

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2022

Mgr. Eliška Tesařová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko - technologická

Mgr. Eliška Tesařová

GC-MS stanovení pesticidů ze vzorků půd

Diplomová práce

2022

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Eliška Tesařová**
Osobní číslo: **C19573**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Analytická chemie**
Téma práce: **GC-MS stanovení pesticidů ze vzorků půd**
Téma práce anglicky: **GC-MS determination of pesticides from soil samples**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši zaměřenou na stanovení pesticidů. Zaměřte se především na stanovení pomocí plynové chromatografie. Pozornost věnujte i využití ultrazvukové extrakce ve spojitosti s analýzou pesticidů.
2. V experimentální části optimalizujte metodu pro jejich stanovení pomocí GC-MS. Zaměřte se na dosažení co nejvyšší citlivosti. Pokuste se vypracovat metodu pracující v režimu MRM. Proveďte optimalizaci ultrazvukové extrakce pro stanovení vybraných pesticidů ze vzorků půd. Vypracovanou metodu ověřte na uměle kontaminovaných a případně i reálných vzorcích.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Aleš Eisner, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Ing. Karel Ventura, CSc. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze 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, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012 Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

.....

Mgr. Eliška Tesařová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce panu Ing. Aleši Eisnerovi, Ph.D. za cenné rady a ochotu v průběhu experimentů a při zpracování mé práce. Závěrem největší dík patří mé rodině za velkou trpělivost, psychickou podporu a pochopení, jak při psaní diplomové práce, tak během celého mého studia.

ANOTACE

Tématem diplomové práce je nalezení optimálních podmínek pro stanovení vybraných pesticidů pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. V experimentální části jsou zoptimalizované podmínky metody použity pro analýzu reálných vzorků.

KLÍČOVÁ SLOVA

Extrakce, hmotnostní spektrometrie, plynová chromatografie, pesticidy, ultrazvuková lázeň

TITLE

GC-MS determination of pesticides from soil samples

ANNOTATION

This thesis deals with finding optimal conditions for the determination pesticides by gas chromatography method in connection with mass spectrometry. Then, the optimized conditions of the method are tested for the analysis of real samples.

KEYWORDS

Extraction, mass spectrometr, mass chromatography, pesticides, ultrasonic bath

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM TABULEK	12
SEZNAM ZKRATEK	13
ÚVOD	15
1 TEORETICKÁ ČÁST	16
1.1 Pesticidy	16
1.1.1 Historie pesticidů	16
1.1.2 Základní vlastnosti pesticidů	18
1.1.3 Klasifikace pesticidů	20
1.1.4 Vliv na ekosystém a zdraví člověka	25
1.2 Charakterizace analytických metod	28
1.2.1 Stanovení pesticidů	28
1.2.2 Plynová chromatografie	29
1.2.3 Hmotnostní spektrometrie	29
1.2.4 Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií	30
1.2.5 Extrakce	31
1.2.6 Ultrazvukem asistovaná extrakce	31
1.2.7 Metody pro stanovení pesticidů v půdě	34
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	47
2.1 Použité chemikálie	47
2.2 Přístroje a vybavení	47
2.2.1 Plynový chromatograf spojený s hmotnostním spektrometrem	47
2.2.2 Analytické váhy	48
2.2.3 Ultrazvuková lázeň	48
2.2.4 Koncentrátor EVATERM	49
2.3 Optimalizované separační podmínky	50

2.4	Analýza v SIM modu	53
2.5	Tvorba MRM metody	54
2.6	Optimalizace extrakce	57
2.7	Reálné vzorky – odběr	59
3	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	61
3.1	Optimalizace extrakčních podmínek.....	61
3.2	Kalibrační závislost.....	63
3.2.1	Ověření vhodnosti navržené metody	66
3.2.2	Uměle kontaminované vzorky	68
3.2.3	Reálné vzorky	70
	ZÁVĚR	83
	POUŽITÁ LITERATURA	85
	SEZNAM PŘÍLOH.....	94
	PŘÍLOHY	98

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Celosvětové použití pesticidů na hektar orné půdy za rok 2020 [7].....	17
Obrázek 2 Pesticidy a jejich rozšíření [19].....	26
Obrázek 3 Ultrazvukový extraktor se sondou ponořenou v roztoku [55]	33
Obrázek 4 Počet publikací zabývajících se extrakcí ultrazvukem v potravinářství [56]	33
Obrázek 5 A, B, C, D Chromatogramy různých půdních vzorků [61].....	37
Obrázek 6 Vliv rozpouštědel pro extrakci [62]	38
Obrázek 7 A-chromatogram roztoku standardní směsi při 0,025 µg/ml, B-chromatogram slepého vzorku půdy [65]	39
Obrázek 8 Vliv různých typů směsných rozpouštědel v extrakčním postupu [67].....	41
Obrázek 9 Chemické struktury analyzovaných pesticidů [75].....	44
Obrázek 10 Plynový chromatograf spojený s hmotnostním spektrometrem (Foto:autor)	48
Obrázek 11 Ultrazvuková lázeň (Foto: autor).....	48
Obrázek 12 Koncentrátor EVATERM (Foto: autor).....	49
Obrázek 13 Chromatogram směsi EPA 8081	51
Obrázek 14 Mapa odběru reálných vzorků	60
Obrázek 15 Závislost extrakčního činidla, Vhodností povrch/vrstevnice 1	61
Obrázek 16 Závislost modelu na změně objemu a času, Vhodností povrch/vrstevnice; Metoda: Spline	62
Obrázek 17 Kalibrační přímka pro TCMX	63
Obrázek 18 Chromatogram vzorku 1	71
Obrázek 19 Chromatogram vzorku 2	72
Obrázek 20 Chromatogram vzorku 3	73
Obrázek 21 Chromatogram vzorku 4	74
Obrázek 22 Chromatogram vzorku 5	75
Obrázek 23 Chromatogram vzorku 6	77

Obrázek 24 Chromatogram vzorku 7	78
Obrázek 25 Chromatogram vzorku 8	79
Obrázek 26 Chromatogram vzorku 9	80
Obrázek 27 Chromatogram vzorku 10	81

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Rozdělení herbicidů [8]	22
Tabulka 2 Rozdělení fungicidů [8]	23
Tabulka 3 Rozdělení insekticidů [8]	24
Tabulka 4 Výsledky LOD a LOQ [58]	34
Tabulka 5 Koncentrace organochlorových pesticidů ve vzorcích půd [79]	46
Tabulka 6 Použité chemikálie	47
Tabulka 7 Použité podmínky pro plynový chromatograf	50
Tabulka 8 Použité podmínky pro hmotnostní spektrometr	50
Tabulka 9 Použitý teplotní program	51
Tabulka 10 Retenční časy látek směsi EPA 8081	52
Tabulka 11 Seznam kvantifikátorů a referenčních iontů	53
Tabulka 12 Seznam vybraných přechodů pro MRM	55
Tabulka 13 Složení směsi pro optimalizaci, návrh simplex centroid + vnitřní body	57
Tabulka 14 Hodnoty pro optimalizaci objemu extrakčního činidla a doby extrakce	58
Tabulka 15 Seznam míst odběru reálných vzorků	59
Tabulka 16 Parametry kalibrační přímky	64
Tabulka 17 Validace metody	65
Tabulka 18 Výtěžnost extrakce při ověření vhodnosti měření 1	66
Tabulka 19 Výtěžnost extrakce uměle kontaminovaných vzorků	69
Tabulka 20 Celkové výsledky vzorků 1-10	82

SEZNAM ZKRATEK

4,4' DDD	Dichlorodifenyl-dichlorethan
4,4' DDE	Dichlorodifenyl-dichlorethylen
4,4' DDT	Dichlorodifenyl-trichlorethan
BCF	Biokoncentrační faktor
α BHC	α Hexachlorcyklohexan
β BHC	β Hexachlorcyklohexan
δ BHC	δ Hexachlorcyklohexan
DCB	Dekachlorbifenyl
DCM	Dichlormethan
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
EU	Evropská unie
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GLC	Chromatografie plyn-kapalina
GSC	Chromatografie plyn-pevná látka
LOD	Limit detekce
LOQ	Limit kvantifikace
MCPA	2-methyl-4-chlorfenoxyoctová kyselina
MRM	Monitorování vybraných reakcí
MS	Hmotnostní spektrometrie
OCP	Organochlorové pesticidy
OP	Organofosfáty
PIS	Scan produktových iontů
QqQ	Trojité kvadrupol
TOF	Analyzátor doby letu

SIM	Režim sledování vybraného iontu
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
TCMX	2,4,5,6 – Tetrachlor- <i>m</i> -xylen
UAE	Ultrazvukem asistovaná extrakce
WHO	Světová zdravotnická organizace

ÚVOD

K zásadnímu pokroku, který se týkal vývoje pesticidů došlo v první polovině minulého století, kdy si lidé začali více uvědomovat hlubší vztah mezi škůdcem a hubícím prostředkem. Pesticidy se začaly využívat k ulehčení práce, především v zemědělství. Pesticidy začaly být v obrovském množství využívány jako látky nebo směsi látek určené k prevenci, ničení, odpuzování nebo snižování škod jakéhokoli živočicha [1].

Pesticidy ovšem mohou mít velmi špatný vliv na lidské zdraví i na životní prostředí. Unikají do vody, vzduchu a půdy, kde se stávají rizikem pro necílové rostliny, volně žijící živočichy, půdní ekosystémy, kvalitu povrchových a podzemních vod i pro biologickou rozmanitost obecně. Proto se také již dlouhodobě usiluje o snížení využívání pesticidů. Avšak i přes snažení mnohých, lze v určitých environmentálních složkách pořád ještě nalézt alarmující množství pesticidů [2].

Téma práce je odrazem rostoucího zájmu souvisejícího s problematikou pesticidů. Hlavním cílem je analýza reálných vzorků půd pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Experimentální část se také z velké části zabývá hledáním optimálních podmínek pro extrakci analyzovaných vzorků, díky kterým dojdeme ke zjištění, do jaké míry je půda zasažena používáním pesticidů.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Pesticidy

1.1.1 Historie pesticidů

Jedna z prvních dochovaných zmínek o používání pesticidních přípravků pochází z období kolem roku 1000 př. n. l.. Tato zmínka se týká používání síry, která sloužila k potírání rostlin kvůli ochraně před škůdci [1].

Na začátku 17. století se v boji proti škůdcům začala používat směs medu a arzenu. O více než století později – na konci 18. století začali zemědělci v USA používat některé chemické látky, jako je například arzeničnan vápenatý. Tyto látky se začaly využívat k hubení škůdců, kteří ničili jejich zemědělství. V tomto století bylo už také zjištěno, že nadměrné používání pesticidů ve vodních ekosystémech vedlo k vážnému ohrožení některých druhů ryb.

K zásadnímu průlomů ve vývoji pesticidů došlo ve 20. století v období kolem druhé světové války a po druhé světové válce, kdy bylo syntetizováno a vyrobeno několik desítek účinných a levných pesticidů [2].

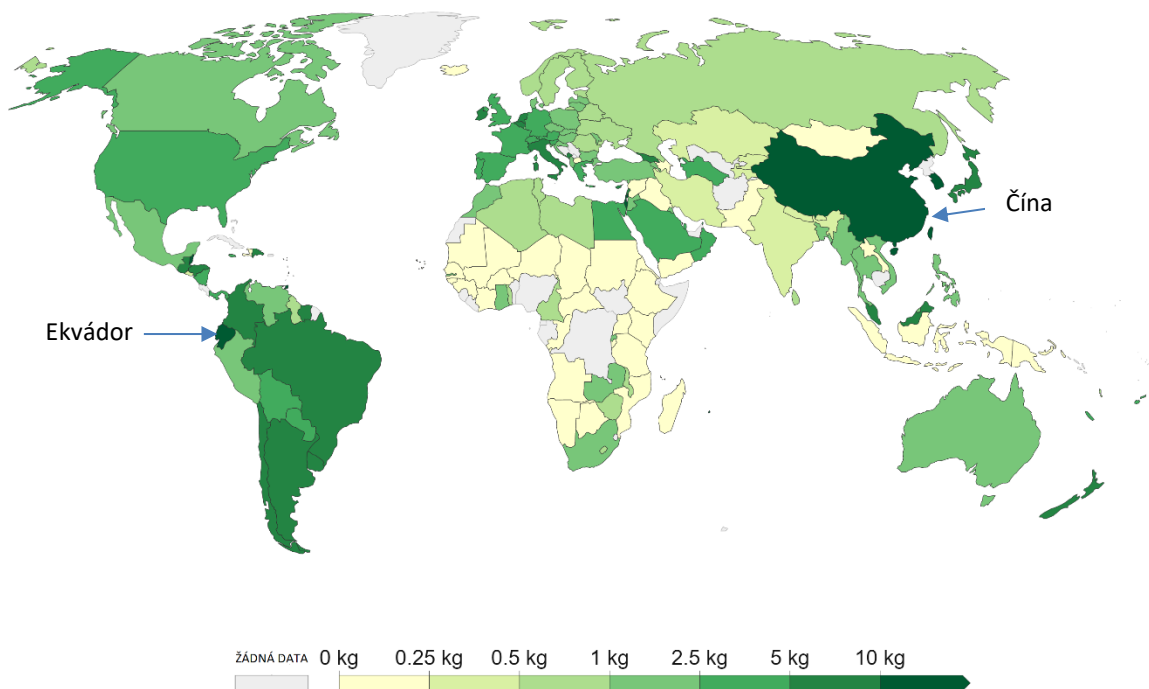
Toto období je poznamenáno objevem Paula H. Müllera, který v roce 1939 definoval silné insekticidní vlastnosti dichlordifenyltrichlorethanu známého pod zkratkou DDT. V té době měly pesticidy dobrou pověst hlavně díky kontrole nemocí jako je malárie, která byla přenášena komáry [3]. V roce 1948 byla udělena Dr. Paulu Müllerovi Nobelova cena za medicínu za jeho objevy týkající se účinků insekticidu DDT [4].

