně smrti [5].

2.4 Rozdělení a příklady některých pesticidů

2.4.1 Insekticidy

Jedná se o biocidní účinné látky přípravků na ochranu rostlin, které usmrccují hmyz i jeho vývojová stadia. Působí jako kontaktní, vdechové nebo požerové jedy. Do přírodních insekticidů patří např. nikotin a pyrethroidy obsažené třeba v kopretinách. Ze syntetických insekticidů lze jmenovat především organochlorové insekticidy, sloučeniny fosforu, deriváty karbamové kyseliny a v poslední době i syntetické pyrethroidy [6].

2.4.1.1 Nikotin

Tabáková rostlina byla do Evropy přivezena kolem roku 1560 a již roku 1690 byl použit vodný extrakt tabákových listů k hubení hmyzu na zahradních rostlinách. Později bylo zjištěno, že aktivní látkou je alkaloid zvaný nikotin. Jeho struktura byla objasněna roku 1893. Nikotin se v tabákové rostlině vyskytuje ve formě citronové soli a jablečné kyseliny v množství 1 až 8 %. Může být získáván z listů a kořenů rostliny, a to extrakcí zředěným vodným roztokem alkálie a následnou destilací s vodní párou. Podmínkou vysoké insekticidní účinnosti je přítomnost pyridinového kruhu v molekule, připojeného v poloze 3 k nasycenému pětičlennému nebo šestičlennému kruhu v poloze 2. Pro účinnost nikotinu je také podstatné, že má molekuly podobných rozměrů jako acetylcholin, protože jeho záměna za acetylcholin způsobuje stahy svalstva, křeče a nakonec smrt [6, 7, 30].

2.4.1.2 Pyrethroidy

Pyrethrum je kontaktní insekticid, který se získává extrakcí sušených květů kopretiny stračkolisté dichlorethanem a následným vakuovým zahuštěním extraktu. Tato látka obsahuje čtyři hlavní insekticidní složky, které se souhrnně označují jako pyrethriny. Význam pyrethra spočívá v rychlém omračujícím účinku na létající hmyz. Na rozdíl od DDT není pyrethrum perzistentní a nezanechává toxická rezidua. Používá se proti škůdcům v uskladněných potravinách, proti škůdcům v domácnostech i v průmyslu. Nevýhodou je však právě jeho nedostatečná perzistence, která se projevuje nestabilitou na vzduchu při osvětlení. Často se stává, že se hmyz po kontaktu s dávkou pyrethra zotaví, a proto se tato látka používá s malým množstvím jiného insekticidu, aby účinek na hmyz byl 100 %. Ze syntetických pyrethroidů se používá např. allethrin, který má silné insekticidní účinky [7].

2.4.1.3 Organochlorové insekticidy

Nejdůležitějším zástupcem této skupiny je dichlordifenyltrichlorethan zvaný DDT, který lze připravit kondenzací chloralu s chlorbenzenem v přebytku kyseliny sírové. Nejúčinnějším ze vzniklých produktů je *p,p'*-izomer, další produkty, jako *o,p'*-izomer a *o,o'*-izomer, mají již malou insekticidní účinnost.

DDT byl znám jako insekticid od roku 1942 a během 2. světové války se vyráběl ve velkém množství. Během této doby byl účinně aplikován proti přenašečům různých infekčních onemocnění; např. v Neapoli byl použit proti vypuknutí tyfové epidemie, v Indii zase podstatně snížil úmrtnost na malárii. DDT se stalo celosvětově nejrozšířenějším insekticidem. Za jeho největší výhody lze považovat stabilitu, perzistenci, široké spektrum insekticidní účinnosti a levnost výroby. DDT bylo aplikováno především proti mandelince bramborové a dalším žravým škůdcům v rostlinné výrobě a ovocnářství, kromě toho bylo používáno i proti hmyzu v živočišné výrobě. Postupem času se však stala většina druhů hmyzu vůči DDT rezistentní a v důsledku toho bylo třeba častěji obnovovat postřiky a používat vyšší dávky. Tento postup vedl téměř až k zamoření celého civilizovaného světa; šíření kontaminace vede hlavně přes potravinový řetězec. Dnes je DDT pro svou rezistenci již v zemědělství zakázáno; tento insekticid byl mimo jiné také zařazen mezi teratogeny.

Hexachlorcyklohexan zvaný HCH se vyrábí chlorací benzenu plynným chlorem aktivovaným ultrafialovým zářením. V produktu jsou přítomny tři izomery, z nichž největší účinek má γ -izomer, který je obvykle přítomný v množství 13 %. Čistý γ -izomer neboli lindan se od α - a β -izomeru odděluje frakční krystalizací z prostředí methanolu. HCH působí podobně jako DDT a bylo tedy jeho vhodnou náhražkou, avšak hmyz postupně získal rezistenci i na HCH v důsledku toho bylo třeba opět zvyšovat dávky. V zemědělství se často používaly kombinované přípravky s obsahem lindanu a DDT. V současnosti, vzhledem k výskytu reziduí tohoto pesticidu, je HCH zakázán [2, 7, 9, 30].

2.4.1.4 Organofosfáty

Jedná se o třídu insekticidů používaných jako alternativa pro velmi stálé a kumulativní organochlorové sloučeniny. Působí jako nervové jedy, které u živočichů narušují jejich CNS. Mezi nejvýznamnější patří estery kyseliny fosforové, fosforečné, thiofosforečné a dithiofosforečné. Většina těchto sloučenin vykazuje vysokou akutní toxicitu a jsou podezřelými mutageny a karcinogeny [2, 9, 20].

2.4.2 Fungicidy

Fungicidy jsou přípravky k ničení nebo potlačování původců houbových chorob. Působí kontaktně (dotykově) v místě aplikace nebo systémově, kdy po proniknutí do rostliny jsou v jejím těle rozváděny. Používají se jako postřiky (na ochranu rostlin) nebo jako mořidla (na ochranu osiva). Průmyslové fungicidy se používají na ochranu materiálů, jako je dřevo, textil, papír, kůže atd. [2].

2.4.2.1 Anorganické fungicidy

Prvními fungicidy byly látky anorganického původu. Mezi ně patří především síra a měď. Síra se používá k ochraně ovocných stromů a vinné révy proti padlí. Působí jako akceptor vodíku a tím nepříznivě narušuje životně důležité hydrogenační a dehydrogenační reakce v buňce houby. Síran měďnatý se používá ve vinařství jako postřik na ochranu vinné révy proti peronospóře. Z měďnatých fungicidů se velmi často používá chlorid-trihydroxid diměďnatý (Kuprikol), který se aplikuje proti plísni bramborové, plísni révové a plísni chmelové.

Rtuť tvoří stabilní organické sloučeniny. Jako mořidla se používají fungicidy se strukturou $RHgX$, kde R je alkyl nebo aryl a X je anion. Nejznámější z nich jsou fenymerkuriichlorid a fenymerkuriacetát, které se používají k ochraně semen před mazlavou snětí pšeničnou. Nevýhodou organortuťnatých fungicidů je jejich velká jedovatost [7].

2.4.2.2 Dithiokarbamáty

Dithiokarbamáty jsou speciální podtřídu karbamátů. Vyrábí se od roku 1934 a jsou hojně používané k potlačování rostlinných chorob. Jsou odvozeny od dimethyldithiokarbamové kyseliny. Do příslušné skupiny dithiokarbamatů patří Thiram, methamsodium a nabam, tzv. ethylenbis(dithiokarbamat), který se vyrábí reakcí ethylendiaminu se sirouhlíkem za přítomnosti hydroxidu sodného. Ve vodě rozpustný nabam se reakcí s vodným roztokem síranu zinečnatého nebo manganatého převádí na nerozpustný zinek nebo maneb. Tyto látky mohou být aplikovány proti řadě fytopatogenních hub, např. proti plísni bramborové nebo peronosporám [2,7].

2.4.2.3 Substituenty benzenu

Tato skupina fungicidů je používána od roku 1940. Patří sem např. pentachlornitrobenzen, který se hojně využívá v průmyslu k ochraně dřeva a textilií. Jeho účinek spočívá v rozpadu mitochondriální membrány buňky [14].

2.4.2.4 Ftalimidy

Ftalimidy se vyznačují velmi malou toxicitou vůči zvířatům. Zástupci této skupiny jsou např. Merpan a zejména Captan, který se aplikuje proti skvrnitosti jablek, hrušek a proti

peronospóre révy vinné. Zlepšuje také skladovatelnost ovoce na zimu. Ve vodě dochází k jeho degradaci. Patří mezi podezřelé karcinogeny [14].

2.4.2.5 Karboximidy

Do této skupiny heterocyklických sloučenin lze zařadit karboxin a oxykarboxin. Používají se k ošetření semen ječmene, ovsa, bavlny, pšenice a kukuřice, a to proti sněti a hnilobě. Ve vodě jsou ve velké míře rozkládány zelenou řasou rodu *Anabaena* a *Nostoc* [14].

2.4.2.6 Fenoly

Fungicidní účinnost má také velké množství fenolů, které se nejčastěji používají jako průmyslové fungicidy, protože většina z nich má příliš vysokou fytotoxicitu. Bylo prokázáno, že kresoly přispívají k fungicidním účinkům kreosotového oleje, který slouží k ochraně stavebního dřeva. Chlorované fenoly jsou užívané k ochraně dřeva a textilních materiálů před napadením houbami [2, 7].

2.4.3 Herbicidy

Většina herbicidů má selektivní účinek, který škodí plevelům a neškodí kulturním rostlinám, avšak lze je použít jen na ochranu určitých rostlin a ze konstatovat, že zpravidla působí jen na určité typy plevelů. Naproti tomu neselektivní herbicidy jsou toxické pro veškerou vegetaci a proto nemohou být použité k ošetření zemědělských rostlin. Herbicidy lze rozdělit i na kontaktní, což jsou takové, které zabíjí jen část rostliny v místě dotyku a dále systémové, které jsou absorbovány kořeny rostlin a prostřednictvím nich rozváděné do ostatních částí rostlin. Dříve používané herbicidy byly převážně látky anorganického původu. Organické herbicidy se dostaly do popředí kolem roku 1932, kdy se začaly hojně používat látky jako dinitrofenol a kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová, která je vysoce selektivním herbicidem i ve velmi malém množství. Většina dnešních přípravků jsou tedy organické látky, přičemž výjimku tvoří chlorečnan sodný neboli travex, který slouží jako neselektivní herbicid na traviny [2, 7, 14].

2.4.3.1 Fenoxideriváty alifatických karboxylových kyselin

Tyto chemické sloučeniny patří mezi nejpoužívanějšími herbicidy potřebné k ošetření obilovin. Působí systémově a jejich účinek proti širokolistým plevelům (dvouděložní rostliny) je mnohem větší, než proti obilovinám a travinám (jednoděložné rostliny). Po aplikaci dochází k chorobnému růstu rostliny, kdy vlastní růst zcela předežene vyživovací systém a rostlina v důsledku toho uhynie. Hlavním představitelem této skupiny je MCPA (4-chlor-2-methylfenoxyoctová kyselina). Pro zvýšení spektra účinnosti se často kombinuje s jinými herbicidy této nebo jiné skupiny. Dalším důležitým zástupcem je 2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina.

Za aerobních podmínek a současně při zvýšeném pH dochází velmi rychle k jejich degradaci. Také se mohou rozkládat působením slunečního záření a mikroorganismů [7, 14].

2.4.3.2 Dipyridilové sloučeniny

Do této skupiny herbicidů patří paraquat a diquat, které způsobují vysušení mladých rostlin. Působí jako kontaktní jedy a jsou aplikovány za účelem hubení plevelů před výsevem rostlin.

Příslušné chemikálie jsou po styku s půdou okamžitě deaktivovány prostřednictvím výměny iontů se složkami půdy [7].

2.4.3.3 Deriváty močoviny

Deriváty močoviny jsou velkou a velmi důležitou skupinou herbicidů. Obvykle se aplikují do půdy jako preemergentní herbicidy. Jejich účinek spočívá v blokování elektronového transportu a fotofosforylace, a v důsledku toho nemůže probíhat fotosyntéza. Rostlina ztrácí barvu a zastaví se její růst; rostliny odumírají za 20 – 25 dní po aplikaci. Na základě jejich chemické struktury je dělíme na fenylmočoviny a sulfonylmočoviny. Fenylmočoviny jsou používány již více než 40 let a stále jsou aplikovány ve velkém měřítku. Jsou poměrně stabilní a špatně podléhají hydrolýze. Hlavní rozkladný proces ve vodě probíhá pomocí mikroorganismů. Kromě toho podléhají také fotolýze. Sulfonylmočoviny se používají od roku 1982. I když jsou asi 100krát toxičtější na cílové rostliny než jiné sloučeniny, mají malou toxicitu vůči lidem a zvířatům. Na základě toho jsou aplikovány relativně v malých dávkách. Jsou odbourávány pomocí hydrolýzy a mikrobiálních rozkladných procesů [14].

2.4.3.4 Triazinové pesticidy

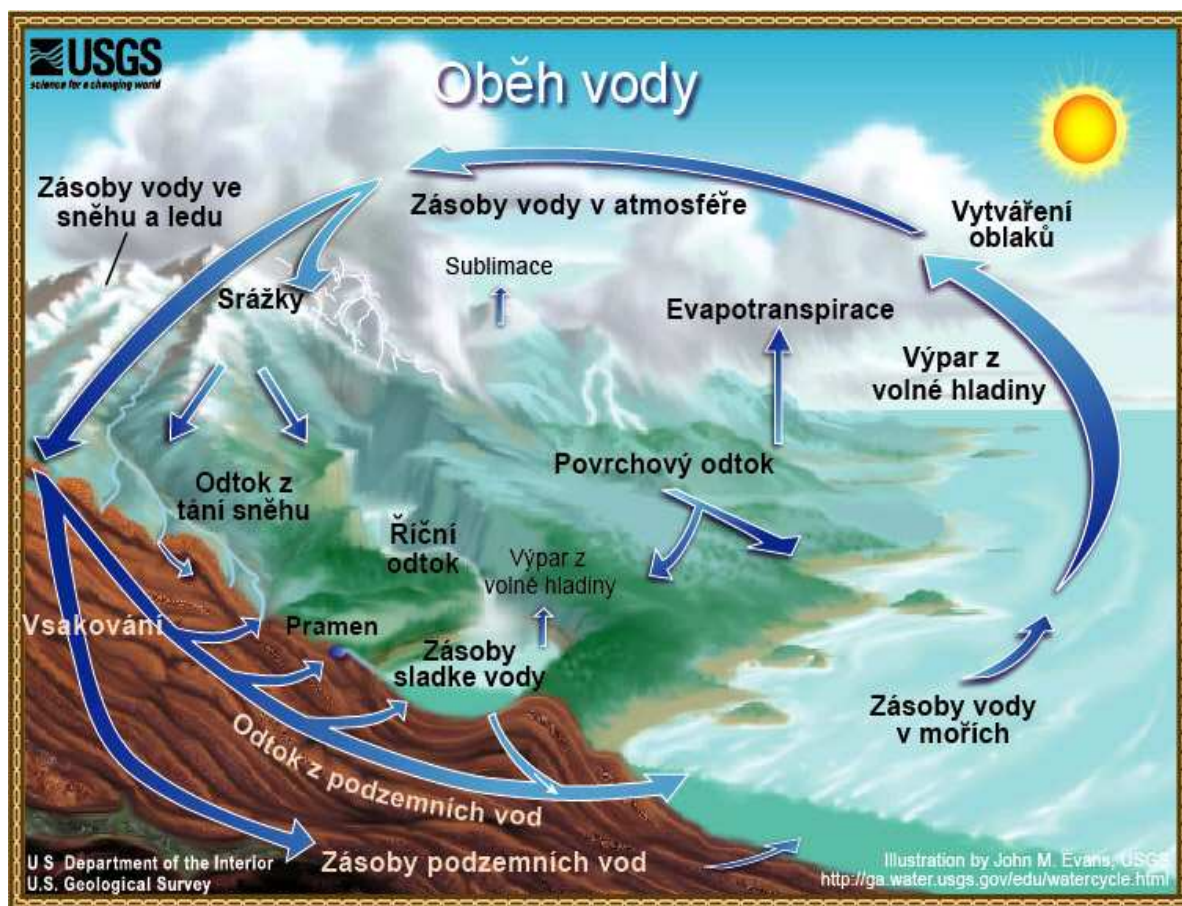
Tyto látky jsou používány již od roku 1954. Působí jako antimetabolity pyrimidových bází jako součásti nukleových kyselin a kyseliny listové. Mezi nejčastěji používané triaziny patří např. atrazin, prometryn, prometon, terbutrin a simazin. Nevýhodou těchto látek je jejich dlouhodobé přetrvávání ve vodách (hlavně v podzemních vodách) a možnost vzniku nitrosaminů z reziduí triazinů. Z uvedených důvodů je jejich použití výrazně omezováno.

3 VODA

Voda zaujímá více než 2/3 zemského povrchu, podstatnou část (zhruba 97 %) tvoří slané vody moří a oceánů. Česká republika má nepříznivou situaci v zásobování vodou, protože je zcela závislá na srážkách. V České republice je průměrné množství srážek za rok asi 700 mm. V průměru u nás na jednoho obyvatele připadá 388 l vody za den, což je nejméně ze všech evropských států [4].

3.1 Koloběh vody

Pro vodu je charakteristický její neustálý koloběh v přírodě, který je spojen se změnou jejího skupenství. Zdrojem energie potřebné k oběhu vody jsou Slunce (umožňuje vypařování a pohyb vlhkosti v atmosféře) a Země (je to příčina pohybu vody v kapalném i pevném skupenství) [9].



Obrázek č. 1: Koloběh vody v přírodě [10]

Slunce ohřívá vodu v oceánech, a ta se vypařuje ve formě vodní páry do atmosféry. Stoupající vzdušné proudy unášejí vodní páru výše do atmosféry, kde nižší teplota způsobí kondenzaci a její přeměnu do formy oblaků. Vzdušné proudy dále ženou oblaka nad zemí a částice vody tvořící oblaky se srážejí, rostou a poté padají z oblohy jako déšť, mlha, kroupy, sníh, nebo se srážejí jako rosa, která se buď přímo vypaří nebo je spotřebována rostlinami a

opět se vypaří jejich póry. Voda, která dopadne na zemský povrch, odtéká do řek a zpět do moří a oceánů nebo se vsakuje do země. Část této vsáklé vody zůstane blízko zemského povrchu a může znovu napájet povrchové vody (a moře) jako přítok z podzemní vody. Část vsáklé vody v půdě je vázaná kapilárními silami a vypařuje se, část vody je spotřebována rostlinami a vrací se do vzduchu transkripcí, další část vody přechází do vody podzemní nebo proniká do větší hloubky a objevuje se až po delší době v podobě pramenů nebo vrtů [9, 10].

3.2 Dělení vod

Vody lze rozlišit podle původu, výskytu a použití.

Podle původu:

- přírodní,
- odpadní. Odpadní vody lze rozdělit na splaškové a průmyslové. Splaškové odpadní vody jsou vody z domácností, hygienických zařízení, ubytování apod., které neobsahují odpadní vody průmyslové. Jsou zbarveny šedě až šedohnědě a jsou silně zakalené. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí od 6,8 do 7,5. Průmyslové odpadní vody jsou vody použité a znečištěné při výrobním procesu, které jsou ze závodu vypuštěny. Jejich znečištění je ovlivněno charakterem výrobních procesů v průmyslovém podniku. Postupy čištění odpadních vod vyplývají z druhu znečištěné vody a složení škodlivin, které se v nich vyskytují. Chemicky se odstraňují soli a látky anorganické a toxické povahy (např. sloučeniny těžkých kovů). Biologickou cestou lze odstranit látky organického původu, které jsou zdrojem energie a potravou pro mikroorganismy. Toxické organické látky se odstraňují jejich chemickým nebo biochemickým rozkladem [9, 11].

Podle výskytu se přírodní vody dělí na:

- atmosférické. Jedná se o veškerou vodu v ovzduší bez ohledu na skupenství. Srážky jsou výsledkem kondenzace vodních par v ovzduší, mohou být kapalné nebo tuhé. Chemické složení srážek závisí na složení a znečištění ovzduší ve spodní a střední vrstvě atmosféry, ale i ve stejné lokalitě může značně kolísat, protože závisí i na úhrnu srážek, jejich trvání a intenzitě. Nejvíce jsou znečištěny srážkové vody v okolí s velkým využitím průmyslu a sídlišť, nejméně znečištěné jsou vody v horských oblastech. Základní chemické složení kvalitativně odpovídá základnímu složení povrchových a podzemních vod, jsou zde však určité rozdíly kvantitativní. Dominujícím kationtem je kation amonný, který se významně podílí na acidobazických reakcích ve srážkových vodách a také se podílí na jejich neutralizaci. Toto je zásadní rozdíl od složení povrchových i podzemních vod, kde amonný kation není dominující. Hodnota pH je ovlivněna především oxidem uhličitým, ale i dalšími složkami (např. vliv oxidů síry, dusíku a amoniakálního dusíku). V oblastech s neznečištěnou atmosférou se pH pohybuje v rozmezí hodnot od 5,5 do 6,0. V některých průmyslových oblastech byly naměřeny hodnoty pH i pod 3,5. Jedná se o tzv. kyselé srážky.
- podzemní. Podzemní voda zahrnuje veškerou vodu, která se vyskytuje pod zemským povrchem. Dělí se na juvenilní (vystupuje k povrchu z nitra Země, vyskytuje se např. ve vulkanických oblastech a tvoří poměrně malou část podzemní vody) a vadózní (vzniká prosakováním srážkové vody pod zemský povrch). Chemické složení

podzemních vod je dáno vzájemným působením srážkových a povrchových vod, podzemní atmosféry a složením půd a hornin. Dominujícím kationem bývá především vápník, také to může být sodík nebo i hořčík. Dominujícím aniontem jsou hlavně hydrogenuhličitan, ale i sírany nebo chloridy. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí od 5,5 do 7,5.