DDT není ovšem spojeno jen s Paulem Müllerem, ale také s biologkou Rachel Carson [5]. Za zmínku stojí pohled do minulosti, kde Rachel Carsonová v šedesátých letech dvacátého století vydala knihu „Tiché jaro“, kde zdůrazňuje toxické účinky DDT na ptactvo. V knize je zdůrazňováno, že při nadměrném používání pesticidů, může dojít k postupnému vymírání jednotlivých ptačích druhů [6].

V současné době kvůli možným toxickým účinkům pesticidů na lidské zdraví a životní prostředí existují na celém světě přísná pravidla pro jejich registraci a používání. Odhaduje se, že kdyby populace přestala využívat pesticidy, tak by v důsledku toho zanikla třetina rostlinné produkce [1].

V dnešní době se začínáme potýkat s velkým problémem, který se týká nejednotnosti používání daných pesticidů napříč celým světem. Mnoho pesticidů, které byly zakázány nebo jsou postupně v EU vyřazovány, jsou naopak stále široce používány v USA. S tímto nastává problém například při distribuci různých druhů potravin mezi kontinenty [7].

Aplikace pesticidů meziročně neustále stoupá. Na obrázku č 1. můžeme vidět celosvětové použití pesticidů na jeden hektar orné půdy za rok 2020. Z obrázku je jasně vidět, že největším spotřebitelem pesticidů je Ekvádor, která ročně spotřebuje 14,03 kg pesticidů na hektar orné půdy. V Evropě je největším spotřebitelem Nizozemsko s 8,8 kg pesticidů na hektar půdy. Na asijském kontinentě se jako největší spotřebitel prezentuje Čína s 13,07 kg pesticidů na hektar půdy [7].



Obrázek 1 Celosvětové použití pesticidů na hektar orné půdy za rok 2020 [7]

1.1.2 Základní vlastnosti pesticidů

Pesticidy lze rozdělit do několika tříd insekticidů, herbicidů, fungicidů, či rodenticidů [3].

Pesticidem je jakákoliv látka nebo směs látek, přírodní nebo syntetická, formulovaná k prevenci, ničení nebo odpuzování jakéhokoliv škůdce. Pojem škůdce zahrnuje hmyz, plevel, savce a mikroby [8].

Aktivní část pesticidu, známá jako aktivní složka je výrobcem obecně formulována jako emulgovatelný koncentrát nebo v pevných částicích (prach, granule, rozpustný prášek nebo smáčitelný prášek) [1].

Výroba, používání a regulace pesticidů zahrnuje velmi obsáhlou škálu oborů včetně syntetické chemie, toxikologie či ekotoxikologie. Dále biotechnologie, správná laboratorní praxe a modelování počítačových simulací jsou také velmi důležité pro toto odvětví [9].

Zvyšující se odolnost vůči všem druhům pesticidů je naléhavým celosvětovým problémem, který ohrožuje lidské zdraví a zemědělství na celém světě s rezistencí zaznamenanou u nejméně 954 druhů škůdců, včetně 546 členovců či 190 rostlinných patogenů. Studie potvrzují širokou a dlouhodobou rezistenci. Tato rezistence je dána geneticky založeným poklesem citlivosti na pesticid [10].

Stále přísnější environmentální požadavky týkající se používání pesticidů znamenají, že musí být neustále posuzována biologická aktivita. Chování půdy je také ovlivněno fyzikálními vlastnostmi molekuly. Mezi tyto vlastnosti řadíme rozdělovací koeficient, disociační konstantu a bod tání. Zavedené korelace chemické struktury a fyzikálních vlastností obecně umožňují odhadnout fyzikální vlastnosti pro velký počet sloučenin v syntetizovaném programu s dostatečnou přesností [11].

Pesticidy vstupují do životního prostředí v různých formách (např. prášky, gely, prášky na přípravu vodných roztoků a koncentráty pro tvorbu emulzí nebo sprejů). Pesticidy mají obrovský význam pro zvyšování výnosů a kvality zemědělských produktů. Nejčastěji jsou používány v těchto případech:

- kontrola počtu škůdců, kteří ničí celé rostliny nebo jejich části
- zvýšení produkce živočišné a rostlinné biomasy

- boj proti mikroorganismům, které způsobují, že zemědělské produkty hnijí a rozkládají se
- boj proti řasám, bakteriím a houbám
- boj proti živočišným škůdcům poškozující plodiny (např. roztoči, mšice, hmyz, larvy a hlístice)
- stimulují nebo inhibují procesy růstu rostlin (např. odstraňují přebytečné květy, ničí listy nebo vysušují rostliny)
- zabíjí škodlivé organismy v hospodářských budovách, domovech, nemocnicích, obchodech a vozidlech [12].

Po uvolnění pesticidů do životního prostředí procházejí složitou řadou nezávislých procesů, které se souhrnně nazývají chemodynamika pesticidů. Proces, kterým pesticid prochází, je v zásadě určen jeho inherentními fyzikálně-chemickými vlastnostmi a částečně parametry prostředí, jako je pH, teplota, vlhkost, srážení, slanost, intenzita světla a topografie [13].

K predikci chování reziduí pesticidů v odlišných biologických systémech se využívá těchto 6 parametrů:

- rozpustnost ve vodě – lehce biodegradovatelné sloučeniny (podléhající oxidačním reakcím, hydrolýze...) bývají dobře rozpustné ve vodě, tyto látky se lehce odstraní z povrchu rostlin pouze omytím
- rozdělovací koeficient oktanol-voda – vyjádření afinity rezidua k tukům
- tlak nasycených par – parametr hodnocení atmosférického transportu reziduí.
- disociační konstanta-stupeň disociace charakterizuje chování pesticidu v daném prostředí, např. determinuje rozsah fotolýzy
- biokoncentrační faktor (BCF) - vyjádření míry přechodu rezidua pesticidu z vodného prostředí a biokoncentraci v organismu
- půdní adsorpční koeficient-vyjádření schopnosti pesticidu vázat se na půdní částice a následná charakterizace míry perzistence rezidua v půdním prostředí [14].

Degradace pesticidů je rozpad nebo chemická přeměna molekul pesticidů na jiné formy, které nejsou ve srovnání s mateřskou molekulou nezbytně jednodušší a méně toxické. V některých případech jsou produkty degradace také toxické a mají také pesticidní účinky. Procesy degradace, které způsobují transformaci pesticidů, lze rozdělit do dvou hlavních skupin chemickou a biologickou. Chemická degradace se obvykle vyskytuje ve vodě nebo v atmosféře a následuje po jedné ze čtyř reakcí (oxidace, redukce, hydrolýza a fotolýza). Biologická degradace se obecně vyskytuje v půdě a v živých organismech a využívá jednu ze čtyř reakcí (oxidaci, redukci, hydrolýzu a konjugaci). Typ reakce, kterou pesticid prochází, je do značné míry určován vlastními fytochemickými vlastnostmi pesticidu a složkou prostředí (voda, půda, vzduch) ve které hostují [13].

1.1.3 Klasifikace pesticidů

Chemická klasifikace pesticidů je poměrně složitá. Obecně platí, že moderní pesticidy jsou organické chemikálie. Patří mezi ně pesticidy syntetického i rostlinného původu. Nicméně, některé anorganické sloučeniny se také používají jako pesticidy [3].

Existuje několik způsobů, jak lze pesticidy dělit. Pesticidy jsou rozděleny do různých tříd v závislosti na potřebách. Pro veřejnost nejrozšířenějším způsobem je dělení podle biologického účinku látky. Mimo to klasifikujeme pesticidy také podle stability, způsobu působení nebo rozsahu účinku [15]. Dále se setkáváme s klasifikací založenou na způsobu vstupu či s klasifikací založenou na chemickém složení pesticidu [3].

Dělení podle biologické účinnosti:

- herbicidy – proti plevelům
- fungicidy – proti houbám a plísním
- zoocidy – proti živočišným škůdcům
 - akaricidy – k hubení roztočů
 - avicidy – k hubení škodlivých ptáků
 - insekticidy – k hubení hmyzu
 - moluskocidy – k hubení měkkýšů
 - nematocidy – k hubení půdních škůdců
 - rodenticidy – k hubení hlodavců [15].

Na základě toxicity pesticidů je světová zdravotnická organizace (WHO) klasifikovala do čtyř tříd:

- extrémně nebezpečné
- vysoce nebezpečné
- středně nebezpečné
- mírně nebezpečné [3].

Nejběžnější metoda klasifikace pesticidů je založena na jejich chemickém složení a povaze účinných látek. Je to takový druh klasifikace, který dává vodítko o účinnosti, fyzikálních a chemických vlastnostech příslušných pesticidů. Informace o chemických a fyzikálních vlastnostech pesticidů jsou velmi užitečné při určování způsobu aplikace.

Na základě chemického složení jsou pesticidy rozděleny do čtyř hlavních skupin:

- organochloridy
- organofosfáty
- karbamáty
- pyrethroidy [3].

1.1.3.1 Herbicidy

Herbicidy jsou nejužívanější skupina pesticidů [16]. Jsou využívány ke kontrole, odstranění nebo ke kompletnímu ničení škůdců [17]. Totální herbicidy mohou zabít veškerou vegetaci, zatímco selektivní herbicidy mohou potlačit plevel bez ovlivnění plodiny.

Selektivita herbicidu může záviset na diferenciální absorpci, translokaci nebo metabolismu rostlin. Znalost fyzikálně-chemických vlastností, tj. tlaku par, rozdělovací koeficient oktanol – voda a rozpustnost ve vodě umožňuje předvídat osud a chování těchto chemických látek v životním prostředí [1].

Herbicidy jsou vysoce selektivní a toxické. Mají škodlivé účinky působící přímo nebo nepřímo (na životní prostředí, povrchovou a podzemní vodu přirozenou flóru a faunu, vodní život, který v konečném důsledku nepříznivě ovlivní lidstvo a hospodářská zvířata) [17]. Vliv herbicidů na fyziologii rostliny se většinou měří jako vliv na metabolické systémy in vivo, např. s kousky listů nebo syntézou bílkovin zapracováním aminokyseliny [18].

Přehled základních skupin herbicidů rozdělených dle místa aplikace lze vidět v tabulce č. 1.

Tabulka 1 Rozdělení herbicidů [8]

HERBICIDY		
MÍSTO APLIKACE	SKUPINA HERBICIDŮ	ZÁSTUPCE SKUPINY
<i>Aplikace do půdy</i>	Acetanilidy	Alachlor, Butachlor, Metolachlor, Propachlor
	Amidy a anilidy	Difenamid, Naptalam, Propanid, Propanil
	Dinitroaniliny	Benefin, Trifluralin
	Karbaniláty a karbamáty	Asulam, Barban, Bendiocarb, Chlorpropham, Propham
	Pyridaznony a pyridinony	Amitrol, Dimethazon, Fluridon, Oxadiazon, Pyrazon
	Sulfonylmočoviny	Amidosulfuron, Chlorsulfuron, Nikosulfuron, Primisulfuronmethyl, Prosulfuron, Rimsulfuron, Sulfosulfuron
	Triaziny	Ametryn, Atrazin, Aesmetryn, Cyanazin, Prometon, Prometryn, Propazin, Simazin, Terbutylazin
	Uracily	Bromacil, Lenacil, Terbacil
<i>Aplikace na list, kontaktní</i>	Benzonitrily	Bromoxynil, Dichlobenil, Ionoxynil
	Benzothiadiazoly	Bentazon
	Cyklohexenony	Cykloxydim, Klethodim, Sethoxydim
	Difenylethery	Acifluorfen, Laktofen, Nitrofen, Oxyfluorfen
	Dinitrofenoly	Dinoseb
<i>Aplikace na list, systémová či translokovaná</i>	Deriváty benzoové kyseliny	Dicamba, Chlorfenpropmethyl, 2,3,6,-TBA
	Estery oxyfenoxykyselin	Cykloxidim, Diclofop-methyl, Haloxyfop-methyl
	Fenoxyalkanové kyseliny	Dichlorprop, Mecoprop, MCPA, MCPB, Silvex
	Fosfonoaminokyseliny	Glufosinát, Glyfosát
	Chlorované alifatické kyseliny	Dalapon
	Kvarterní amoniové sloučeniny	Diquat, Paraquat

1.1.3.2 Fungicidy

Fungicidy jsou biocidní chemické sloučeniny nebo biologické organismy používané k usmrcení parazitických hub nebo jejich spór [19]. Používají se jak v zemědělství, tak v boji proti infekcím způsobených plísněmi u zvířat [20]. Některé fungicidy jsou nebezpečné pro lidské zdraví, např. vinclozolin, který byl pro svou škodlivost plně zakázán [21].

Fungicidy mohou být buď kontaktní, nebo systémové. Kontaktní fungicidy nejsou zachyceny v rostlinné tkáni. Systémové fungicidy jsou zachyceny a přerozděleny přes xylémové cévy rostliny. Jen málo fungicidů se přesune do všech částí rostliny [22].

Přehled základních skupin fungicidů rozdělených dle místa aplikace lze vidět v tabulce č. 2.

Tabulka 2 Rozdělení fungicidů [8]

FUNGICIDY		
MÍSTO APLIKACE	SKUPINA FUNGICIDŮ	ZÁSTUPCE SKUPINY
<i>Kontaktní</i>	Dinitrosloučeniny	Binapikryl
	Dithiokarbamáty	Maneb, Mancozeb, Thiram, Zineb
	Ftalimidy	Dichlofluamid, Folpet, Captan
	Chlorované aromatické sloučeniny	Chlorothalonil, Quintozen, Tecnazen
	Kationaktivní tenzidy	Dodin, Glyodin
	Organortuťnaté sloučeniny	Fenylrtuť
	Antibiotika	Blasticidin, Cyklohexamid, Streptomycin
<i>Systémové</i>	Benzimidazoly	Benomyl, Thiabendazol
	Morfíny	Dodemorf, Tridemorf
	Piperazimy	Triforin
	Pyrimidiny	Bupirimát, Ethirimol

1.1.3.3 Zoocidy

Zoocidy jsou chemické látky pro kontrolu a regulaci živočišných škůdců, zejména obratlovců a hmyzu. Mezi velmi významnou podtřídu zoocidů řadíme insekticidy (přípravky na hubení hmyzu). Přehled základních skupin insekticidů rozdělených dle místa aplikace lze vidět v tabulce č. 3.