- povrchové,
- vody zvláštní, kam se zařazují přírodní léčivé vody, stolní minerální vody a vody důlní [1].

Podle použití na:

- pitné. Jedná se o vodu zdravotně nezávadnou, která ani po dlouhodobém požívání nevyvolá onemocnění nebo poruchy zdraví. Musí vyhovovat předepsaným zdravotním a chemickým požadavkům. Dobrá pitná voda by měla obsahovat i dostatek biogenních prvků a musí vyhovovat i z hlediska organoleptického. Při rozvádění potrubím nesmí porušovat jeho stěny. Nejvyšším zdrojem pitné vody jsou vody podzemní, ale jejich malé zásoby nutí používat jako zdroj pitné vody i vody povrchové. Povolená koncentrace pesticidů v pitné vodě je 0,1 µg/l pro jednotlivé pesticidy a 0,5 µg/l pro všechny pesticidy.
- užitkové. Je to hygienicky nezávadná voda, které není určena k pití a vaření. Z hygienického hlediska se na jakost této vody kladou stejné požadavky jako na vodu pitnou, ale některé požadavky na její chemické a fyzikální vlastnosti mohou být méně přísné.
- provozní. Provozní voda se používá pro různé výrobní i nevýrobní účely (chlazení, mytí zařízení, rozpouštění surovin atd.) Její jakost odpovídá příslušnému způsobu použití. Nevhodně vybraná jakost vody může způsobit korozi zařízení nebo zhoršení kvality výrobku.
- Odpadní [1, 4, 15].

3.3 Povrchová voda

Jedná se o vody přirozeně se vyskytující na zemském povrchu. Dělí se na kontinentální (vodní toky, jezera, nádrže, rybníky) a mořské. Zvláštním druhem je voda brakická, která vzniká při ústí řek do moře mísením mořské vody s říční. Pro ČR představuje hlavní část vodních zdrojů. Je důležitá pro zásobování obyvatelstva, průmyslu i zemědělství. V porovnání s podzemními vodami obsahují vyšší koncentraci rozpuštěného kyslíku, nerozpuštěných látek, sloučenin dusíku a fosforu a organických látek. Naopak obsahují menší koncentrace oxidu uhličitého, železa a manganu a mají menší celkovou hodnotu mineralizace. Rozdílné je i zastoupení mikroorganismů, které je u povrchových vod podstatně větší než u podzemních. Hodnota pH se většinou pohybuje v slabě alkalické oblasti. Mezi nejdůležitější hodnocení jakosti tekoucích povrchových vod patří ukazatele kyslíkového režimu (BSK₅, CHSK, rozpuštěný kyslík apod.), které zásadně ovlivňují samočisticí schopnost toku.

Tyto vody se rozdělují do tříd podle jakosti pomocí mezních hodnot charakteristických ukazatelů. Podle vyhlášky ČSN 76 7221 se dělí do pěti tříd:

- I. třída: neznečištěná voda
- II. třída: mírně znečištěná voda
- III. třída: znečištěná voda
- IV. třída: silně znečištěná voda
- V. třída: velmi silně znečištěná voda [1, 11].

Tabulka č. 1: Mezní hodnoty tříd jakosti vody podle ČSN 75 7221 (pokud není uvedeno jinak jsou hodnoty v mg.l⁻¹) [1]

Ukazatel	1.třída	2. třída	3. třída	4. třída	5.třída
BSK	< 2	< 4	< 8	< 15	≥ 15
CHSK	< 15	< 25	< 45	< 60	≥ 60
Amoniakální dusík	< 0,3	< 0,7	< 2	< 4	≥ 4
Dusičnanový dusík	< 3	< 6	< 10	< 13	≥ 13
Celkový fosfor	< 0,05	< 0,15	< 0,4	< 1	≥ 1
Saprobní index makrozoobentosu	< 1,5	< 2,2	< 3	< 3,5	≥ 3,5
Rozpuštěný kyslík	> 7,5	> 6,5	> 5	> 3	≥ 3
Konduktivita / mS.m ⁻¹	< 40	< 70	< 110	< 160	≥ 160
Sířany	< 80	< 150	< 250	< 400	≥ 400
Chloridy	< 100	< 200	< 300	< 450	≥ 450
Vápník	< 150	< 200	< 300	< 400	≥ 400
Hořčík	< 50	< 100	< 200	< 300	≥ 300
Železo	< 0,5	< 1	< 2	< 3	≥ 3
Mangan	< 0,1	< 0,3	< 0,5	< 0,8	≥ 0,8
Zinek	< 0,015	< 0,05	< 0,1	< 0,2	≥ 0,2
Měď	< 0,05	< 0,02	< 0,05	< 0,1	≥ 0,1
Rtut ² / μg.l ⁻¹	< 0,05	< 0,1	< 0,5	< 1	≥ 1
Kadmium / μg.l ⁻¹	< 0,1	< 0,4	< 1	< 2	≥ 2
CHSK	< 6	< 9	< 14	< 20	≥ 20
TOC	< 7	< 10	< 16	< 20	≥ 20
AOX	< 0,01	< 0,02	< 0,03	< 0,04	≥ 0,04
Trichlormethan / μg.l ⁻¹	< 0,2	< 1	< 2	< 3	≥ 3
PAU / μg.l ⁻¹	< 0,01	< 0,1	< 0,5	< 3	≥ 3

3.3.1 Znečištění povrchových vod

Vlivem nečistot dochází k porušení biologické rovnováhy a schopnosti samočištění. Vliv odpadních vod na čistotu povrchové vody se posuzuje podle chemických, biologických a estetických změn vody, nejnapadnější jev je úhyn ryb [1].

3.3.1.1 Primární znečištění

Je způsobeno látkami, které jsou přítomny v odpadní vodě. Lze je dále dělit na:

- Znečištění inertními materiály (půda, kaolin, apod.).
- Znečištění organickými látkami, které mohou být přirozeného (humnové látky, splašky) nebo antropogenního původu (ropné produkty, pesticidy, fenoly, detergenty). Ropné produkty plovou na hladině a zabraňují přestupu kyslíku do vody, nejsou toxické. Detergenty vytvářejí pěnu a mají podobný účinek jako ropné produkty. Fenoly a pesticidy jsou toxické pro ryby a mikroorganismy.
- Znečištění anorganickými látkami. Tyto látky mohou zvýšit solnost vody a její korozivnost (NaCl), mění pH vody (kyseliny, NH_3) a některé mohou být toxické (Hg, Pb, As, Cd atd.).
- Znečištění bakteriální, které je způsobeno zvýšeným přísunem mikroorganismů.
- Znečištění radioaktivní [4].

3.3.1.2 Sekundární znečištění

Jedná se o nadměrný rozvoj některých organismů vyvolaný přítomností vhodných látek. Patří sem především eutrofizace vodních nádrží, kdy nadměrný přísun dusičnanů a fosforečnanů vyvolá zarůstání nádrží řasami, sinicemi a rozsivkami. Ve vodách, které obsahují cukry se často vyskytuje bakterie *Sphaerotilus natans*, která vytváří dlouhé kolonie. Po odumření dochází k rozkladu a následně ke znečištění vod [4].

3.4 Procesy odbourávání pesticidů ve vodě

Tyto procesy můžeme rozdělit na chemické (hydrolýza, oxidace, elektrolytická disociace), fyzikální (rozpuštění, sedimentace) a biologické, které jsou spojené s hromaděním pesticidů ve vodních organismech. Pesticidy dobře rozpustné ve vodě (organické sloučeniny fosforu, deriváty močoviny, karbamáty a fenoxycetové sloučeniny) podléhají biologickým a chemickým procesům a rychle se rozkládají v povrchových vodách. Ve vodě mohou být disociovány, poté reagují s vápníkem, hořčíkem nebo jinými kovy nacházejících se ve vodách. Tato reakce způsobuje detoxikaci a odbourávání pesticidů odstraňováním usazenin. Organické sloučeniny fosforu podléhají hydrolýze na kyseliny a alkoholy. Pesticidy obsahující aminové, iminové a nitro skupiny podléhají rozkladu v důsledku oxidace nebo redukce. Pesticidy, které jsou těžko rozpustné ve vodě (chlorované uhlovodíky), podléhají především adsorpci a sedimentaci. Větší částice sedimentují a ukládají se na dně rychleji. Rozklad pesticidů může probíhat i pomocí bakterií nacházejících se ve vodách a stokách.

4 STANOVENÍ PESTICIDŮ VE VODÁCH

4.1 Výskyt pesticidů ve vodách a jejich stanovení

Vzhledem ke své toxicitě vyžadují pesticidy cílené sledování, i když jejich stanovení ve vodách je náročné. Pesticidy se silně sorbují v půdě, proto jejich pronikání do podzemních vod probíhá jen v omezené míře. Prokazatelné jsou tehdy, když sorpční kapacita půdy je nedostatečná. Pesticidy se zejména vyskytují v povrchových vodách, kde lze prokázat hlavně biochemicky stabilní organochlorové pesticidy (doba rozpadu až několik desítek let) a triazinové pesticidy (doba rozpadu 1 – 2 roky); relativně stálé jsou také fenoxycarboxylové kyseliny (doba rozpadu 1 – 6 měsíců) a málo stálé jsou karbamáty (doba rozpadu 4 – 6 týdnů).

Pesticidy mohou být přítomny ve vodách v rozpuštěné nebo nerozpuštěné formě. Z velké části mohou být sorbovány na nerozpuštěných minerálních i organických látkách. Proto je pro jejich stanovení v kapalně fázi nezbytná i analýza sedimentů, kalů a půdy.

Volba vhodné analytické metody závisí na řadě faktorů, např. na účelu analýzy a na povaze cílového analytu (původní sloučenina, její metabolit nebo degradační produkt). Pro stanovení pesticidů ve vodách se nejčastěji používají multireziduální metody, které umožňují během jedné analýzy současně stanovit velké množství těchto látek. Až na malé výjimky, se aplikované postupy provádějí ve třech základních krocích:

- izolace analytů z matrice,
- odstranění přirozených komponent vzorku koextrahovaných spolu s analyty,
- vlastní identifikace a kvantifikace.

Pro některé pesticidy je nutné navíc zařadit i derivatizaci, a to s cílem zlepšení chromatografických vlastností. Dominantní technikou pro identifikaci a kvantifikaci analytů je plynová chromatografie spojená s vhodným detektorem. Výběr detektorů je velmi důležitý, protože jejich selektivita je důležitá proto, že v analyzovaných vzorcích stanovujeme stopová množství těchto analytů.

Pro některé pesticidy (např. karbamáty), které nelze vzhledem k jejich fyzikálně-chemickým vlastnostem (polarita a termolabilita) stanovit metodou GC, se používají metody kapalinové chromatografie (LC) a zejména její varianta, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).