Zemědělské plodiny jsou často ohrožovány různými škůdci, což může způsobit vážné škody, které souvisí se snížením produkce plodiny. Proto je důležité pravidelné používání zoocidů, kdy dochází k zahubení škůdce [1].

Insekticidy lze rozdělit do dvou hlavních skupin: systémové insekticidy, které mají zbytkovou nebo dlouhodobou aktivitu a kontaktní insekticidy, které nemají zbytkovou aktivitu [23].

Tabulka 3 Rozdělení insekticidů [8]

INSEKTICIDY		
MÍSTO APLIKACE	SKUPINA ISEKTICIDŮ	ZÁSTUPCE SKUPINY
<i>Kontaktní</i>	Benzoylmočoviny	Diflubenzuron, Flufenoxuron, Teflubenzuron, Triflumuron
	Karbamáty	Fenoxycarb, Carbaryl, Methiocarb, Methomyl
	Organofosforové sloučeniny	Azinfos-methyl, Diazinon, Dichlorvos, Ethion, Etrimfos, Fenitrothion, Chlorfenvinfos, Chlorpyrifos, Malathion, Methidathion, Parathion-ethyl, Parathion-methyl
	Organochlorové sloučeniny	Aldrin, DDT, Dieldrin, Dicofol, Endosulfan, Endrin, Heptachlor, Chlordan, γ BHC, Toxafen
	Syntetické pyrethroidy	Bifenthrin, Bioresmethrin, Cyfluthrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Esfenvalerát, Flucythrínát, Flualinát, Lambdacyhalothrin, Permethrin, Taufluvalinát
<i>Systémové</i>	Karbamáty	Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, Carbofuran,
	Organofosforové sloučeniny	Acefát, Dimethoát, Formothion, Heptenofos, Methamidofos, Mevinfos, Trichlorfon
	Ostatní	Acetamiprid, Buprofezin, Cyromazin, Imidacloprid, Triazamát

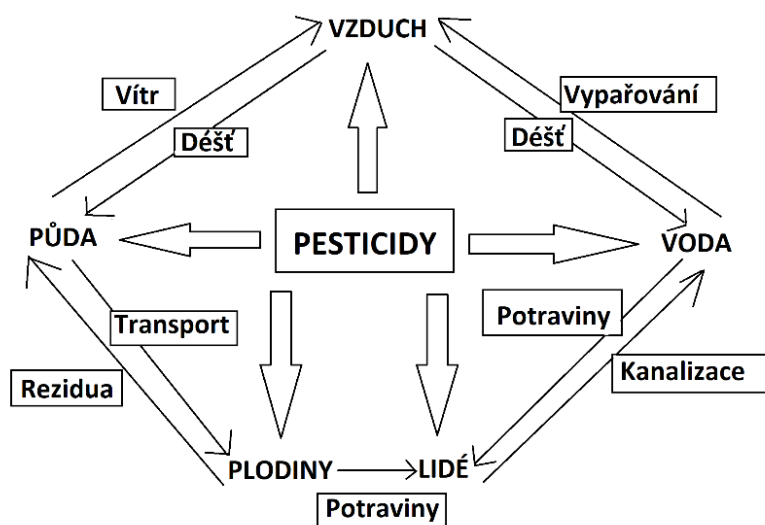
1.1.4 Vliv na ekosystém a zdraví člověka

Úbytek přírodních stanovišť je velmi často důsledkem přeměny přirozeného prostředí na zemědělskou půdu, kde může být následné využívání pesticidů rozsáhlé. Během desítek let se nahromadilo dostatek důkazů o tom, že zemědělské pesticidy mohou být přímo toxické pro volně žijící druhy všech zvířat [24]. Pesticidy mohou snížit kvalitu životního prostředí a ovlivnit základní fungování ekosystému snížením rozmanitosti druhů, úpravou potravinového řetězce či snižováním kvality půdy, vody a ovzduší [25]. Pesticidy jsou problémem udržitelnosti životního prostředí a globální stability [26]. Velká část důkazů podporujících toto zobecnění byla založena na studiích jednotlivých ohrožených druhů. Tyto studie obvykle identifikují více faktorů přispívajících k úpadku druhu [27].

Vzhledem k velkým nákladům na syntetické pesticidy a problémům znečištění životního prostředí způsobeným neustálým používáním těchto chemikálií se znovu objevuje zájem o používání rostlinných látek k ochraně plodin. Zemědělství entomologové či nematologové se nyní aktivně zabývají výzkumem využívání rostlin k boji proti zemědělským škůdcům a chorobám a ke snižování ztrát způsobených těmito rostlinami [28].

Používáním pesticidů získal člověk řadu výhod v zemědělské a průmyslové zóně, ale jejich toxicita u lidí i zvířat byla vždy důvodem k obavám [29]. Mezi nejvíce ohrožené živočišné druhy patří včela medonosná (*Apis mellifera* L.), neboť z 554 vzorků pylu analyzovaných na rezidua pesticidů obsahovalo 62 % alespoň jeden pesticid [30].

Rozšířené používání pesticidů nejen kontaminuje vodu, půdu a vzduch, ale také způsobuje kontaminaci v plodinách, jak je znázorněno na obrázku č. 2. Pesticidy jsou transportovány především deštěm a větrem z míst jejich aplikace do sousedních plodin a půdy, kde jejich přítomnost může být nežádoucí nebo škodlivá. Množství pesticidů v každém konkrétním regionu závisí do značné míry na intenzitě používání pesticidů a na druzích plodin pěstovaných v dané oblasti [19].



Obrázek 2 Pesticidy a jejich rozšíření [19]

Pesticidy zlepšily úroveň lidského zdraví tím, že kontrolovaly nemoci přenášené vektory. Avšak jejich dlouhodobé a bezohledné používání má vážné účinky na zdraví [3]. Lidé, zejména kojenci a děti, jsou velmi zranitelní vůči škodlivým účinkům pesticidů. Podle Světové zdravotnické organizace je každý rok v rozvojových zemích hlášeno asi 3 000 000 případů otravy pesticidy a 220 000 úmrtí [29].

Pesticidy vstupují do lidského těla požitím, inhalací nebo pronikáním do kůže. Většina lidí je nejčastěji postižena příjmem potravin kontaminovaných pesticidy [3]. Vypouštění těchto pesticidů do životního prostředí vede ke znečištění povrchových a podzemních vod a zvyšuje se riziko pro lidské zdraví [31].

Pesticidy jsou hlavním důvodem různých onemocnění, jako jsou poruchy dýchání, rakovina, kožní problémy, narušení endokrinního systému a poruchy reprodukce [29]. Za zmínku stojí příklad, kdy byla zkoumána potenciální role pesticidů v domácnostech, týmem amerických vědců v severní Kalifornii. Studie se týkala vlivu pesticidů na dětská onemocnění. Použití pesticidů proti škůdcům bylo následně spojeno s výrazně zvýšeným rizikem dětské leukémie. Expozice insekticidů na počátku života jsou významnější než pozdější expozice a nejvyšší riziko bylo pozorováno při expozici během těhotenství. Probíhající výzkum zahrnuje lepší posouzení expozice, hodnocení rizika podle věku a zkoumání možných interakcí mezi genetickým a environmentálním prostředím [32]. Studie z roku 2018 zaznamenala pokračující nárůst rakovin v dětské populaci. Tento nárůst je nejvíce diagnostikován ve vyspělých státech,

což naznačuje, že životní styl hraje významnou roli ve vývoji rakoviny. Epidemiologické faktory, které jsou zde spojovány se zvýšeným rizikem rozvoje dětské akutní lymfoblastické leukémie, zahrnují nejvíce pesticidy a poté nadměrnou stimulaci imunitní odpovědi během prvních let života. Lymfoblastická leukémie tvoří 26 % rakovin diagnostikovaných u dětí ve věku 0–14 let což z ní činí jednu z nejrozšířenějších rakovin v dětské populaci [33].

1.2 Charakterizace analytických metod

Moderní analytické metody musí zpracovávat velké množství vzorků, jejichž správná indikace a interpretace jsou klíčovými požadavky ke správnému a přesnému stanovení.

1.2.1 Stanovení pesticidů

V posledních desetiletích bylo vyvinuto mnoho technik pro stanovení pesticidů v životním prostředí a ve vzorcích potravin. Vzhledem k široké škále pesticidů se analýza obvykle provádí plynovou nebo kapalinovou chromatografií spojenou s různými detektory. Nejčastěji používaný detektor je kvadrupólový analyzátor [34]. V poslední době se také objevily alternativní a doplňkové metody využívající kapilární elektroforézu, biosenzory či biologické testy [2]. Pokročilé metody jsou zavedeny jako alternativní způsob pro tradiční chromatografické techniky spolu se selektivními detektory při analýze pesticidů.

Chromatografické techniky poskytnou citlivé, specifické a spolehlivé výsledky analýzy. Nejsou časově náročné a složité, což je činí vhodnými pro screening velkých objemů vzorků [35].

Mezi alternativní metody stanovení řadíme elektrochemické biosenzory zahrnující selektivní interakci mezi cílovou sloučeninou a rozpoznávacím prvkem. Nejčastěji se používají elektrochemické snímače, zejména na bázi enzymu. Elektrochemické enzymatické biosenzory pro stanovení reziduí pesticidů v různých matricích byly vyvinuty na základě různých typů nanomateriálů. Pro monitorování reziduí pesticidů bylo použito několik forem senzorů. To zahrnuje potenciometrické, amperometrické a voltametrické biosenzory [36].

Důležitou roli při stanovení pesticidů hrají také extrakční metody. Nejčastěji používanou metodou extrakce je extrakce tuhou fází (SPE). Provádí se zde adsorpce stanovované látky na pevné sorbenty, takže výběr vhodného sorbentu je velmi důležitý a závisí na interakci mezi sorbentem a samotnou stanovovanou látkou [35]. Hlavním problémem této metody je to, že pro některé specifické izolace nejsou na trhu k dispozici vhodné fáze [37].

1.2.2 Plynová chromatografie

Chromatografie je technika oddělování chemických látek, která se při oddělování složek ve směsi opírá o rozdíly v dělicím chování mezi mobilní fází a stacionární fází [38]. Plynová chromatografie byla uvedena již v roce 1952 a postupem času se stala jednou z nejdůležitějších a široce používaných analytických technik v moderní chemii.

GC je nyní standardní metoda, která je základem pro výzkum, vývoj a kontrolu v mnoha průmyslových odvětvích, zejména petrochemické výrobě a v oblasti životního prostředí či forenzní analýzy [39]. Plynová chromatografie je nejběžnější technikou chromatografie. Metoda je použitelná pro nepochybně a těkavé sloučeniny [35].

Vyskytují se dva základní typy plynové chromatografie: chromatografie plyn-pevná látka (GSC) a chromatografie plyn-kapalina (GLC). V GSC jsou separované látky adsorbovány tuhou stacionární fází. V GLC se separované látky rozdělují mezi kapalnou a plynou fází, a to na základě rozpustnosti a těkavosti. Pokud je roztok vzorku v kontaktu s druhou pevnou nebo kapalnou fází, budou různé rozpuštěné látky interagovat s druhou fází v různé míře kvůli rozdílům v adsorpci, iontové výměně nebo velikosti. Tyto rozdíly umožňují oddělit složky směsi od sebe navzájem pomocí těchto rozdílů k určení doby přechodu rozpuštěných látek přes kolonu [38]. Důležitým faktorem ovlivňujícím výkonnost kolony je její teplota, u většiny směsí je nutné pracovat při vyšší teplotě, neboť správná regulace teploty je vždy důležitá [39].

Plynová chromatografie se také používá k automatickému monitorování průmyslových procesů. Proudění plynu se periodicky analyzuje a provádějí se manuální nebo automatické reakce, aby se zabránilo nežádoucím odchylkám [38].

1.2.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická technika, která se používá k převedení molekul na ionty. Výsledky jsou obvykle prezentovány jako hmotnostní spektrum. Hmotnostní spektrometrie se používá v mnoha různých oborech a aplikuje se na čisté vzorky i na komplexní směsi [40].

Vzorek, který může být pevný, kapalný nebo plynný je ionizován, například bombardováním paprskem elektronů. To způsobí, že se některé molekuly vzorku rozpadnou na kladně nabitě fragmenty nebo se jednoduše stanou kladně nabitými bez fragmentace. Tyto fragmenty jsou dále odděleny dle jejich poměru efektivního náboje.

Hmotnostní spektrum je grafem iontového signálu jako funkce poměru hmotnosti k náboji. Tato spektra se používají k určení elementárního nebo izotopového popisu vzorku, hmotnosti částic a molekul a k objasnění chemické identity nebo struktury molekul a jiných chemických sloučenin [41].

1.2.4 Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Důležitým zdokonalením hmotnostní spektrometrie je její využití v tandemu s chromatografickými a jinými separačními technikami [37].

Analýza začíná plynovým chromatografem, kde se vzorek odpaří do plynné fáze a rozdělí se na různé složky pomocí kapilární kolony [42]. Sloučeniny jsou poháněny nosným plynem. Každá sloučenina se eluuje z kolony v jinou dobu na základě jejího bodu varu a polarit. Jakmile komponenty opustí kolonu GC, jsou ionizovány a fragmentovány hmotnostním spektrometrem za použití zdrojů elektronové nebo chemické ionizace. Ionizované molekuly a fragmenty se poté urychlují hmotnostním analyzátozem přístroje, což je často kvadrupólový hmotnostní analyzátoz nebo iontová past. Zde jsou ionty odděleny na základě jejich různých poměrů hmotnosti k náboji.