Chromatografické metody ve spojení s citlivým detekčním systémem jsou široce používané kontrolními laboratořemi, avšak vyžadují velmi nákladné přístrojové zařízení a časově náročné mnohostupňové čištění extraktů před vlastní analýzou. Proto se v posledních letech zvyšuje úsilí o vypracování vhodných imunochemických metod pro stanovení pesticidů. Tyto techniky představují jednoduché, finančně méně náročné a rychlé metody pro kontrolu organických sloučenin. Imunochemické metody využívají k důkazu, stanovení nebo separaci analytu biospecifické interakce s protilátkami; klíčovým krokem je tedy navržení a příprava vhodného imunogenu. Pro tyto účely lze připravit buď úzce specifické protilátky, které budou intereagovat pouze s jediným vybraným zástupcem ze skupiny strukturně podobných pesticidů, nebo široce specifické protilátky, reagující se všemi zástupci dané skupiny pesticidů.

Pro úplnost je nutné dodat, že vedle multireziduálních metod existují i speciální postupy pro jednotlivé pesticidy nebo pro jejich skupiny, které nelze běžnými multireziduálními metodami stanovit. Tyto postupy často bývají velmi selektivní. Typickým příkladem jsou fungicidy ze

skupiny dithiokarbamátů, které se nepřímo stanovují jako sirouhlík vznikající při jejich rozkladu [1, 12, 13, 15].

4.2 Příprava vzorku na analýzu

Analytický postup přípravy vzorku zahrnuje následující kroky: vzorkování, konzervaci vzorku, úpravu a analýzu vzorku.

Vzorek musí reprezentovat jakost vody v místě, v bodu i době odběru. Odběr vzorku je považován za základní část celého analytického procesu, protože chyby vzniklé při špatném odběru nebo při skladování již nelze obvykle napravit. Vzorky vody se odebírají do tmavých skleněných lahví o objemu minimálně 1 l. Láhve se plní až po zátku. Měly by být uchovávány v chladu (kolem 4 °C) a na tmavém místě. Během transportu do laboratoře je nutné zamezit degradaci pesticidů a kontaminaci odebraných vzorků. Vzorky vody je vhodné analyzovat v co nejkratší době po odběru.

Předběžná úprava vzorků může být provedena v po sobě následujících krocích zahrnujících extrakci cílových pesticidů ze vzorků vody a odstranění koextrahovatelných nežádoucích komponent z matrice (tzv. čištění vzorku), které by mohly způsobit kontaminaci injektoru nebo kolony a značně ovlivnit kvalitu chromatografického stanovení. Hlavním cílem úpravy vzorku je získat produkt, který bude mít větší stabilitu nebo lepší chromatografické vlastnosti pro detekci, případně větší citlivost [14, 16, 17].

4.2.1 Extrakce

Pesticidy se ve vodách většinou nacházejí v koncentracích řádově nižších (ng/l nebo menší), než je potřeba k přímému stanovení. Proto je nutné tyto látky předem zkoncentrovat. K tomuto účelu slouží extrakce. Pro extrakci pesticidů z vodného vzorku lze použít extrakci z kapaliny do kapaliny (LLE) nebo extrakci pevnou fází (SPE). V poslední době se uplatňují nové techniky, které nahrazují zdoluhavé postupy s velkými spotřebami rozpouštědel jako je u LLE. Do této skupiny patří především mikroextrakce pevnou fází (SPME) nebo mikroextrakce kapalnou fází (LLME) [4, 14, 18].

4.2.1.1 Extrakce z kapaliny do kapaliny

Principem je extrahovat složku z vodného roztoku do organického rozpouštědla, které je s vodou nemísitelné. Důležité je, aby rozpouštědla měla dobré solvatační schopnosti pro sledované analyty. Kromě toho je nezbytné, aby analyty byly v rozpouštědlech dostatečně stabilní a měly odpovídající čistotu, která zajistí, že při extrakci nedojde ke kontaminaci vzorku. Podmínkou této metody je ustanovení fázové rovnováhy mezi dvěma nemísitelnými kapalinami. Extrakce rozpouštědlem se obvykle provádí v dělicí nálevce a přechod složky mezi fázemi lze urychlit zvýšením jejich plochy, v nejjednodušším případě třepáním. LLE umožňuje kromě zkoncentrování pesticidů i jejich první hrubé rozdělení úpravou pH vzorku na 7 – 8. Po protřepání s extrakčním činidlem (dichlormethan, popř. chloroform) přejdou do extraktu herbicidy typu triazinů, některé deriváty močoviny, insekticidy na bázi chlorovaných uhlovodíků a ostatní bazické a neutrální látky.

Jako extrakční činidla lze také použít petrolether, např. pro izolaci triazinů a ostatních herbicidů, dále směs chloroform-hexan pro izolaci karbamátů a směs dichlormethan-ethylacetát obsahující 0,2 mol/l mravenčanu sodného pro izolaci organofosfátů.

Nevýhodou této techniky je její časová náročnost a velká spotřeba rozpouštědel, které mohou být drahé, hořlavé a toxické [4, 14, 19].

4.2.1.2 Mikroextrakce kapalnou fází

Tato technika eliminuje řadu nevýhod klasické extrakce a byla poprvé představena roku 1996. Používá malé množství rozpouštědel (expozice toxickými rozpouštědly je tedy minimální), zkracuje dobu potřebnou ke zpracování vzorku a je levná. Principem je extrakce vodného vzorku do organického rozpouštědla, která jsou vzájemně nemísitelná. Analyt je extrahován do mikrokapičky (1 - 3 μm) vytlačené z injekční (nástříkové) stříkačky. Po ukončení sorbování analytů (u pesticidů 15 - 30 min) je kapka opět pístem vtažena zpět, jehla vytažena z nádoby se vzorkem a následně je proveden nástřik přímo do plynového či kapalinového chromatografu. Pro každou analýzu můžeme použít vždy nové rozpouštědlo, čímž se zabrání negativním účinkům z předchozí analýzy, jak tomu někdy bývá u SPME. Volba vhodného organického rozpouštědla je považována za základ účinné extrakce. Dobré rozpouštědlo musí být nemísitelné s vodou, málo rozpustné ve vodě, kompatibilní s daným chromatografickým systémem a musí mít vysokou rozpustnost pro cílové analyty. Pro analýzu pesticidů lze použít např. hexan, 1-oktanol, chlorbenzen, cyklohexan a 1-chlorbutan [14, 20].

4.2.1.3 Extrakce pevnou fází

Tato extrakce nabízí řadu výhod v porovnání s extrakcí rozpouštědlem, a to především dobrou selektivitu a úsporu organických rozpouštědel. V některých případech lze provést extrakci tuhou fází přímo v terénu při odběru. Provádá se to tak, že vzorek vody protlačíme přes sorpční kolonku s vhodným sorbetem. Metodu lze snadno i automatizovat a případně navázat na další instrumentální metody. Univerzálnost této metody dovoluje, kromě extrakce a zakoncentrování stopových množství látek, použití i pro další účely (např. čištění extraktů, výměnu rozpouštědel a derivatizaci).

Jedná se o velmi jednoduchou techniku, která je realizovaná čerpáním vzorku vody přes kolonku obsahující sorbent. Průtok kapaliny přes kolonku je možné urychlit např. vakuem na výstupu z kolonky, tlakem na vstupu kolonky nebo centrifugací. Nejvíce používanými sorbenty pro extrakci pesticidů z vodných vzorků jsou oktadecyl-silikagel, oktyl-silikagel, styren divinylbenzenový kopolymer a grafitizovaný uhlík. Před provedením samotné extrakce je nutné provést aktivaci sorbentu. Kolonka se nejdříve promyje, a to nejčastěji methanolem nebo acetonitrilem, abychom zajistili smáčení sorbentu s matricí vzorku (tzv. solvatace). Následuje předrovnovážná úprava kolonky, která spočívá v nasycení kolonky čistým rozpouštědlem. Teprve potom je aplikován vzorek. Může se provádět i promývání kolonky za účelem selektivně eluovat nežádoucí sloučeniny (balastní látky) z vázaných fází, aniž by byly eluovány analyty. Často se používají rozpouštědla, ve kterých jsou analyty nerozpustné. Závěrečným krokem v SPE extrakci je znovuzískání analytů z extrakční kolonky. K desorpci látek je možno použít celou řadu rozpouštědel; jako vhodné se ukázaly být např. aceton a dichlormethan. Při desorpci je nezbytná i kontrola rychlosti průtoku, protože při rychlém průtoku se nemusí vymýt všechny analyty [4, 18, 19].

4.2.1.4 Mikroextrakce pevnou fází

Pro extrakci organických mikropolutantů z vodné matrice se používá i mikroextrakce pevnou fází (SPME). Tato technika nevyžaduje přítomnost žádných organických rozpouštědel. Pro analýzu pesticidů se často používá v kombinaci s plynovou chromatografií, popř. kapalinovou chromatografií. Proces SPME zahrnuje dva základní kroky:

- extrakci analytů ze vzorkované matrice,
- přímou desorpci extrahovaných analytů do plynové nebo kapalinové kolonky.

Extrakce analytů se provádí buď ponořením vlákna z taveného křemene pokrytého zakotvenou fází do kapalného vzorku nebo umístěním vlákna nad kapalný vzorek do prostředí nasyceného těkavými analyty. Po určitou dobu se nechá probíhat sorpce na pevnou fázi. Nejvíce používanými sorbenty jsou divinylbenzen, polyakrylát a polydimethylsiloxan. Někdy se kombinují i s jinými materiály, např. s Carbowaxem nebo Carboxenem. Po nasorbování analytů následuje analytický stupeň, kterým je obvykle plynová chromatografie. Vláknko se vloží do dávkovacího zařízení a analyty jsou při vysokých teplotách desorbovány, poté vstupují do chromatografické kolony, kde nastává jejich separace. Pro termolabilní látky je desorpce prováděna rozpouštědlem, kdy je koncová analýza provedena pomocí HPLC [14, 19, 21].

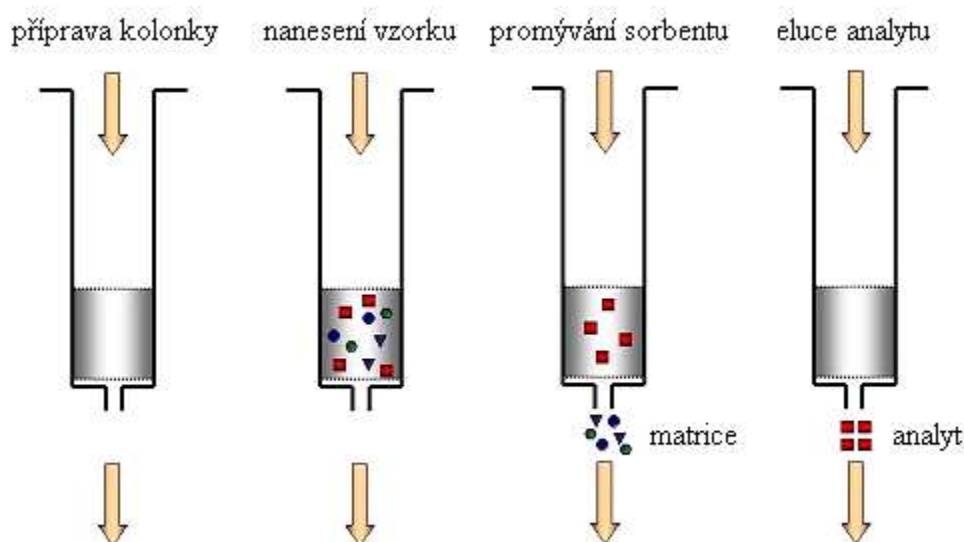
4.2.2 Způsoby desorpce a zapojení analytické kolony

Lze použít desorpci teplem nebo rozpouštědlem:

- I. desorpce rozpouštědlem (zapojení off-line s plynovým nebo kapalinovým chromatografem nebo zapojení on-line s kapalinovým chromatografem),
- II. desorpce teplem (zapojení on-line s plynovým chromatografem).

4.2.2.1 Desorpce rozpouštědlem, zapojení off-line

Tato metoda patří k nejrozšířenějším postupům. Analyt se desorbuje vhodným rozpouštědlem, které se pak odpaří do sucha (u netěkavých analytů). Poté se analyt znovu rozpustí v malém množství rozpouštědla a určitý podíl je nastříknut do plynového nebo kapalinového chromatografu. Výhodou této metody je možnost použití GC i LC, nízké náklady a vyšší účinnost chromatografické kolony při manuálním nástřiku. Nevýhodou je malé množství nástřiku analytu (cca 10 %) [4].



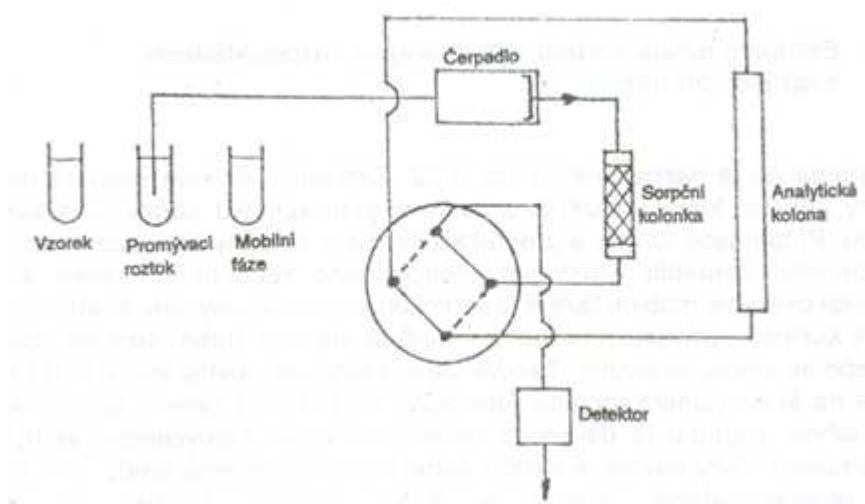
Obrázek č. 2: Extrakce tuhým sorbetem, desorpce rozpouštědlem, zapojení off-line [4]

4.2.2.2 Desorpce rozpouštědlem, zapojení on-line

Pro desorpci můžeme použít techniku se dvěma čerpadly nebo s jedním čerpadlem. U varianty se dvěma čerpadly je základním prvkem instrumentace šesticestný kohout, který umožňuje zařadit sorpční kolonku paralelně s kolonkou analytickou. Přitom jsou vzorek a promývací kapalina čerpány přes sorpční kolonku pomocí druhého čerpadla. Otočením šesticestného kohoutu lze docílit zařazení sorpční kolony mezi čerpadlo mobilní fáze a analytickou kolonku. Zachycený analyt je přitom ze sorpční kolony vymýván mobilní fází.

Varianta s jedním čerpadlem je technicky méně náročná. Používá se zde čtyřcestný kohout. V první fázi je vzorek čerpán přes sorpční kolonku a detektor, v druhé fázi se systémem čerpá promývací kapalina a ve třetí fázi se pootočením čtyřcestným kohoutem se analyt pomocí mobilní fáze eluuje do analytické kolony a detektoru.

Výhodou tohoto postupu je možnost dávkování celého množství zachyceného analytu do analytické kolony a celý proces je možno automatizovat. Nevýhodou je nižší účinnost analytické kolony v porovnání nástřiku přímo na kolonu a větší náklady na instrumentaci [4].

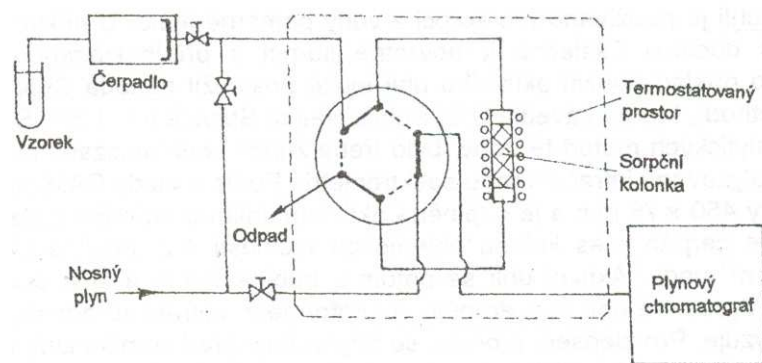


Obrázek č. 3: Extrakce tuhým sorbentem, desorpce rozpouštědlem, zapojení on-line [4]

4.2.2.3 Desorpce teplem, zapojení on-line

Při tepelné desorpci přechází celé množství analytu do analytické kolony plynového chromatografu. Sorpční kolonka musí být umístěna v topném plášti. Vzorek vody je čerpán přes sorpční kolonku a přes šesticečný kohout do odpadu. Poté je uzavřen výstup z čerpadla a do okruhu sorpční kolony je puštěn inertní plyn. Topný plášť kolony se zahřeje na takovou teplotu, aby došlo k vysušení sorbentu, ale nedošlo k těkání analytu. Po sušení následuje desorpce analytu, a to tak, že teplota sorpční kolony se zvýší a současně se pootočí šesticečný kohout do druhé polohy. Uvolněný analyt je unášen proudem plynu na začátek chladné analytické kolony plynového chromatografu, kde se koncentruje.

Výhodou je přenesení veškerého zkoncentrovaného analytu do analytické kolony. Nevýhodou je omezený počet sloučenin, pro které lze tento postup použít [4].



Obrázek č. 4: Extrakce tuhým sorbetem, desorpce teplem, zapojení on-line [4]

4.2.3 Čištění vzorku (clean-up)

Většina extrahovaných vzorků vyžaduje před chromatografickou analýzou přečištění od koextrahovaných nežádoucích látek. Frakcionace resp. oddělení těchto látek od analytů se velmi často provádí metodou gelové permeační chromatografie (GPC); lze použít i adsorpční kolonovou (sloupcovou) chromatografii na silikagelu, neutrální alumině nebo Florisilu. Předpokladem úspěšné separace koextraktů od analytů je jejich rozdílná polarita [14, 19].

4.2.3.1 Gelová permeační chromatografie

Principem této metody je separace molekul na základě jejich velikosti. V koloně je náplň pórovitého gelu. Pro pesticidy se používá hydrofobní gel typu styren-divinylbenzenový kopolymer (Bio Beads SX-3). Při průchodu kolonou jsou molekuly složek zdržovány v důsledku svého pronikání do pórů gelu. Malé molekuly (u syntetických pesticidů je $M_r = 200 - 400$) pronikají hlouběji a jsou proto nejdéle zdržovány v koloně. Naproti tomu velké molekuly (např. lipidy, kde $M_r = 600 - 1500$) do pórů vůbec neproniknou a budou se jako první eluovat z kolony [14, 19].

4.2.4 Derivatizace

Zvyšuje citlivost kvantitativního stanovení. Cílem je ovlivnit chemickou strukturu látky tak, aby poskytla požadované údaje, kterými jsou mez detekce, citlivost metody a selektivita. Zavedením vhodných atomů nebo funkčních skupin do molekuly látky získáme látku jinou, s vhodnějšími vlastnostmi, které povedou ke zvýšení citlivosti či selektivity. Můžeme ji použít jen pro látky schopné reagovat s derivatizačními činidly. Pro zajištění větší citlivosti a selektivity pesticidů při stanovení plynovou chromatografií se jako derivatizační činidla používají 2,4-dinitrofluorbenzen, pentafluorbenzylbromid, anhydrid kyseliny heptafluormásečné a anhydrid kyseliny pentafluorpropionové. Derivatizace je nutná např. u pesticidů typu methyلكarbamátů pro stanovení GC nebo u fenoxycarboxylových kyselin, které se před analýzou převádí na podstatně těkavější methylestery [14, 22].

4.3 Vlastní stanovení pesticidů technikou GC

Tato technika zaujímá přední místo při multireziduální analýze pesticidů. Jako její hlavní přednosti jsou uváděny rychlost, flexibilita, dobrá reprodukovatelnost, nejvyšší separační účinnost a hlavně možnost použití selektivních detektorů.

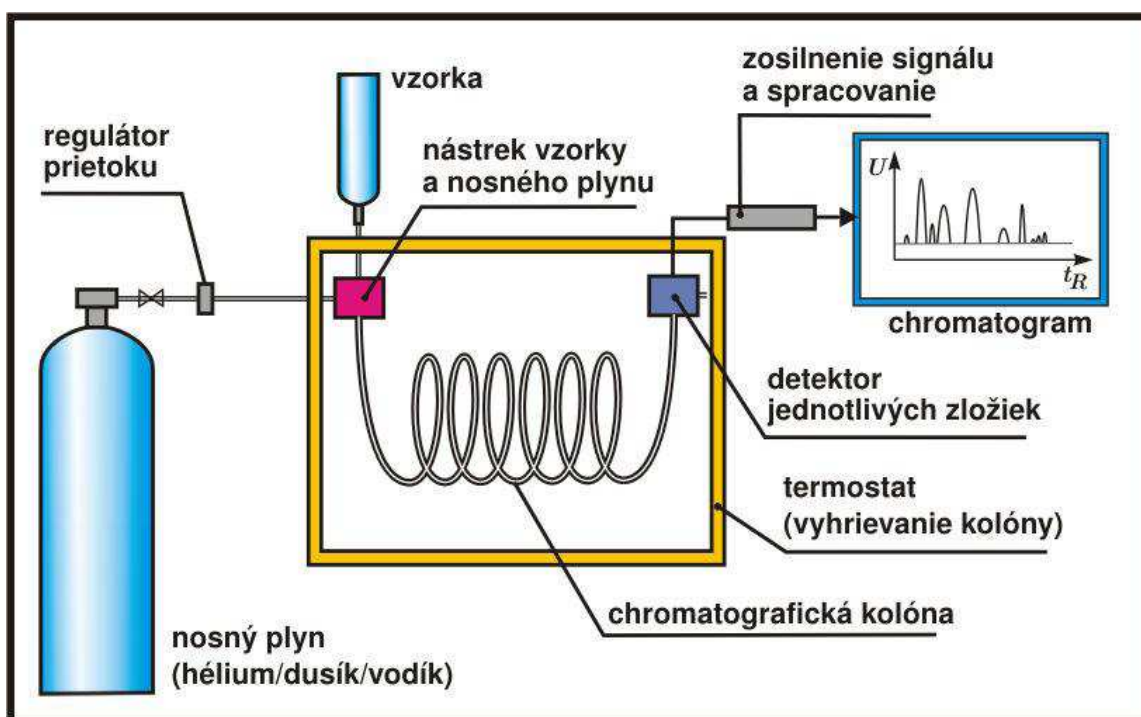
V koloně se složky látek separují na základě své schopnosti poutat se na stacionární (nepohyblivou) fázi. Vzorek se dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou, a proto se mobilní (pohyblivá) fáze nazývá nosný plyn. Nosný plyn slouží pouze k transportu složek (musí být v plynném skupenství) kolonou, neinteraguje se stacionární fází ani se separovanými složkami. Složky, které opouští kolonu jsou identifikovány pomocí detektorů [4, 19].