Konečné kroky procesu zahrnují detekci a analýzu iontů. Když je komplexní vzorek oddělen, GC-MS bude produkovat mnoho různých píků na plynovém chromatogramu. Každý pík generuje jedinečné hmotnostní spektrum použité pro identifikaci sloučeniny. Pomocí dostupných knihoven a lineárních retenčních indexů lze přesně určit neznámé sloučeniny [43].

GC-MS je metoda vhodná pro rychlou vysoce citlivou analýzu konkrétních sloučenin [42]. Využití GC-MS je mimo jiné využívána při detekci drog či identifikaci výbušnin. Tato metoda také umožňuje identifikaci prvků v materiálech, o nichž se dříve předpokládalo, že se rozpadly bez možnosti identifikace [44].

1.2.5 Extrakce

Techniky extrakce hrají v analytické chemii jedinečnou roli. Ve většině laboratoří jsou tyto desítky let staré extrakční postupy stále běžné [45]. Extrakce je dělicí metoda, u níž dochází k distribuci látky mezi dvě fáze kapalnou a tuhou; plynnou či tuhou nebo mezi dvě kapalně fáze, které jsou nemísitelné [11]. Úkolem extrakce bývá často nejen separace, ale také nakoncentrování analyzované látky [46].

Extrakční postupy typicky spadají do oblasti „přípravy vzorků“. To znamená, že extrakce slouží k izolaci analytů od potenciálně interferujících složek vzorku a zároveň k získání těchto analytů do formy vhodné pro analýzu [45]. Hlavním cílem procesu extrakce je maximalizovat výtěžek cílové sloučeniny bez nebo s minimálním dopadem na vlastnosti cílové sloučeniny při minimalizaci extrakce nežádoucích sloučenin [47].

Voda se považuje za univerzální rozpouštědlo, které se používá k extrakci rostlin s antimikrobiální aktivitou. Změny v extrakčních metodách většinou závisí na délce extrakční periody, použitém rozpouštědle, pH rozpouštědla, teplotě, velikosti částic rostlinných tkání a poměru rozpouštědla ke vzorku [10].

1.2.6 Ultrazvukem asistovaná extrakce

Ultrazvukem asistovaná extrakce (UAE) je jedna z nejběžněji používaných technik. Metoda je považována za jednodušší a efektivnější alternativu ke konvenčním extrakčním metodám [48]. Tento druh extrakce souvisí s rostoucí poptávkou spotřebitelů po ekologičtějších alternativách. V posledních letech přitahuje rostoucí zájem UAE, protože jde o efektivní metodu pro rychlou extrakci řady sloučenin ze vzorků potravin a životního prostředí s účinností extrakce srovnatelnou s klasickými technikami. Zejména v poslední době se při aplikaci této techniky zabývaly při extrakcích přírodních sloučenin a polutantů ze vzorků potravin a životního prostředí [49].

Ultrazvuk se stále častěji používá v potravinářství při zpracování a extrakci. Účinky ultrazvuku vyplývají z kavitačních jevů způsobených prostupem ultrazvukových vln prostředím. Výhody ultrazvuku jsou rozsáhlé, překonávají nedostatky konvenčních technik. Pokud jde o spotřebu rozpouštědel a energie, umožňují kratší dobu ošetření [50].

Ve studii z roku 2003 se věnují problematice související s účinností extrakce derivátů isoflavonu (glycitin, genistin a malonylgenistin). Byla zde porovnávána extrakce mícháním

a extrakce za pomoci ultrazvuku. Účinnost extrakce isoflavonu byla zlepšena ultrazvukem, ale byla závislá na použitém rozpouštědle. Při použití čistých rozpouštědel bývá dosaženo nízké účinnosti extrakce, naopak maximálního extrahovaného množství bývá dosaženo použitím rozpouštědel s 40–60 % vody [51]. Technika ultrazvukem asistovaná extrakce je atraktivní zejména pro svou jednoduchost a nízkou cenu zařízení. Metoda je založena na využití energie pocházející z ultrazvuku (zvukové vlny s frekvencemi nad 20 kHz) k usnadnění extrakce stanovované látky z pevného vzorku rozpouštědlem [52].

Ultrazvukem asistovaná extrakce je často využívána k izolaci bioaktivních sloučenin z rostlinných látek. Tento typ extrakce může probíhat za laboratorní teploty, z čehož plyne šetrnost k termolabilním látkám. Mezi běžně extrahované látky patří terpeny, kapsaicin, kofein či bylinné fytochemické látky [53].

Metoda extrakce je založena na principu akustické nebo ultrazvukové kavitace. Vysoce energetické ultrazvukové vlny procházejí kapalinou vytvářející střídavé vysokotlaké nebo nízkotlaké cykly [54]. Při nízkotlakém cyklu se v kapalině vytvářejí mikrobubliny. Poté, co bubliny dosáhnou objemu, kde nemohou absorbovat další energii, při vysokotlakém cyklu prasknou. Tato bublinová imploze je známá jako již zmíněná kavitace [53].

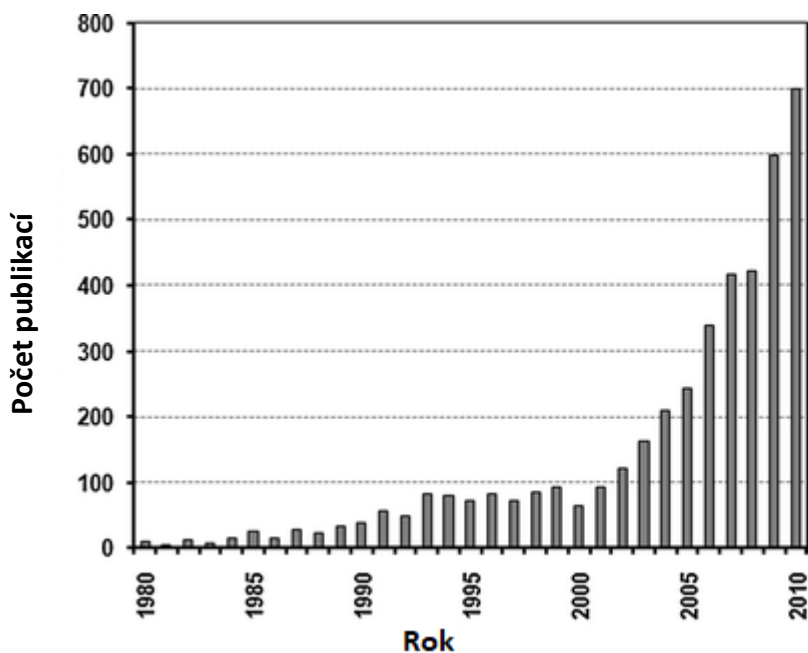
Ultrazvuk lze v analytické chemii použít dvěma způsoby: přímo na vzorek nebo nepřímo přes stěny nádoby se vzorkem pomocí vodní lázně, která je nejdostupnějším a nejlevnějším zdrojem ultrazvukového záření. Konstantní výkon a automatická regulace frekvence zajišťují optimální rozložení ultrazvukové energie. Druhým využitím ultrazvuku je ultrazvuková sonda, která je zobrazena na obrázku č.3. Sonda je ponořena přímo do roztoku a poskytuje ultrazvukový výkon, který je až 100krát vyšší než výkon dodávaný lázní, přičemž doba sonikace je obvykle 5 min nebo kratší. Pro dosažení kavitace však obvykle není nutné používat vysoké amplitudy; jinak by se sonda rychle znehodnotila. Dalším faktorem, který je třeba kontrolovat je teplota. Jak se ultrazvuk dostává do roztoku, dochází k pomalému, ale konstantnímu zvyšování objemu a v určitém okamžiku se fyzikální vlastnosti kapalného prostředí změny tak, že kavitace již není dosaženo [55].



Obrázek 3 Ultrazvukový extraktor se sondou ponořenou v roztoku [55]

Hlavní výhodou je účinnější extrakce, čímž se ušetří energie. Nejvyšší míry extrakce je obvykle dosaženo během několika prvních minut. Pro úspěšnou aplikaci je nutné vzít v úvahu vliv několika proměnných. Hlavními proměnnými jsou frekvence, teplota extrakce a interakce rozpouštědla se vzorkem [55].

V posledních několika letech se ukázalo, že ultrazvuková technologie je cenným nástrojem v potravinářském průmyslu. Počet prací publikovaných mezi lety 2000 až 2010 v souvislosti s tímto tématem exponenciálně vzrostl, jak je možné vidět na obrázku č. 4 [56]. V roce 2020 bylo publikováno již více než 850 prací zabývajících se extrakcí ultrazvukem v potravinářství [57].



Obrázek 4 Počet publikací zabývajících se extrakcí ultrazvukem v potravinářství [56]

1.2.7 Metody pro stanovení pesticidů v půdě

M. E. Aydin a S. Özcan [58] v roce 2005 provedli stanovení organochlorových pesticidů hexachlorcyklohexanu, heptachloru, aldrinu, dieldrinu, 4,4' DDE, 4,4' DDT a metoxychloru. Postup ultrazvukové extrakce byl optimalizován s ohledem na typ rozpouštědla, množství rozpouštědla, dobu extrakce a počet extrakčních kroků. Stanovení pesticidů bylo provedeno plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

Ultrazvuková extrakce byla provedena dvakrát: Při každé extrakci bylo použito 25 ml směsi petroletheru a acetonu v poměru 1:1, čas každé extrakce byl 20 minut.

Pro stanovení byl využíván plynový chromatograf Hewlett Packard 5890 II. Jako nosný plyn bylo zvoleno helium s průtokem 1,23 ml/min. V teplotním programu byla na začátku nastavena teplota 180 °C po dobu 4 minut. Poté byl dodržován teplotní nárůst 10 °C min na závěrečnou teplotu 250 °C, kdy byla teplota udržována 15 minut.

V tabulce č. 4 jsou přiloženy výsledky pro LOD a LOQ, které náleží této studii. Hodnoty LOD se pohybovaly od 1,6 µg/kg do 3,4 µg/kg a výsledky LOQ se pohybovaly od 4,8 µg /kg do 10,3 µg /kg. V závěru studie bylo konstatováno, že stanovené hodnoty jsou v souladu s limity danými pro organochlorové pesticidy a nedošlo k překročení povolených limitů.

Tabulka 4 Výsledky LOD a LOQ [58]

Pesticid	Rozsah kalibrace (ng/µl)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
α BHC	0,1–4,0	3,4	10,2
p BHC	0,1–4,0	2,7	8,1
γ BHC	0,1–4,0	3,4	10,3
B BHC	0,1–4,0	2,5	7,5
Heptachlor	0,1–4,0	3,0	9,0
Aldrin	0,1–4,0	1,6	4,8
Dieldrin	0,1–4,0	1,8	5,4
4,4' DDE	0,1–4,0	2,3	6,9
4,4' DDT	0,1–4,0	2,1	6,3
Metoxychlor	0,1–4,0	2,5	7,5

Získané výsledky studie naznačují, že metoda ultrazvukové extrakce by mohla být využívána ke stanovení organochlorových pesticidů, neboť výtěžnosti pesticidů ze vzorků půdy jsou více než 88 % [58].

Další studie jejíž postup definovali Goncalves a Alpendurada [59] byla určena k extrakci netěkavých a polotěkavých organických sloučenin z pevných látek, jako je půda.

Nejprve bylo naváženo 5 g vzorku půdy smícháno s 5 ml ethylacetátu a poté bylo vše extrahováno v ultrazvukové lázni po dobu 15 min. Výsledný extrakt byl odpařen do sucha pod proudem dusíku bez nutnosti jakéhokoli čištění a znovu rozpuštěn ve 200 μ l ethylacetátu.

Chromatografické analýzy byly provedeny na plynovém chromatografu Agilent 6890 (Palo Alto, CA, USA) propojeného s hmotnostně selektivním detektorem Agilent 5973N. Systém GC–MS byl vybaven kapilární kolonou HP-5MS (30 m \times 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μ m) a jako nosný plyn bylo použito helium při průtoku 1 ml/min.

Kvantifikace byla prováděna v režimu sledování vybraného iontu (SIM) s výběrem charakteristických fragmentových iontů pro každý pesticid.

Výše uvedená metoda byla aplikována v programu monitorování písčitých půd v jižní části Portugalska. Celkem bylo identifikováno 19 sloučenin. Nejčastěji identifikovanými sloučeninami byly alachlor (38 % vzorků), endosulfan (25 %), endosulfansulfát (25 %), atrazin (23 %) a pendimethalin (22 %) [59].

V roce 2017 byla provedena studie, kdy Lozowicka a kol. [60] provedli stanovení 216 pesticidů v půdě za použití techniky GC-MS.

Vzorky půd byly před použitím homogenizovány, prosety a vysušeny na vzduchu při pokojové teplotě. 5 g homogenizovaného vzorku půdy a 10 ml studené čisté vody bylo ručně třepáno po dobu 1 minuty, aby se vzorky hydratovaly. Poté se vše nechalo 10 minut odstát. Extrakt byl odpařen při 40 °C v odparce téměř do sucha. Zbytek byl rozpuštěn ve 2 ml směsi *n*-hexanu: acetonu v poměru 9:1 a přefiltrován do lahvičky autosampleru a následně analyzován pomocí GC-MS.

Analýza byla provedena pomocí systému Agilent 7890A GC (Agilent Technologies, Palo alto, CA, USA), který byl vybaven automatickým vzorkovačem Agilent 7693. Systém GC–MS byl vybaven kapilární kolonou HP-5MS (30 m \times 0,25 mm ID a tloušťka filmu 0,25 μ m). Počáteční teplota byla nastavena na 70 °C a poté zvýšená na 200 °C při 3 °C/min a udržována po dobu 10 min. Jako nosný plyn bylo použito helium při konstantním průtoku 2,1 ml/min.