4.3.1 Instrumentace v plynové chromatografii

Plynový chromatograf se skládá z těchto základních částí:

- Zdroj nosného plynu. Jedná se o tlakovou láhev obsahující nosný plyn, který musí být vysoké čistoty. Volba typu nosného plynu je určena druhem kolony a detektoru.
- Čistící zařízení. Slouží k čištění nosného plynu. Zachycuje vlhkost, nečistoty a nežádoucí stopy ostatních plynů.
- Zařízení pro regulaci průtoku nosného plynu, které reguluje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu pomocí ventilu.
- Dávkovač, který slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Pro stanovení pesticidů se používá nástřik bez děliče toku (tzv. splitless injection), protože pracujeme s relativně velkými objemy. Vzorek je dávkován pomocí injekční stříkačky do odpařovací trubice, kde se nechá asi 60 s odpařovat. Následuje oplach septa. Používaná rozpouštědla kondenzují a vytváří kapalnou film v hlavě kolony. Po zachycení všech analytů v kapalném filmu je zvýšena teplota kolony, rozpouštědlo se odpaří a začne probíhat separace. S rostoucí teplotou se však také zvyšuje riziko termodegradace pesticidů. Pokud se během nástřiku zvýší tlak v nástřikovém prostoru, dojde k rychlejšímu přenosu látek na kolonu, a tím se sníží riziko jejich ztráty v důsledku termodegradace (tzv. pulsní splitless nástřik). Tato metoda může být přínosem pro některé citlivé pesticidy zahrnuté do multireziduálních metod. Použitím tlakového pulsu mohou být sníženy detekční limity např. pro organofosfáty.

- Kolona, ve které je umístěna stacionární fáze a probíhá zde separace složek. Pro analýzu pesticidů se používají křemenné kapilární kolony, které využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Vnitřní průměr kolon obvykle bývá v rozmezí hodnot 0,1 - 0,6 mm a jejich délka 15 - 60 m. Použití menších průměrů vede k vyšší účinnosti, avšak menší kapacitě. Volba stacionární fáze závisí na polaritě separovaných složek. Pro polární látky (pesticidy) se používají středně polární kolony.
- Detektor slouží k detekci látek v nosném plynu.
- Vyhodnocovací zařízení, které slouží ke zpracování signálu z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku a provádí její vyhodnocení.
- Termostat. V něm jsou uloženy dávkovač, kolona a detektor; termostat zajišťuje dostatečně vysokou teplotu, aby byl vzorek udržen v plynném stavu [4, 19, 23, 24].



Obrázek č. 5: Schéma plynového chromatografu [29]

4.3.1.1 Detektory v plynové chromatografii

Účinnost plynové chromatografie pro analýzu pesticidů je dána hlavně možností použití selektivních a senzitivních detektorů. Účelem detektoru je poskytnout rozdílné signály při průchodu samotného nosného plynu a při průchodu nosného plynu obsahující eluovanou složku. Základními charakteristickými vlastnostmi dobrého detektoru je výborná stabilita signálu, vysoká citlivost (nízký detekční limit) a vysoká selektivita pro stanovované analyty. Jedním z prvních používaných selektivních detektorů, ve spojení s GC, byl detektor elektronového záchytu (ECD). Tento detektor je vysoce citlivý na látky obsahující heteroatomy (především halogeny), a proto dodnes zůstává široce používaným detektorem pro analýzu chlorovaných pesticidů. Termoionizační detektor (NPD) je vysoce citlivý na látky obsahující dusík nebo fosfor, jako jsou například karbamáty a organofosforové pesticidy.

Pro stanovení pesticidů mohou být použity i plamenový ionizační detektor (FID) a atomový emisní detektor (AED), nehledě na jejich menší citlivost.

- ECD je složený ze dvou elektrod: emitor (zdroj měkkého radioaktivního záření) a kolektor, mezi které je vloženo napětí. Jako nosný plyn se používá dusík. Molekuly dusíku jsou ionizovány emitorem, a tím je umožněn vznik ionizačního proudu. Z nosného plynu jsou uvolňovány elektrony a analyzované složky, které mají afinitu k elektronům, je zachytávají. Při průchodu takovéto látky detektorem dojde k poklesu ionizačního proudu. Tento detektor je nejcitlivější v plynové chromatografii (minimální detekované množství MDM je 50 fg). Používá se hlavně pro látky s vysokým obsahem elektronegativních skupin nebo s výrazným podílem dvojných vazeb či aromatických kruhů (např. organochlorové pesticidy).
- PID je modifikací detektoru FID. Jedná se o selektivní termoionizační detektor, který obsahuje v účinném prostoru sůl alkalického kovu. Detekce je založena na ionizaci alkalického kovu vlivem spalín organických sloučenin, obsahujících zejména fosfor a dusík. MDM je 5 – 50 pg (pro látky obsahující dusík) a 1 – 5 pg (pro látky obsahující fosfor).
- FID zaznamenává hlavně sloučeniny s C-H vazbami. Jeho odezva roste s počtem uhlíkových atomů poskytujících ionty CHO^+ a klesá s přítomností heteroatomů v molekule. Molekuly plynu jsou spalovány v kyslíkovodíkovém plameni (nosný plyn se před vstupem do hořáku mísí s vodíkem, vzduch je přiváděn z vnějšku), a tím vznikají ionty schopné přenášet ionizační proud mezi elektrodami. Přítomnost složky zvýší ionizaci a elektrický proud se zvětší. Jako nosný plyn se nejčastěji používá dusík. MDM má rozsah od 0,1 ng do 1 ng.
- AED využívá emise záření vzorkem. Plyn z kolony vstupuje do plazmové hlavice, atomizuje se a emituje záření. Emitované záření se analyzuje diodovým polem, které určí obsah prvků [14, 23, 19].

4.3.2 Spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem

Jedná se o přímé spojení separační a spektrální techniky. V prvním kroku proběhne rozdělení směsi a v druhém kroku následuje získání strukturních informací o jednotlivých sloučeninách. Nepostradatelné je spojení GC-MS tam, kde se provádí identifikace neznámých složek směsí, protože pro každou složku je možné získat její hmotnostní spektrum a identifikovat ji porovnáním získaného spektra s knihovnou spekter. Používají se především spektrometry vybavené kvadrupolovým analyzátozem nebo analyzátozem na principu iontové pasti, které jsou cenově nejdostupnější. Propojení mezi plynovým chromatografem a hmotnostním spektrometrem se uskutečňuje pomocí děliče umístěného na výstupu z kolony. Přímý vstup není možný, protože velké množství nosného plynu by narušilo vakuum v hmotnostním spektrometru. Dělič toku dělí proud nosného plynu do dvou větví: jedna vstupuje do běžného detektoru a druhá, přivádějící nosný plyn a eluované složky, do iontového zdroje. Pomocí této metody se získají dva druhy záznamu:

- chromatogram, který informuje o počtu složek přítomných ve vzorku,
- hmotnostní spektra jednotlivých píků, která slouží k identifikaci látek [14, 19, 23].

4.4 Vlastní stanovení pesticidů technikou LC

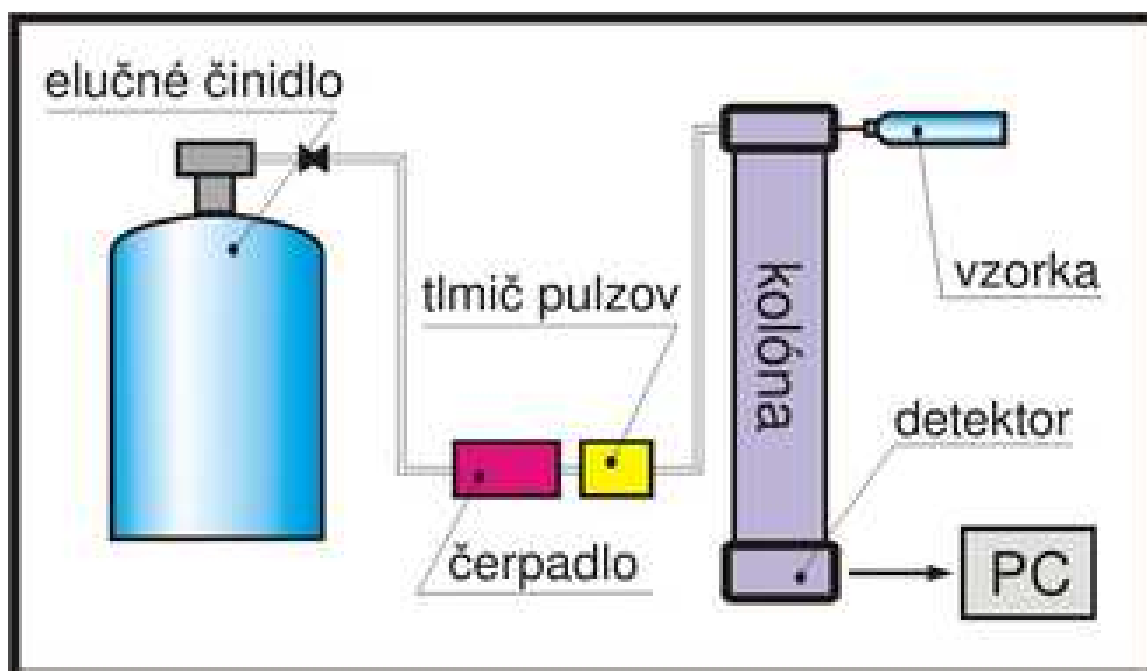
Použití kapalinové chromatografie je vymezeno na ty pesticidy, které pro svou nízkou těkavost, termolabilitu nebo velmi vysokou polaritu nelze stanovit plynovou chromatografií. Podstatou kapalinové chromatografie je rozdělování složek směsi mezi stacionární (nepohyblivou) a mobilní (pohyblivou) fází. Tyto dvě fáze musí mít rozdílnou polaritu. Čas, který složky stráví v jedné či druhé fázi, závisí na afinitě analytu ke každé z nich. Jako mobilní fáze se používá kapalina a intereaguje se stacionární fází i analytem. Moderní forma kapalinové chromatografie je HPLC, která má lepší reprodukovatelnost, vyšší citlivost a rychlost separace. K účinné separaci je třeba použít dostatečně malých zrníček sorbentu, které kladou prostupující kapalině značný odpor. Proto je třeba pracovat s vysokým tlakem. Pesticidy se nejčastěji separují vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s obrácenými fázemi. Stacionární fáze jsou nepolární či mírně polární, používá se většinou chemicky modifikovaný silikagel s vázanými oktadecylovými, oktylovými či jinými alkylovými skupinami. Mobilní fáze jsou vždy polárnější než stacionární a skládají se většinou z vody a jednoho či více polárních rozpouštědel rozpustných ve vodě (např. methanol-voda) [4, 14, 25].

4.4.1 Instrumentace v HPLC

Kapalinový chromatograf se skládá z částí, které jsou důležité pro transport mobilní fáze, dávkování vzorku, separaci jeho složek, detekci, záznamu a zpracování signálu.

- Čerpadlo. Slouží k dávkování mobilní fáze ze zásobníku na separační kolonku. Čerpadla mohou být pístová nebo membránová. Jejich materiál nesmí být narušován mobilní fází a nesmí do ní uvolňovat žádné látky. Lze použít materiály z nerezové oceli, keramiky nebo plastu. Ventily, které řídí tok eluentu, jsou nejčastěji zhotoveny z pryže.
- Dávkovací zařízení se používá pro zavedení vzorku na kolonu. Používají se dávkovací ventily se smyčkou naplněnou vzorkem, které umožňují dávkovat vzorek bez porušení toku mobilní fáze. U manuálně ovládaných ventilů se dávkovací smyčka naplní vzorkem pomocí injekční stříkačky a poté je vzorek dávkován přepnutím smyčky do druhé polohy. U automatických dávkovačů je přepínání poloh ovládáno pneumaticky nebo elektricky a plnění smyčky i dávkování je řízeno pomocí počítače. Automatický dávkovač obsahuje zásobníky s vialkami, ve kterých je umístěna řada vzorků. Po naprogramování sekvence vzorků a doby každé analýzy mohou chromatografy pracovat nepřetržitě i bez dozoru obsluhy.
- Detektory by měly být selektivní pro analyty a málo citlivé na mobilní fázi.

- Kolona. Zde probíhá vlastní separace složek analyzovaného vzorku. Dobrá kolona musí umožnit separaci složek s vysokou účinností a selektivitou, které by se neměly významně snižovat s časem, má mít dobrou mechanickou a chemickou odolnost vůči vysokým tlakům a složkám mobilních fází. Pro většinu analýz se používají náplňové kolony z nerezové oceli o velikosti 15 – 26 cm a vnitřním průměru 4,6 – 5 mm. Pro pesticidy se jako stacionární fáze používají sorbenty typu RP-C18, Spherisorb ODS nebo Zorbax C8 o průměru částic 3 až 10 μm [4, 19, 14, 25].



Obrázek č. 6: Schéma kapalinového chromatografu [29]

4.4.1.1 Detektory v HPLC

Jako detektory schopné citlivě zaznamenat eluované pesticidy se používá fotometrický detektor a elektrochemický detektor.

- Fotometrický detektor měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony. Pracuje v ultrafialové, popř. i ve viditelné oblasti elektromagnetického záření. Detekované látky musí být schopny absorbovat záření dané vlnové délky. Jako zdroj záření se používá rtuťová nebo deuteriová výbojka. Jednodušší detektory měří při jedné vlnové délce, složitější dovolují nastavení vlnové délky pomocí monochromátoru. Nejdokonalejší detektory jsou schopné pomocí diodového pole proměřit absorpční spektrum v určité oblasti vlnových délek a uložit ho do paměti. Vzhledem k tomu, že pesticidy mají nízké molární absorpční koeficienty ($10^2 - 10^3 \text{ l/mol.cm}$), nebude tento detektor příliš citlivý.
- Elektrochemický detektor měří proud vyvolaný při průchodu redukovatelné či oxidovatelné látky měrnou celou s elektrodami, na nichž je vloženo napětí. Ampérometrické detektory používají většinou tři elektrody: měrnou, na které probíhá elektrochemická reakce, srovnávací a pomocnou. Tyto detektory jsou velmi citlivé na

čistotu mobilní fáze, ze kterých je nutno odstranit rozpuštěný kyslík. Mobilní fáze musí být vodivá. Je schopen detekovat velmi malá množství analytu, ale není příliš selektivní a může elektrochemicky redukovat nebo oxidovat celou řadu doprovodných látek [4, 19].

4.4.2 Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem

Metoda HPLC-MS umožňuje získat informace o molekulových hmotnostech, popř. i o struktuře látek separovaných kapalinovou chromatografií. Je proto cennou pomůckou při identifikaci organických látek. Hlavní problém přímého spojení těchto dvou technik spočívá v tom, že hmotnostní spektrometr pracuje za vysokého vakua, zatímco na výstupu z kapalinového chromatografu jsou analyzované látky nesený v proudě kapaliny za atmosférického tlaku. Před vstupem analytů do iontového zdroje hmotnostního spektrometru je nutné odstranit mobilní fázi, která by poškodila nezbytné vakuum. Byla vyvinuta celá řada spojení, ze kterých se v současné době hlavně uplatňuje particle beam (tvrdá ionizační technika) a přímé zavádění eluátu z kolony do termosprejového nebo elektrosprejového iontového zdroje či do zdroje pro atmosférickou chemickou ionizaci (měkké ionizační techniky) [25, 26, 27].

4.4.2.1 Spojení HPLC-MS s particle beam (PB)

Toto spojení je vhodné především pro slabě a středně polární látky, např. pro triazinové pesticidy. K odstranění mobilní fáze po výstupu z chromatografické kolony se používá proud helia. Do zmlžovače vstupuje eluát z kolony kapilárou umístěnou uvnitř širší trubice, která přivádí helium jako zmlžující plyn. Vzniklý aerosol se zavádí do desolvatační komory, kde se odpařuje těkavá mobilní fáze. K odstranění nadbytku zplyněné mobilní fáze dochází ve dvoustupňovém tryskovém separátoru. Zde molekuly analytu, které mají větší molekulovou hmotnost a tím i větší kinetickou energii, projdou tryskou separátoru do iontového zdroje. Lehčí molekuly mobilní fáze jsou z větší části odtaženy vakuovými pumpami. K vlastní ionizaci se nejčastěji využívá elektronová (EI) nebo chemická ionizace (CI).

Výhodou této techniky je možnost použití běžných mobilních fází využívaných v systémech s normálními i obrácenými fázemi a dostupnost rozsáhlých knihoven hmotnostních spekter. Jako nevýhody se uvádí podstatně nižší citlivost než u měkkých ionizačních technik a nelze je použít u příliš těkavých látek, které by byly odsáty vakuovými pumpami, a vysokomolekulárních látek, které se obtížně převádí do plynné fáze [25, 26].

4.4.2.2 Spojení HPLC-MS s měkkými ionizačními technikami

Jedná se o přímé spojení kapalinového chromatografu s hmotnostním spektrometrem. Velkou výhodou je možnost přímého zavádění eluátu z kolony i při vysokém průtoku mobilní fáze až do 1 - 2 ml/min, protože požadavky na vakuum v iontových zdrojích jsou mnohem menší. V iontovém zdroji termospreje je potřebný tlak cca 500 - 2000 Pa, u elektrospreje a APCI dochází k ionizaci při atmosférickém tlaku. Pro některé látky lze dosáhnout ionizace termosprejem či elektrosprejem pouze v přítomnosti přidaného elektrolytu do mobilní fáze. Elektrolyt musí být těkavý, aby působil jako reakční ionizující činidlo v plynné fázi a neusazoval se a neucpával kapiláru do iontového zdroje. Lze použít např. octan amonný, kyselinu mravenčí nebo trifluoroctovou. Tyto způsoby ionizace se vyznačují vysokou citlivostí, takže v hmotnostních spektrech jsou dobře patrné píky molekulových iontů.

Ionizace termosprejem

Principem je rychlé odpaření částec aerosolu, který obsahuje ionty vzniklé ze složek rozpouštědla nebo přidané jako elektrolyt. Kapičky aerosolu mají na svém povrchu náboj, jehož hustota se rychle zvyšuje s dalším odpařováním mobilní fáze ve vyhřívaném iontovém zdroji. Po překročení určité kritické hodnoty povrchového náboje dojde k rozpadu na ještě menší kapičky. Tento jev se opakuje do doby, než dojde k ionizaci molekul vzorku, resp. k uvolnění iontů. Eluát je na výstupu z chromatografické kolony veden kapilárou vyhřívanou na konstantní teplotu, kde se rozpouštědlo začíná částečně odpařovat. Rychlý proud vzniklé páry unáší dosud neodpařené kapičky spolu s molekulami sledovaných látek do vyhřívaného iontového zdroje, kde se odpaření a ionizace dokončí. Ionty přecházející z kapiček do plynné fáze se odrážejí od odpuzovací elektrody do analyzátoru hmotnostního spektrometru. Správné nastavení teploty kapiláry i iontového zdroje je velmi důležité pro dosažení vysoké citlivosti. Termosprej také bývá vybaven žhaveným vláknem, které produkuje ionizující elektrony. Při běžné termosprejové ionizaci je přívod proudu do vlákna vypnut. Zapnutí přívodu proudu se využívá u obtížně ionizovaných látek a na podporu fragmentace molekulových iontů pro lepší identifikaci látek.

Tato metoda má hlavní význam pro analýzu netěkavých a silně polárních až iontových látek, např. pro analýzu močovinových pesticidů [25, 26].

Ionizace elktrosprejem (ESP)

Eluát po výstupu z chromatografické kolony prochází kapilárou, na kterou je vloženo vysoké napětí (3 – 5 kV), které vytváří silné elektrostatické pole. V elektrostatickém poli vzniká aerosol kapiček s velkým nábojem. Kapičky z kapiláry vstupují velkou rychlostí do prostoru proplachovaného protiproudem sušícího vzduchu, kde se rychle odpařují. Odpařováním rozpouštědla se zmenšuje povrch kapiček a dochází k ionizaci molekul analytů podobným způsobem jako u termosprejové ionizace, ale za atmosférického tlaku. Ionty rozprášené do sušícího plynu jsou vtahovány systémem fokusačních a urychlujících elektrod s malými středovými otvory do analyzátoru hmotnostního spektrometru. Jako sušící plyn se používá dusík.

Tato ionizace je vhodná zejména k určení molekulové hmotnosti iontových a polárních látek. Fragmentové ionty jsou v hmotnostních spektrech při ionizaci elktrosprejem zastoupeny jen v menší míře [25, 26, 27].

Chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI)

Zde se využívá podobného uspořádání iontového zdroje jako při ionizaci elktrosprejem, avšak na kapiláře není vloženo napětí, ale je zde umístěna výbojová jehla (elektroda). Na konci kapiláry dochází k rozprášení eluátu pneumatickým zmlžovačem. Vzniklý aerosol je rychle odpařen ve krátké zóně vyhřívané na vysokou teplotu (300 – 650 °C). Vložením napětí na výbojovou jehlu dojde ke vzniku koronárního výboje, který ionizuje molekuly mobilní fáze přítomné v plynné fázi ve velkém nadbytku vůči analytu. Ionty vzniklé z mobilní fáze (tzv. reakční plyn) poté ionizují molekuly analytu, podobně jako u klasické chemické ionizace. Tato technika umožňuje pracovat s průtoky kapalných vzorků až do 2 ml/min a při vyšším vloženém napětí dochází k větší fragmentaci, a tím lze získat spektra s větším zastoupením píků fragmentovaných iontů, než při ionizaci elktrosprejem. Interpretací fragmentačních spekter je možné získat strukturní informace o neznámé sloučenině nebo

potvrdit přítomnost hledané látky. APCI lze použít pro sloučeniny v celém rozsahu polarit, a to od zcela nepolárních až po látky iontového charakteru [25, 26].