Tato metodika byla aplikována při rutinní analýze 263 vzorků půd, ve kterých byl nejčastěji detekován 4,4' DDT (23,5 % vzorků) a pendimethalin s nejvyšší koncentrací (1,63 mg/kg). U méně než 50 % vzorků byly překročeny povolené limity pro používání pesticidů [60].

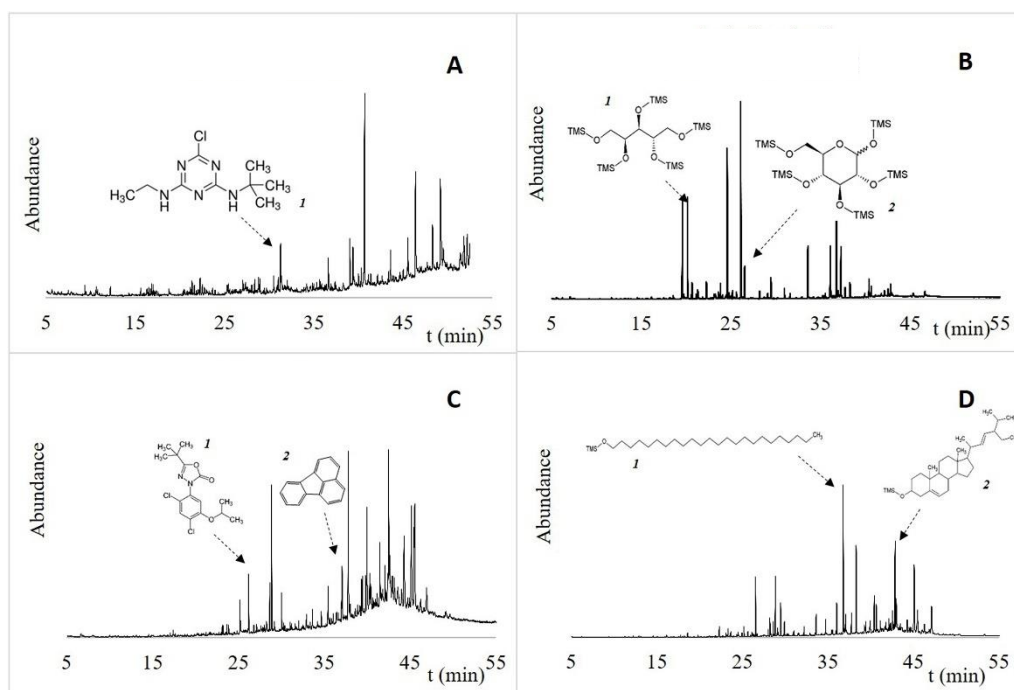
V roce 2020 přišel tým italských vědců se studií, která se týkala stanovení pesticidů v půdě za použití techniky GC-MS. Metoda byla využita při vyšetřování trestných činů. Výsledné analýzy odebraných vzorků půd umožnily přípravu databáze „otisků půd“ a porovnáním byla ověřena shoda mezi vzorky půd odebraných na místě činu a půdami v databázi. Bylo shromážděno a analyzováno 65 vzorků půd z různých míst v severní Itálii.

Vzorek půdy byl smíchán s methanolem v uzavřené skleněné lahvičce a extrahován ultrazvukem po dobu 15 minut. Roztok byl zfiltrován papírovým filtrem a zbytek byl promyt 5 ml dichlormethanu a odpařen do sucha pod proudem dusíku.

Extrakty byly analyzovány pomocí plynového chromatografu Agilent 7890 propojeného s hmotnostním detektorem Agilent MS5975C. Byla použita kapilární kolona HP-5MS (30 m × 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm). Jako nosný plyn bylo použito helium. V teplotním programu u GC-MS byla na začátku nastavena teplota 65 °C po dobu 0,5 minut. Poté byl dodržován teplotní nárůst 15 °C min na závěrečnou teplotu 280 °C, kdy byla teplota udržována 5 minut.

Výsledné analýzy odebraných vzorků půd umožnily přípravu databáze „otisků půd“ a porovnáním byla ověřena shoda mezi vzorky půd odebraných na místě činu a půdami v databázi. Chromatogramy zemědělských půd v této studii obsahovaly největší počty píků. Naopak nejmenších počtů píků bylo možné pozorovat u vzorků půd odebíraných ve městě. Chromatogramy čtyř různých půdních vzorků jsou uvedeny na obrázku č. 5.

Část A u obrázku č. 5 potvrdila přítomnost terbuthylazinu (27,7 min), část B potvrdila přítomnost látek arabitol a glukopyranózy, část C potvrdila přítomnost oxadiazonu (35,6 min) a fluoranthenu (33,0 min), část D potvrdila přítomnost tetradekanolu a β-sitosterolu [61].



Obrázek 5 A, B, C, D Chromatogramy různých půdních vzorků [61]

Sahoo a kolektiv [62] v roce 2000 provedli analýzu zbytků pesticidů pomocí GC-MS v půdě a v rajčatech, které rostly v testované půdě.

Vzorek rajčete o hmotnosti 15 g byl zvážen v 50 ml zkumavce. Bylo přidáno 30 ml ethylacetátu a vše bylo mícháno po dobu 3 min. Pro oddělení fází byl přidán chlorid sodný. Poté byl vzorek přenesen do zkumavky a odpařen téměř do sucha. Proces se dvakrát opakoval pro úplné odpaření zbytků ethylacetátu. Konečný objem byl dosažen přidáním destilovaného hexanu.

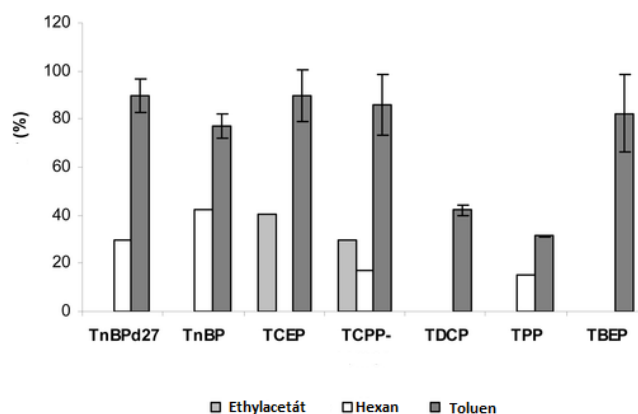
Vzorek půdy byl analyzován podle výše uvedeného postupu s tím rozdílem, že před přidáním ethylacetátu byla přidána voda, aby se získal obsah vlhkosti 80 %.

Kvantifikace byla provedena pomocí GC-MS. Byla použita kapilární kolona DB-1 (30 m × 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm). Jako nosný plyn bylo použito helium s průtokem 1 ml/min. Teplota vstřikovací trysky byla udržována na 260 °C a teploty rozhraní a iontového zdroje byly udržovány na 220 °C a 200 °C, v daném pořadí. Objem nástřiku byl 1 μl. Napětí detektoru bylo udržováno na 0,9 kV v režimu SIM. Výsledkem této studie bylo zjištění, že rajčata obsahovaly poloviční množství pesticidů než půda, ve které vyrostly [62].

V následující studii byla vyvinuta analytická metoda pro stanovení organofosfátových pesticidů v půdě. Metoda kombinovala extrakci s následnou plynovou chromatografií GC-MS.

Za optimálních podmínek bylo 10 g vzorků půd extrahováno pomocí toluenu. Extrakt byl znovu zředěn ve směsi methanol/voda (1:14) a přefiltrován.

Obrázek č. 6 ukazuje, že při optimalizaci parametrů extrakce byly získány výrazně vyšší signály pro toluen než pro ethylacetát a hexan. Z tohoto důvodu byl pro extrakci použit toluen, aby se zlepšila metodika a dosáhlo se lepších výtěžků.



Obrázek 6 Vliv rozpouštědel pro extrakci [62]

System GC 6890N (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) byl vybaven 30 m kapilární kolonou HP-5MS (Agilent Technologies) s vnitřním průměrem 250 μm a tloušťkou filmu 0,25 μm . V teplotním programu u GC-MS byla na začátku nastavena teplota 50 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 2 minut. Poté byl dodržován teplotní nárůst 15 $^{\circ}\text{C}$ min na závěrečnou teplotu 250 $^{\circ}\text{C}$, kdy byla teplota udržována 3 minuty. Jako nosný plyn sloužilo helium.

Metoda byla použita ke kvantifikaci organofosfátových pesticidů v půdě. Vzorky půd byly odebrány z univerzitního kampusu v Osnabrücku (Německo). Průměrné koncentrace ve vzorcích půd se pohybovaly od 1,23 ng/g do 4,96 ng/g. U 10 % zkoumaných vzorků byla překročena hodnota povolených limitů [63].

Portugalská studie z roku 2012 se zabývala problematikou organochlorových pesticidů, používaných na tamních územích. Většina pesticidů jsou perzistentní organické látky, které se vyznačují dlouhými životními cykly v životním prostředí a transportem na velké vzdálenosti. Cílem této studie bylo zjistit přítomnost 13 pesticidů (BHC (α , β , ζ), lindan, aldrin, endosulfan, dieldrin, 4,4' DDE, endrin, β -endosulfan, 4,4' DDD a metoxychlor) v zemědělských půdách.

Organochlorové pesticidy byly analyzovány pomocí systému Shimadzu GC-2010, kde byla použita kapilární kolona ZB-XLB (30 m \times 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm). V teplotním

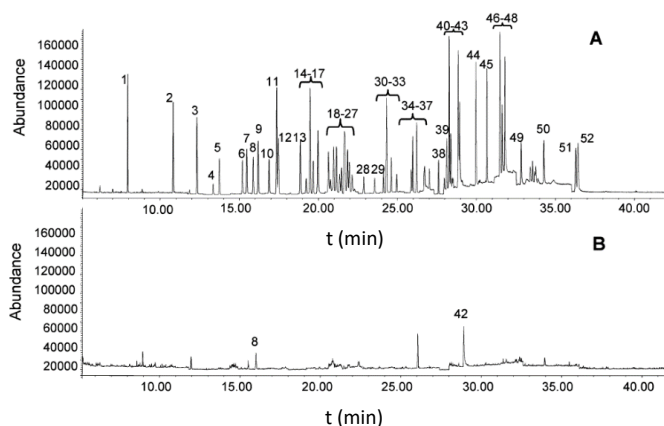
programu u GC-MS byla na začátku nastavena teplota 40 °C po dobu 2 minut. Poté byl dodržován teplotní nárůst 15 °C min na závěrečnou teplotu 270 °C, kdy byla teplota udržována 1 minutu. Jako nosný plyn bylo použito hélium při konstantní průtokové rychlosti 1,3 ml/min.

Z výsledků měření bylo nalezeno pouze jedno reziduum nad mezí kvantifikace, které vykazovalo kontaminaci dieldrinem o koncentraci 45,36 µg/kg. Ostatní studované pesticidy nebyly ve vzorcích detekovány [64].

V roce 2004 Sanchez – Brunete, Albero a Tadeo [65] vyvinuli metodu ke stanovení pesticidů ve vzorcích půd odebraných ve Španělsku z několika půdních ploch využívaných k zemědělství. Analyzováno bylo 16 vzorků z rajčatových polí, 8 vzorků z obilných polí a 18 vzorků z kukuřičných polí.

Půda použitá pro analýzu byla odebrána z orníční vrstvy v hloubce 0-10 cm. Vzorky půd byly prosety a skladovány při pokojové teplotě. Půdní vzorky byly extrahovány 4 ml ethylacetátu po dobu 15 min ve vodní lázni s ultrazvukem při pokojové teplotě bez nutnosti dalšího čištění. Standardní roztok pesticidů (5 µg/ml) byl připraven převedením 1 ml z každého roztoku pesticidu do 100 ml odměrné baňky a zředěním ethylacetátem na objem 5 ml. Roztoky obsahující 5,0, 1,0 a 0,5 µg/ml každého pesticidu byly použity k obohacení půdních vzorků.

Při následné GC-MS analýze byla použita kapilární kolona (ZB-5MS), jako nepolární stacionární fáze (30 m × 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 µm) dodaná společností Phenomenex (Torrance, CA). Celková doba analýzy byla 42 min. Na obrázku č. 7 jsou uvedeny chromatogramy GC-MS analýzy v režimu SIM. V části označené písmenem A je znázorněn chromatogram roztoku standardní směsi při 0,025 µg/ml a chromatogram označený písmenem B znázorňuje slepý vzorek půdy. Píky 8 a 42 jsou vnitřními standardy, ostatní píky odpovídají látkám, které byly v rámci měření detekovány.



Obrázek 7 A-chromatogram roztoku standardní směsi při 0,025 µg/ml, B-chromatogram slepého vzorku půdy [65]

Dobrá reprodukovatelnost a nízké limity detekce a kvantifikace dosažené touto metodou umožnili její použití pro monitorování reziduí pesticidů v půdě. Ve vzorcích půd odebraných k této analýze byly zbytky pesticidů zjištěny pouze u vzorků z rajčatových polí, kde byly nalezeny látky pendimethalin, endosulfan II, endosulfan sulfát a ethalfluralin. Hodnoty koncentrace všech identifikovaných látek byly nižší než stanovené maximální limity pro obsah pesticidů v půdách [65]. V roce 2014 z této studie vyšel kolektiv malajsijských vědců, kteří využili postupu pro analýzu 24 organofosforových, organochlorových, a pyretroidních pesticidů v minerálních a rašelinných půdách.

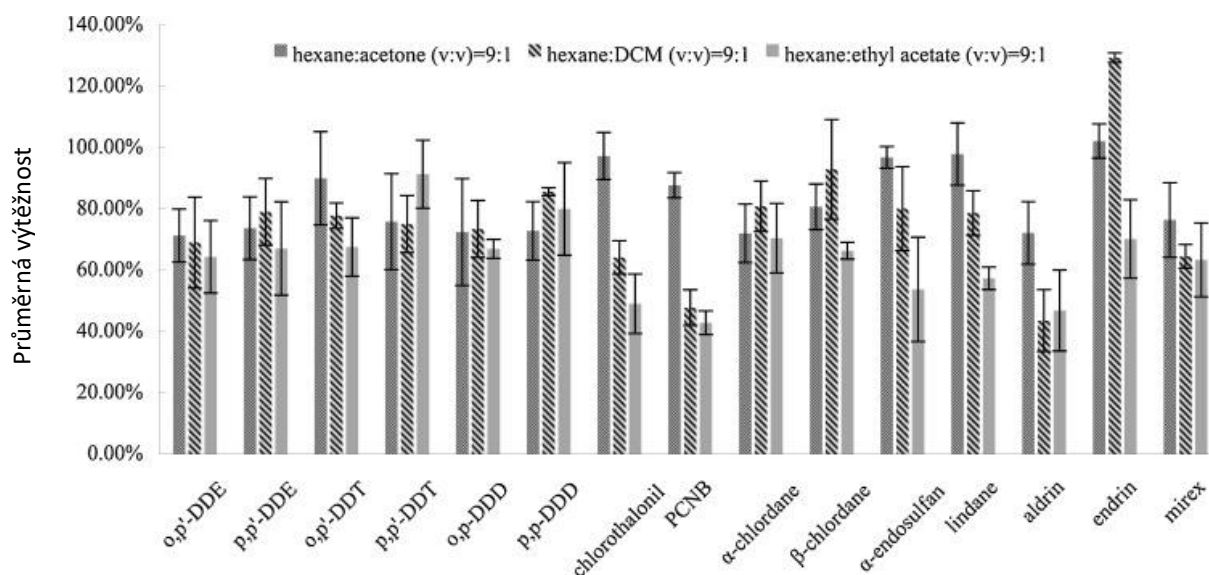
Výtěžnost pro minerální a rašelinové půdy při obohacení 0,01-1,0 mg/kg se pohybovala v rozmezí 79,0-117,6 %. Modifikovaná metoda byla jednoduchá, rychlá a využívala méně činidel než konvenční metody. Metoda byla použita ke stanovení reziduí pesticidů ve vzorcích rašelinové půdy odebraných z farem pěstujících zeleninu. U 10 uvedených vzorků půd překročily látky aldrin a lindan trojnásobně maximální povolené limity pro obsah pesticidů v půdě [66].

Cheng a kol. [67] v roce 2016 provedli studii týkající se stanovení 15 organochlorových pesticidů v půdě, kde byla využita metoda GC-MS. Byl zde použit průletový analyzátor.

Analýza pesticidů byla provedena systémem Agilent 7890A GC spojeným s TOF. Byla použita analytická kolona HP-5MS (30 m × 0,250 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm). Jako nosný plyn zde bylo použito hélium.

Bylo nachystáno 5 g homogenizovaných vzorků půd, které byly přesypány do centrifugační zkumavky a poté byly vzorky nasyceny osmi OCP, ke kterým bylo přidáno 5 ml ultračisté vody. Zkumavky byly ponechány stranou po dobu 30 minut, aby se pesticid rovnoměrně distribuoval. Poté bylo přidáno 10 ml směsi hexanu a acetonu (9:1). Tato směs byla vybrána na základě optimalizace výtěžnosti (obr. č. 8).

Dále byly vzorky 10 min extrahovány v ultrazvukové lázni a následně byl do zkumavek přidán 1 g NaCl. Nakonec byly zkumavky se vzorky protřepávány po dobu 5 minut, poté byly vzorky připraveny k samotné analýze.



Obrázek 8 Vliv různých typů směsných rozpouštědel v extrakčním postupu [67]

Výsledky ukázaly, že u vzorků půd č. 2, 4, 5, 6, 7 byly získány koncentrace 4,4 ' DDE v rozmezí 8,4–14,45 $\mu\text{g}/\text{kg}$. V půdním vzorku byly detekovány látky v následujících koncentracích 4,4 ' DDT (33,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$), α chlordan (6,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$) a β chlordan (10,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Podle norem environmentální kvality pro půdu byla koncentrace 4,4 ' DDE, p 4,4 ' DDD a 4,4 ' DDT nižší než hodnota pozadí půdního prostředí (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Jiné OCP sloučeniny nebyly v těchto vzorcích vody a půdy detekovány. Tato metoda může být do budoucna použita pro kvantitativní stanovení nebo kvalitativní screening cílových analytů. K určení dalších výhod techniky GC-QTOF-MS je třeba prozkoumat další aplikace v oblasti testování životního prostředí a bezpečnosti potravin [67].

Je známo, že pesticidy nebo jejich metabolity se po aplikaci vážou na půdní organickou hmotu a zadržují se v půdě. Toto zadržování pesticidů v půdě se řídí také dalšími faktory, jako je složení organické hmoty, textura půdy a způsob využívání půdy [68]. Pro udržení produkce kvalitních potravin je nezbytné stanovit množství reziduí pesticidů v zemědělské půdě a definovat jejich možné zdroje. Studie od autorů Rafigueho, Tariga a Dildara [69] z roku 2016 se proto zaměřila na stanovení vybraných pesticidů v půdních vzorcích získaných z polí na Blízkém východě pomocí metody analýzy reziduí pesticidů založené na principech GC-MS.

Celkem bylo odebráno 90 půdních vzorků. Tyto vzorky byly odebrány z různých polí z orniční vrstvy pomocí nerezového půdního šneku. Bylo odváženo 10 g vzorku půd a poté bylo přidáno extrakční činidlo, v tomto případě bylo přidáno 10 ml směsi Acetonitril/voda (9:1). Vzorky půd byly poté ponechány v ultrazvukové lázni po dobu 15 min. Konečný extrakt (cca 3 ml) byl odpařen do sucha pod mírným proudem dusíku a rozpuštěn ve 200 μ l ethylacetátu. Extrakční metoda prokázala dobrou účinnost a reprodukovatelnost s průměrnými výtěžky 94-105 %. Chromatografické analýzy byly provedeny v plynovém chromatografu Agilent 6890 propojeném s hmotnostně selektivním detektorem Agilent 5973N. Systém GC-MS byl vybaven kapilární kolonou HP-5MS (30 m \times 0,25 mm ID \times 0,25 μ m tloušťka filmu) a jako nosný plyn bylo použito helium s průtokem 1 ml/min.

Vzorky půd vykazovaly významnou koncentraci všech studovaných pesticidů. Byly zjištěny následující koncentrace: 3-fenoxybenzaldehydu (49–700,3 μ g/kg), fenitotionu (554 μ g/kg), chlorpyrifosu (0,18–1,99 mg/kg), MCPA (0,15 μ g/kg – 1,53 mg/kg), profenofosu (0,41–427 μ g/kg), triazofosu (0,37–474 μ g/kg), bifenthrinu (0,31 μ g/kg), cyhalothrinu (43,7–775 μ g/kg), α cypermetrinu (0,06 μ g/kg), deltametrinu (1,184 mg/kg) a imidaklopridu (7,0 μ g/kg - 1,95 mg/kg). Mezi analyzovanými pesticidy byla zjištěna nejvyšší koncentrace chlorpyrifosu. Hlavním důvodem vysokých hladin chlorpyrifosu může být jeho nadměrná a nepřetržitá aplikace a možná i jeho snížená degradace [69].

Další studie zabývající se přítomností pesticidů v zemědělských půdách je studie z roku 2019 od autorů Andrade-Herrera a kol. [70]. Cílem této studie bylo zjistit přítomnost pesticidů a jejich potenciální toxicitu. Na začátku studie byly provedeny biologické testy biomarkerů u žížal vystavených působení polutantů v odebraných půdních vzorcích. Stejně tak byly stanoveny koncentrace organochlorových a organofosfátových pesticidů ve vzorcích zemědělských půd. V tomto smyslu jsou žížaly přirozeně vystaveny působení půdy, neboť jsou také v přímém kontaktu s pesticidy. Z tohoto důvodu byly žížaly považovány a využívány jako vhodný bioindikátor narušení nebo kontaminace půdy [70, 71, 72].

Bylo odebráno deset půdních vzorků. Poté bylo naváženo 50 g půdních vzorků, které byly po dobu 15 min extrahovány s 30 ml směsi štavelanu sodného a hexametrafosforečnanu sodného. Půdní vzorky byly vysušeny při teplotě 45 °C po dobu 24 hodin a poté byly použity k analýze. Pesticidy byly kvantifikovány pomocí plynového chromatografu vybaveného detektorem elektronového záchytu Ni63 a analytickou kolonou HT8 (30 m \times 0,220 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μ m).

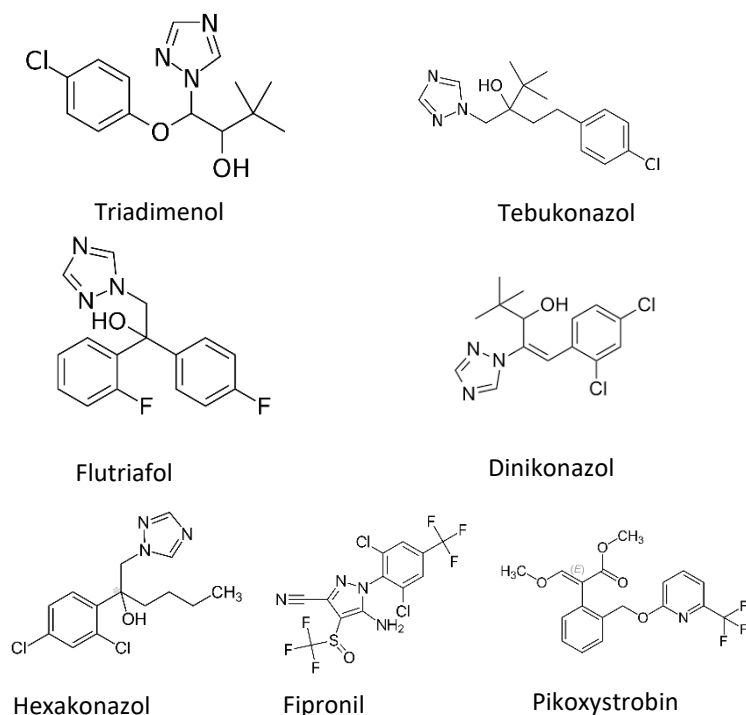
Koncentrace OP nebyly ve všech analyzovaných vzorcích zjištěny. Aldrin byl zjištěn ve všech vzorcích půd, zatímco endrin byl registrován nejméně (pouze ve 3 půdách). Nejvyšší koncentrace pesticidů byly v půdě 2, byly zde zjištěny koncentrace 1,40 µg/kg 4,4' DDD a 1,35 µg/kg u methoxychloru. U půdy s nejnižším počtem OCP byly zjištěny pouze aldrin, epoxid heptachloru, γ chlordan a 4,4' DDT [70]. Je pozoruhodné, že zakázané a omezené OCP byly zjištěny prakticky ve všech analyzovaných vzorcích, i když v nízkých koncentracích. V tomto smyslu byly ve většině vzorků zjištěny nízké koncentrace metabolitů DDT, ačkoli je DDT pesticidem [73].

Studie z roku 2021 si dala za cíl ověření citlivosti extrakční metody pro stanovení nově vznikajících kontaminantů a reziduí pesticidů v zemědělských půdách. Cílem této studie bylo vyvinout rychlou a snadnou extrakční metodu pro stanovení 27 organických kontaminantů ve vzorcích zemědělské půdy. Postup byl založen na extrakci okyseleným acetonitrilem. Pro stanovení a kvantifikaci vybraných cílových analytů byl použit systém GC-MS. Analýza proběhla za pomoci plynového chromatografu Agilent 7890 propojeného s hmotnostním detektorem Agilent MS5975C. Byla použita kapilární kolona HP-5MS (30 m × 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 µm,).

K vzorku půdy 10 g bylo přidáno 5 ml vody a poté byl vzorek extrahován 10 ml acetonitrilu. Vzorek byl třepán po dobu 6 minut při 25 °C. Po odstředění byl roztok odpařen do sucha pod proudem dusíku. Odparek byl poté zředěn 100 µl směsí acetonitril/hexan (9:1), poté následovala samotná analýza.

Všechny studované sloučeniny měly LOQ rovné 0,05 ng/g. Výsledky byly uspokojivé, neboť výtěžnost se pohybovala v rozmezí 78-80 %. Výjimkou zde byly atenolol, azoxystrobin, karbamazepin, diazinon, fluxapyrosad, gemfibrozil a penkonazol, které vykazovaly výtěžnost 20–33 % [74].

V roce 2018 byla vyvinuta nová a spolehlivá metoda stanovení sedmi reziduí pesticidů hexakonazol, flutriafol, triadimenol, tebukonazol, dinikonazol, fipronil a pikoxystrobin (obr. č. 9) v půdních vzorcích pomocí ultrazvukové extrakce v kombinaci s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií. Při tomto postupu byly cílové analyty nejprve extrahovány ze vzorků půd do acetonitrilu a pro zvýšení účinnosti extrakce byla použita technika ultrazvuku.



Obrázek 9 Chemické struktury analyzovaných pesticidů [75]

Chromatografická separace byla provedena systémem GC 6890N (Agilent Technologies, Santa Clara, CA), kde byla využita kapilární kolona HP-5MS (30 m × 0,250 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm).

Do zkumavky o objemu 50 ml bylo naváženo 5,0 g homogenizované půdy a následně přidáno 20 ml acetonitrilu. Zkumavka byla 20 minut extrahována ve vodní lázni za pomoci ultrazvuku. Poté bylo vše odpařeno pod mírným proudem dusíku při 35 °C. Na závěr byly zbytky znovu rozpuštěny v 0,5 ml směsi methanol/voda (7:3).