4.5 Postup pro GC stanovení organochlorových pesticidů

Stanovení organochlorových pesticidů je založeno na extrakci vzorku vody n-hexanem. Při této analýze je velmi důležitá čistota použitých rozpouštědel. Proto je nutné před analýzou vzorku provést slepý pokus který potvrdí, že použitá rozpouštědla a sorbent neobsahují žádné látky, které by rušily vlastní stanovení. Postup a podmínky stanovení jsou uvedeny v tabulce 1. a tabulce 2.

Tabulka č. 2: Postup pro GC stanovení organochlorových pesticidů [4]

Vzorek vody 1000 ml, pH = 7-8	
Extrakce, 2 × 30 ml n-hexanu	
Odpaření extraktu na 3 ml	
Čištění na sloupci – Florisil,	1. eluce: 50 ml n-hexanu 2. eluce: 50 ml hexan-aceton (98:2) vhodný je i hexan-diethylether (95:5)
Odpaření druhé frakce na objem 1 ml	
GC stanovení, ECD	

Tabulka č. 3: Podmínky pro GC stanovení organochlorových pesticidů [4]

Kolona	Mobilní fáze	Teplota
CP-Sil 8 CB, 0,12 µm, 50 m × 0,25 mm	Vodík 120 kPa	65-225 °C při 35 K.min ⁻¹

5 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce teoretického charakteru se zabývá problematikou výskytu pesticidů ve vodách a jejich stanovením

První část je zaměřena na charakteristiku pesticidů, kde je uvedeno jejich rozdělení, vlastnosti a toxicita. Z uvedených informací vyplývá, že kontaminanty ve vodách budou pro svou velkou rezistenci tvořit hlavně organochlorové pesticidy (dnes je jejich použití značně omezeno nebo zakázáno, ale z důvodu jejich velké perzistence v prostředí jsou stále ještě prokazatelné), dále triazinové pesticidy, relativně stále jsou také fenoxycarboxylové kyseliny a málo stále, ale ještě dobře prokazatelné, jsou karbamáty.

Druhá část práce je věnována vodě. V tomto případě bylo provedeno její rozdělení a podrobněji byla popsána povrchová voda, protože v ní je výskyt pesticidů nejčastější. Důvodem je stále se rozvíjející zemědělství, a s tím souvisí i větší používání pesticidních přípravků, které se pak snadno dostávají do povrchových vod, např. splachem z polí. Do podzemních vod se pesticidy většinou nedostávají z důvodu schopnosti silné sorbce v půdě.

Třetí část je zaměřena na prezentaci jednotlivých analytických metod používaných pro stanovení pesticidů. Pro stanovení pesticidů je nejvhodnější aplikovat multireziduální metody, které umožňují stanovení více analytů najednou. Důvodem zavádění těchto metod je vzrůstající počet registrovaných pesticidů a tudíž i látek, jejichž rezidua se musí sledovat na základě legislativních požadavků. Dalším důvodem je i to, že většinou nemáme dostatečné informace o vzorku (tzn. jaké pesticidy byly použité k ošetření, z jakých zdrojů došlo ke kontaminaci vody, apod.). V první řadě je potřebné izolovat jednu nebo více složek z přírodního materiálu. K izolaci pesticidů slouží různé extrakční metody, jako nejvhodnější se jeví použití mikroextrakce pevnou fází, kde nejsou potřeba téměř žádné rozpouštědla a lze provést přímou desorpci extrahovaných analytů do plynové nebo kapalinové kolony. Pro vlastní identifikaci pesticidů se používají metody plynové nebo kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem nebo selektivním detektorem.

Po zhodnocení uvedených informací lze konstatovat, že spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem se jeví jako nejvhodnější metoda pro stanovení pesticidů, protože umožňuje identifikaci jednotlivých složek směsi nejen na základě retenčních časů, ale i na základě hmotnostních spekter. Metody kapalinové chromatografie se používají tam, kde nelze použít GC (tzn. u termolabilních a málo těkavých pesticidů).

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Pitter, P.: *Hydrochemie*. vyd. Praha: VŠCHT, 1999. 568s. ISBN 80-7080-340-1.
- [2] Kizlink, J.: *Technologie chemických látek*. 3. přeprac. vyd. Brno: VUT, 2005. 282 s. ISBN 80-214-2913-5.
- [3] Nikonorow, M. a kol.: *Pesticídy a toxicita prostředí*. vyd. Bratislava: Příroda, 1983.
- [4] Popl, M., Fahnrich, J.: *Analytická chemie životního prostředí*. 4. přeprac. vyd. Praha: VŠCHT, 1999. 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [5] Vopršálová, M., Žáčková, P.: *Základy toxikologie pro farmaceuty*. vyd. Praha: Karolinum, 2000. 231s. ISBN 80- 7184-282-6.
- [6] Macháček, V., Panchartek, J., Pytela, O.: *Organická chemie, 2. část*. vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2005. 300 s. ISBN 80-7194-763-6.
- [7] Cremllyn, R.: *Pesticidy*. vyd. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1985.
- [8] Eto, M.: *Organophosphorus pesticides: Organic and biological chemistry*. vyd. Ohio: CRC Press, 1974. 192 s.
- [9] Šilar, J.: *Hydrologie v životním prostředí*. vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská, 1996. ISBN 80-7078-361-3.
- [10] *Oběh vody: The water cycle*. [HTML dokument]. poslední úprava 13. 5. 2009 [cit. 10. 2. 2010]. Dostupné z: <http://ga.water.usgs.gov/edu/watercycleczech.html>.
- [11] Dohányos, M., Koller, J., Strnadová, N.: *Čištění odpadních vod*. 2. přeprac. vyd. Praha: VŠCHT, 1998. 177 s. ISBN 80-7080-316-9.
- [12] Hajšlová, J., Kocourek, V., Poustka, J., Cuhra, P.: *Příprava vzorku pro stanovení reziduí pesticidů v potravinách*. [pdf dokument]. Ústav chemie a analýzy potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 1998 [cit. 10. 4. 2010]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1998_10_777-783.pdf.
- [13] Mičková, B., Rauch, P., Fukal, L.: *Možnosti imunochemického stanovení organochlorových a karbamátových pesticidů*. [pdf dokument]. Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2004 [cit. 12. 4. 2010]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_11_02.pdf.
- [14] Nollet, L.: *Handbook of water analysis*. 2. přeprac. vyd. CRC Press, 2007. 769 s. ISBN 0-8493-7033-7.
- [15] Rodrigues, A., Ferreira, V., Cardoso, V., Ferreira, E., Benoliel, M.: *Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, liquid chromatography and tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2007 [cit. 12. 4. 2010]. s 267-278. Dostupné na: www.sciencedirect.com.

- [16] Horáková, M. a kol.: *Analytika vody*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 2007. 335 s. ISBN 978-80-7080-620-6.
- [17] Wolska, L., Wiergowski, M., Galer, K., Górecki, T., Namiesnik, J.: *Sample preparation for GC analysis of selected pesticides in surface water*. Chemosphere, 1999 [cit. 1. 4. 2010]. s 1477-1486. Dostupné na: www.sciencedirect.com.
- [18] Jordan, T., Nichols, D., Kerr, N.: *Selection of SPE cartridge for automated solid-phase extraction of pesticides from water followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. 2009 [cit. 14. 4. 2010]. s 2257-2266. Dostupné na: <http://www.springerlink.com/content/h1gg7306654206t7/>
- [19] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. 2. přeprac. vyd Ostrava: PAVEL KLOUDA, 2003. 132 s. ISNB 80-86369-07-2.
- [20] Lambropoulou, D., Albanis, T.: Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. Journal of biochemical and biophysical methods, 2007 [cit. 14. 4. 2010]. s 195-228. Dostupné na: www.sciencedirect.com.
- [21] Tatarkovičová, V.: Možnosti extrakce a čištění extraktů při analýzách organických polutantů. V *analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999. 348 s. ISBN 80-902432-9-0.
- [22] Churáček, J.: Od Jurečkovy klasické organické analýzy až po moderní instrumentaci současné doby. V *analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999. 348 s. ISBN 80-902432-9-0.
- [23] Volka, K. a kol.: *Analytická chemie II*. vyd. Praha: VŠCHT, 1995. 236 s. ISBN 80-7080-227-8.
- [24] Hajšlová, J., Alterová, K., Křivánková, J., Godula, M.: Aplikace chromatografických metod ve stopové analýze pesticidů. V *analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999. 348 s. ISBN 80-902432-9-0.
- [25] Jandera, P.: Využití kapalinové chromatografie při separaci a identifikaci organických látek. V *analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 1999. 348 s. ISBN 80-902432-9-0.
- [26] Holčapek, M., Jandera, P.: *Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS)*. [pdf dokument]. Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice. 1997 [cit. 14. 4. 2010]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1998_04_278-286.pdf.
- [27] Gervais, G., Brosillon, S., Laplanche, A., Helen, C.: Ultra-pressure liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. Journal of Chromatography A, 2008 [cit. 14. 4. 2010]. s 163-172. Dostupné na: www.sciencedirect.com.
- [28] Žáček, L.: *Hydrochemie*. vyd. Brno: VUTIUM, 1998. 80 s. ISBN 80-214-1167-8.

[29] MELEČKOVÁ, A.: *Problematika stanovení škodlivin v odpadových vodách*, Bakalářská práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 40 s.

[30] El-Shahawi, M. S., Hamza, A., Bashammakh, A. S., Al-Saggaf, W. T.: *An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants*. Talanta, březen 2010 [cit. 28. 4. 2010]. s 1587-1597. Dostupné na: www.sciencedirect.com.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ADI	příjemná denní dávka pro člověka v mg
AED	atomový emisní detektor
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
BSK	biochemická spotřeba kyslíku
CHSK	chemická spotřeba kyslíku
CNS	centrální nervová soustava
DDT	dichlordifenyltrichlorethan
ECD	detektor elektronového zachytu
ESP	ionizace elektrosprejem
FID	plamenový ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
GC-MS	spojení kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem
GCP	gelová permeační chromatografie
HCB	hexachlorbenzen
HPLC	vysoce účinná kapalinové chromatografie
HPLC-MS	spojení vysoce účinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem
LC	kapalinová chromatografie
LD ₅₀	množství látky, po kterém uhynie 50 % testovaných zvířat za 24 hodin po expozici
LLE	extrakce kapalnou fází
LLME	mikroextrakce kapalnou fází
MCPA	4-chlor-2-methylfenoxycetová kyselina
NPD	termoionizační detektor
PB	particle beam
SPE	extrakce pevnou fází
SPME	mikroextrakce pevnou fází
WHO	Světová zdravotnická organizace