Výsledky analýzy ukázaly, že tento postup je vhodný pro stanovení reziduí všech sedmi pesticidů v půdních vzorcích. Látky flutriafol, triadimenol, tebukonazol, dinikonazol, fipronil a pikoxystrobin byly zjištěny ve všech půdních vzorcích. U látek flutriafol a triadimenol byly překročeny limity pro organochlorové pesticidy a došlo k překročení povolených limitů o 7-13 % [75].

Další problém, který souvisí s používáním pesticidů je to, do jaké míry ovlivňují pesticidy lidské zdraví, a především zdraví dětí. Výzkumníci se shodují na tom, že značné množství toxických prvků může být přijato při kontaktu dětí s kontaminovanou půdou tím, že si do úst strkají špinavé ruce a hračky [76]. Zdraví kojenců a dětí může být přímo ovlivněno znečištěnou

půdou kvůli vlastní toxicitě a rozšířenému používání různých pesticidů v městském prostředí, zejména v blízkosti dětských hřišť [77].

Vzorky půd byly odebrány ze čtyř veřejných dětských hřišť. Pro stanovení Triazinů, karbamátů, dithiokarbamátů, fenolových herbicidů a organochlorových pesticidů v půdách byla vyvinuta metoda založená na plynové chromatografii a hmotnostní spektrometrii ve spojení s extrakčními technikami. Vzorky půd byly nejprve rozemlety. Poté byly vzorky vysušeny bezvodým síranem sodným. Koncentrované roztoky byly dále ředěny 10 ml směsí hexan:aceton (1:1). Analýza proběhla za pomoci plynového chromatografu Agilent 7890 propojeného s hmotnostním detektorem Agilent MS5975C. Byla použita kapilární kolona HP-5MS (30 m × 0,25 mm ID, tloušťka filmu 0,25 μm). Výťažnost sloučenin se pohybovala v rozmezí 66,8-88 %.

Maximální přípustné koncentrace herbicidů a pesticidů byly vyhodnoceny podle předpisů Agentury pro ochranu životního prostředí (EPA). V půdách na hřišti byly zjištěny triaziny (<0,005 mg/kg), karbamáty (<0,05 mg/kg), dithiokarbamáty (0,5 mg/kg), chlorfenoxxy (<0,1 mg/kg). V půdách na dětských hřištích byly zjištěny organochlorové pesticidy a organocínové sloučeniny, přičemž výsledky nepřekročily maximální přípustné koncentrace podle předpisů EPA [78].

Yaneva a Mladenov [79] se ve studii z roku 2020 snažili objasnit to, že i přes značnou snahu omezit používání pesticidů jsme se stále častěji setkávali s následky rozsáhlého používání organochlorových pesticidů. Pesticidy jsou v přírodě přítomny především ve formě vedlejších produktů, které však často představují větší riziko než použitý primární produkt.

Na obsah OCP a jejich metabolitů bylo v rámci studie testováno osm vzorků půd. Vzorky půd byly odebrány v hloubce 0-10 cm. 10 g půdy bylo naváženo na analytických vahách, bylo přidáno 30 ml směsí hexan/aceton (4:6) a 50 μl standardu obsahujícího 10 μg/ml 4,4' DDT. Vzorky byly 15 minut extrahovány, poté ochlazeny a zfiltrovány.

Stanovení OCP ve vzorcích půd bylo provedeno plynovou chromatografií s následnou identifikací pomocí detektoru s trojitým kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem. Byla použita chromatografická kolona TG-5 sil MS (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 μm) [79].

Výsledky obsahu organochlorových pesticidů ve vzorcích půd jsou uvedeny v tabulce č.5.

Tabulka 5 Koncentrace organochlorových pesticidů ve vzorcích půd [79]

Pesticid (mg/kg)	Vzorek č.							
	1	2	3	4	5	6	7	8
α HCH	0,0025 $\pm 0,0008$	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,00012 $\pm 0,0005$	<LOD
β HCH	0,0013 $\pm 0,0004$	<LOD	<LOD	0,0091 $\pm 0,0027$	0,0086 $\pm 0,0033$	0,0023 $\pm 0,0007$	<LOD	0,0018 $\pm 0,0008$
μ HCH	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
2,4' DDD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
4,4' DDD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
2,4' DDT	0,0013 $\pm 0,0005$	<LOD	0,0044 $\pm 0,0017$	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
4,4' DDT	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
1,4' DDE	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
4,4' DDE	<LOD	0,0047 $\pm 0,0017$	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BHC	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

*LOD-Koncentrace pod mezí detekce

V této souvislosti byla vydána evropská směrnice 2009/128/ES s cílem posílit kontrolu používání pesticidů v EU [80]. Výsledky získané pro ostatní OCP dostupné ve vzorcích půd ukázaly, že zjištěné hodnoty jsou pod hodnotou maximální přípustné koncentrace, kterou zavádí nařízení EU [81]. Ve všech analyzovaných vzorcích půd byla zjištěna přítomnost alespoň jednoho z analyzovaných pesticidů, Ve vzorcích půd nebyla zjištěna přítomnost γ hexachlorcyklohexanu; a 4,4' DDD, 4,4' DDT, 4,4' DDE a hexachlorbenzenu.

Z předložených výsledků vyplývá, že ačkoli byly tyto látky v některých vzorcích nalezeny, jejich koncentrace byly nižší než přípustné limity [79].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie

K optimalizaci podmínek metody a následnému vytvoření kalibrační řady byly použity tyto chemikálie a rozpouštědla:

Tabulka 6 Použité chemikálie

LÁTKA	DODAVATEL
n-hexan	Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)
Aceton; čistota 100 %	VWR BDH Chemicals (Stříbrná Skalice, Česká republika)
Methanol; čistota 99,9 %	Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)
Toluen; čistota 99, 5 %	Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)
Standardní směs EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml	Sigma-Aldrich, (Steinheim, Německo)

Standardní směs EPA 8081 obsahuje 22 látek (1-2,4,5,6-Tetrachlor-m-xylen,; 2- α BHC; 3- β BHC; 4- Lindan; 5- δ BHC; 6-Heptachlor; 7- Aldrin; 8- Heptachlorepoxid; 9- γ Chlordan; 10- Endosulfan I; 11- α Chlordan; 12-4,4' DDE; 13- Dieldrin; 14- Endrin; 15- Endosulfan II; 16- 4,4' DDD; 17- Endrin aldehyd; 18- Endosulfan sulfát; 19-4,4' DDT; 20- Endrin keton; 21- Metoxychlor; 22- Dekachlorbifenyl).

2.2 Přístroje a vybavení

2.2.1 Plynový chromatograf spojený s hmotnostním spektrometrem

Pro analýzu a stanovení pesticidů byl využíván plynový chromatograf GC-2010 spojený s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ 8030 od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Jako hmotnostní analyzátor je zde použit trojitý kvadrupól. Nosným plynem je zde Helium 4.9 Linde (Praha, ČR). Další součástí přístroje je kapilární kolona značky RTx-TNT (Restec, USA) o délce 15 m, tloušťce filmu 0,20 µm a průměru 0,18 mm. K dávkování roztoků je využíváno automatického dávkovače AOC-5000 Shimadzu (Kyoto, Japonsko).



Obrázek 10 Plynový chromatograf spojený s hmotnostním spektrometrem (Foto:autor)

2.2.2 Analytické váhy

K vážení veškerých chemikálií, vzorků půd byly používány analytické váhy HR-120-EC: A&D instruments LTD (Tokyo, Japonsko). Tyto váhy váží s přesností na desetiny mg.

2.2.3 Ultrazvuková lázeň

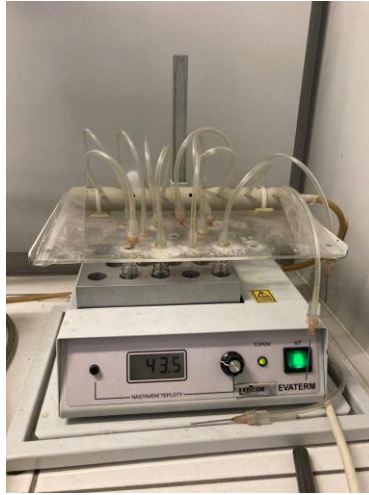
K extrakcím byla využívána ultrazvuková lázeň značky Sonorex společnosti Bandelin (Bandelin, Německo), která je zobrazena na obrázku č. 11.



Obrázek 11 Ultrazvuková lázeň (Foto: autor)

2.2.4 Koncentrátor EVATERM

Pro odpařování roztoků dusíkem byl využíván koncentrátor značky Labicom s.r.o EVATERM (Olomouc, Česká republika), který je zobrazen na obrázku č. 12.



Obrázek 12 Koncentrátor EVATERM (Foto: autor)

2.3 Optimalizované separační podmínky

Na úplném začátku bylo nutné optimalizovat potřebné pracovní podmínky separace. Pro tento účel byl použit standardní roztok směsi EPA 8081. Tento roztok byl proměřován za pomoci GC-MS v režimu SCAN. Byly zde hledány optimální podmínky, při kterých docházelo k separaci s potřebným rozlišením v co nejlepším čase. Nalezené optimální podmínky spolu s použitým teplotním programem jsou zaznamenány v následujících 3 tabulkách č. 7, 8 a 9.

Tabulka 7 Použité podmínky pro plynový chromatograf

GC parametry	
Teplota nástřiku	250 °C
Mód kontroly průtoku	lineární rychlost
Lineární rychlost	30 cm/s
Celkový průtok	8,5 ml/s
Dělicí poměr	1:10
Dávkovaný objem	1 µl
Způsob nástřiku	split

Tabulka 8 Použité podmínky pro hmotnostní spektrometr

MS parametry	
Teplota iontové zdroje	200 °C
Teplota převodníku	200 °C
Doba měření	10 min - 21 min
Hodnoty měřených hodnot m/z	45-500

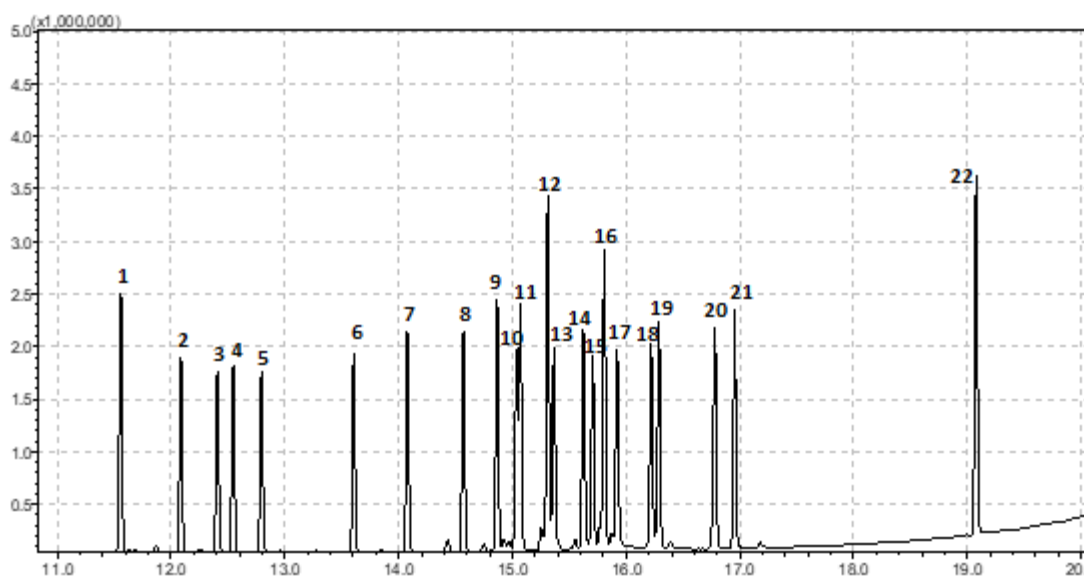
Tabulka 9 Použitý teplotní program

Teplotní program		
Teplotní nárůst [°C/ min]	Konečná teplota [°C]	Doba konstantní teploty [min]
-	40,0	2,0
15,0	325,0	5,0

Díky nalezeným optimálním podmínkám byl získán chromatogram odpovídající směsi EPA 8081 (viz. obr. 14). Všechny látky byly porovnávány s knihovnou hmotnostních spekter (Wiley 229 a Nist 11).

V příloze č. 1-22, na stranách 98-105 jsou přiložena hmotnostní spektra látek této standardní směsi.

Jednotlivé píky odpovídají retenčním časům látek, které jsou zaznamenány v tabulce č. 10.



Obrázek 13 Chromatogram směsi EPA 8081 (1-2,4,5,6-Tetrachlor-m-xylen.; 2- α BHC; 3- β BHC; 4- Lindan; 5- δ BHC; 6-Heptachlor; 7- Aldrin; 8- Heptachlorepoxid; 9- γ Chlordan; 10- Endosulfan I; 11- α Chlordan; 12-4,4' DDE; 13- Dieldrin; 14- Endrin; 15- Endosulfan II; 16-4,4' DDD; 17- Endrin aldehyd; 18- Endosulfan sulfát; 19- 4,4' DDT; 20- Endrin keton; 21- Metoxychlor; 22- Dekachlorbifenyl)

Tabulka 10 Retenční časy látek směsi EPA 8081

Látka	Retenční čas [min]
2,4,5,6-Tetrachlor- <i>m</i> -xylen	11,569
α BHC	12,088
β BHC	12,415
Lindan	12,551
δ BHC	12,792
Heptachlor	13,606
Aldrin	14,079
Heptachloreoxid	14,570
γ Chlordan	14,868
Endosulfan I	14,950
α Chlordan	15,074
4,4' DDE	15,324
Dieldrin	15,370
Endrin	15,630
Endosulfan II	15,714
4,4' DDD	15,824
Endrin aldehyd	15,930
Endosulfan sulfát	16,231
4,4' DDT	16,296
Endrin keton	16,787
Metoxychlor	16,963
Dekachlorbifenyl	19,083

2.4 Analýza v SIM modu

Poté, co se dosáhlo vhodné separace daných látek v režimu SCAN, byly využity vhodné kvantifikátory a referenční ionty, které jsou potřebné pro měření v SIM režimu. Selektivní monitorování iontů (SIM) je mnohem citlivější.

To vše je způsobeno propouštěním předem určeného iontu o dané efektivní hmotnosti přes trojitý kvadrupól. Při měření v tomto režimu byl použit roztok standardní směsi EPA 8081 a hexanu v objemovém poměru 1:1.

V tabulce č. 11 jsou uvedeny příslušné ionty.

Tabulka 11 Seznam kvantifikátorů a referenčních iontů

Látka	Kvantifikátor [m/z]	Ref. Iont 1 [m/z]	Ref. Iont 2 [m/z]
2,4,5,6-Tetrachlor- <i>m</i> -xylen	207	244	209
α BHC	181	219	183
β BHC	181	219	183
Lindan	181	219	183
δ BHC	181	219	183
Heptachlor	100	272	236
Aldrin	66	263	190
Heptachloreoxid	353	263	281
γ Chlordan	373	237	265
Endosulfan I	159	195	125
α Chlordan	373	237	265
4,4' DDE	246	318	248
Dieldrin	79	263	51

Látka	Kvantifikátor [m/z]	Ref. Iont 1 [m/z]	Ref. Iont 2 [m/z]
Endrin	81	263	190
Endosulfan II	159	195	125
4,4' DDD	235	165	199
Endrin aldehyd	67	345	209
Endosulfan sulfát	272	229	159
4,4' DDT	235	165	199
Endrin keton	67	317	281
Metoxychlor	227	212	141
Dekachlorbifenyl	498	428	357

2.5 Tvorba MRM metody

Po získání SIM chromatogramu byla vytvořena metoda v režimu skenování produktových iontů (PIS), kde je využíván trojitý kvadrupól, zde máme vstupní iont, který projde prvním kvadrupólem. Ve druhém kvadrupólu nastává rozpad propuštěného iontu, neboť dojde ke střetu s nabitými molekulami kolizního plynu, v tomto případě se jedná o argon. Druhý kvadrupól je nastaven na danou hodnotu kolizní energie. V posledním kvadrupólu probíhá analýza produktů daného iontu.

V režimu PIS byla směs změřena při různých kolizních energiích. Pro tento účel bylo nastaveno 12 různých kolizních energií v rozmezí hodnot 5 až 60 V. Takto získané podmínky byly využity pro získání dat k vytvoření vhodné metody měřící v režimu MRM (Multiple reaction monitoring). Tyto záznamy byly poté vyhodnoceny programem MRM/SIM Optimization Tool, který má za úkol navrhnout ty přechody vstupních iontů, kdy produkované ionty poskytovaly ty nejintenzivnější hodnoty.

V tabulce č. 12 jsou uvedeny vybrané přechody jednotlivých látek.

Grafické znázornění těchto přechodů a vhodných energií pro danou MRM metodu je přiloženo v přílohách č. 23-44.

Tabulka 12 Seznam vybraných přechodů pro MRM

Látka	Vybrané přechody	Kolizní energie [V]
2,4,5,6-Tetrachlor- <i>m</i> -xylen	207 → 136	20
	244 → 209	15
	207 → 172	15
α BHC	181 → 145	15
	219 → 182	10
	181 → 109	25
β BHC	181 → 145	15
	219 → 182	10
	181 → 109	25
Lindan	181 → 145	15
	219 → 182	10
	181 → 109	25
δ BHC	181 → 145	15
	219 → 182	10
	181 → 109	25
Heptachlor	100 → 65	15
	272 → 236	20
	272 → 234	20
Aldrin	263 → 192	30
	263 → 190	30
	263 → 227	20
Heptachlorepoxyd	353 → 262	20
	353 → 282	20
	353 → 22	25
γ Chlordan	373 → 265	25
	373 → 265	30
	373 → 264	25
Endosulfan I	195 → 125	25
	195 → 125	25
	195 → 160	10

Látka	Vybrané přechody	Kolizní energie [V]
α Chlordan	373 → 265	25
	373 → 265	30
	373 → 264	30
4,4' DDE	246 → 176	25
	318 → 248	25
	318 → 246	25
Dieldrin	79 → 77	15
	79 → 51	25
	263 → 193	30
Endrin	263 → 192	30
	263 → 190	35
	81 → 53	15
Endosulfan II	195 → 125	25
	195 → 125	25
	195 → 159	10
4,4' DDD	235 → 165	25
	235 → 199	20
	235 → 163	45
Endrin aldehyd	67 → 65	10
	345 → 209	35
	245 → 245	20
Endosulfan sulfát	272 → 236	20
	229 → 159	30
	229 → 157	30
4,4' DDT	235 → 165	25
	235 → 199	20
	165 → 163	30
Endrin keton	317 → 101	20
	317 → 281	10
	317 → 245	20
Metoxychlor	227 → 169	25
	227 → 141	30
	227 → 212	15
Dekachlorbifenyl	498 → 428	35
	428 → 357	35
	428 → 355	35

2.6 Optimalizace extrakce

Před samotnou analýzou reálných vzorků bylo potřeba stanovit optimální podmínky pro jejich extrakci za pomoci ultrazvuku. Pro tyto účely bylo nejprve potřeba vybrat vhodná rozpouštědla a následně byl vybrán jejich správný poměr. V těchto experimentech byl porovnáván aceton, hexan a toluen, viz. tabulka č. 13.

Byla sestavena tabulka kombinující objemy rozpouštědel. Poté proběhla extrakce za daných podmínek a získaná data byla statisticky vyhodnocena. Vyhodnocení probíhalo za pomoci programu Statistica 12 (firma StatSoft, Praha, ČR), kdy byl vybrán nejvhodnější poměr rozpouštědel.

Tabulka 13 Složení směsi pro optimalizaci, návrh simplex centroid + vnitřní body

Pokus	Složení extrakční směsi		
	Aceton [%]	Hexan [%]	Toluen [%]
1	100,00	0,00	0,00
2	0,00	100,00	0,00
5	50,00	0,00	50,00
8	66,66	16,66	16,66
3	0,00	0,00	100,00
10	16,66	16,66	66,66
7	33,33	33,33	33,33
9	16,66	66,66	16,66
4	50,00	50,00	0,00
6	0,00	50,00	50,00

Dále bylo potřeba zvolit optimální čas vzorků v ultrazvukové lázni a objem extrakčního činidla. Pro tyto účely byly opět v programu Statistica 12 vygenerovány hodnoty, které jsou uvedeny v tabulce č. 14. Tabulka nabízela několik možných variant. Všechny tyto možnosti byly proměřeny a následně byla vybrána nejefektivnější varianta.

Tabulka 14 Hodnoty pro optimalizaci objemu extrakčního činidla a doby extrakce

Pokus	2 ² (2) centr. Kompozitní + 2 center na blok		
	Blok	Doba [min]	Objem [ml]
6 (C)	1	30,00	20,00
9	2	51,21	20,00
5 (C)	1	30,00	20,00
13 (C)	2	30,00	20,00
10	2	30,00	5,85
11	2	30,00	34,14
14 (C)	2	30,00	20,00
12 (C)	2	30,00	20,00
8	2	8,78	20,00
3	1	45,00	10,00
1	1	15,00	10,00
2	1	15,00	30,00
7 (C)	1	30,00	20,00
4	1	45,00	30,00

Po extrakci bylo potřeba provést filtraci vzorku. Přefiltrovaný vzorek bylo potřeba odpařit do sucha pod proudem dusíku. K tomuto účelu posloužil koncentrátor EVATERM (Labicom s.r.o., Olomouc, ČR). Během odpařování byl vzorek zahříván na teplotu 43°C. Suchý odparek byl rozpouštěn ve 150 µl hexanu. Takto připravené roztoky byly připraveny k následné analýze. Výsledky těchto měření jsou dále diskutovány v kapitole 3.1 na straně 61.

2.7 Reálné vzorky – odběr

Pro potřeby diplomové práce bylo odebráno 10 reálných vzorků půd, které byly následně podrobeny analýzám vedoucím ke stanovení obsahu pesticidů v půdách.

Půdní vzorky byly odebrány lopatkou, poté byly ponechány v suchém prostředí, aby mohly vzorky vyschnout. Bylo odebráno 50 g každého půdního vzorku. Vzorky půd byly poté prosety (6 mm) a skladovány při pokojové teplotě až do doby analýzy.

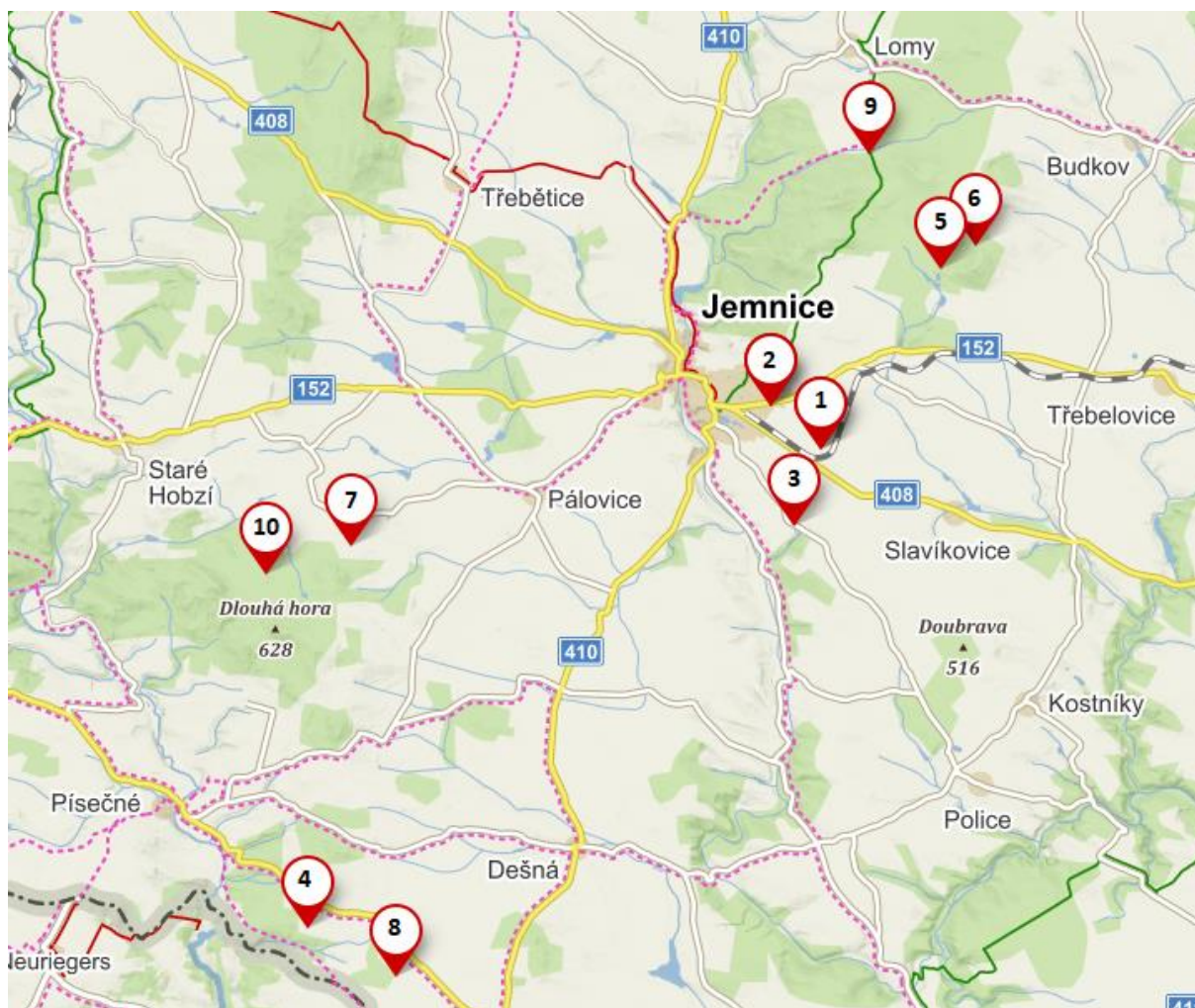
Pro potřeby extrakce a následné analýzy byl vždy navážen pouze 1 g reálného vzorku.

V tabulce č. 15 jsou zaznamenány lokality odkud byly reálné vzorky odebrány.

Tabulka 15 Seznam míst odběru reálných vzorků

Vzorky	Lokalita	GPS souřadnice
1	Pole v obci Jemnice	49,0112403N 15,5959117E
2	Zahrada v obci Jemnice	49,0172564N 15,5858694E
3	Lesní struha u obce Lhotice	49,0356706N 15,6208828E
4	Lesní plocha u obce Písečné	48,9465583N 15,4903881E
5	Pole u obce Budkov	49,0009472N 15,5904344E
6	Lesní plocha u obce Budkov	49,0386739N 15,6278781E
7	Pole u obce Panenská	48,9981597N 15,4992394E
8	Lesní struha u obce Písečné	48,9401881N 15,5085733E
9	Lesní cesta u rybníka Záděra	49,0511811N 15,6061528E
10	Lesní plocha u obce Panenská	48,9944469N 15,4817842E

Pro větší přehlednost je na obrázku č. 14 přiložena mapa, do které jsou zaznamenány místa, ze kterých byla půda odebrána. Vzorky byly odebrány v okolí 20 km od města Jemnice (okres Třebíč). Vzorky byly odebírány na polích, lesních struhách, lesních plochách a zahradě.



Obrázek 14 Mapa odběru reálných vzorků

Jednotlivé vzorky byly podrobeny nejdříve extrakci. Zde byla jako rozpouštědlo použita směs Hexan: Toluén (v poměru 60: 40). Směs byla zfiltrována přes filtrační papír. Poté byl obsah extraktu odpařen pod proudem dusíku a poté byl odparek převeden na objem 150 μ l.

Výsledky analýz reálných vzorků jsou diskutovány v kapitole 3.2.3 na straně 70.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

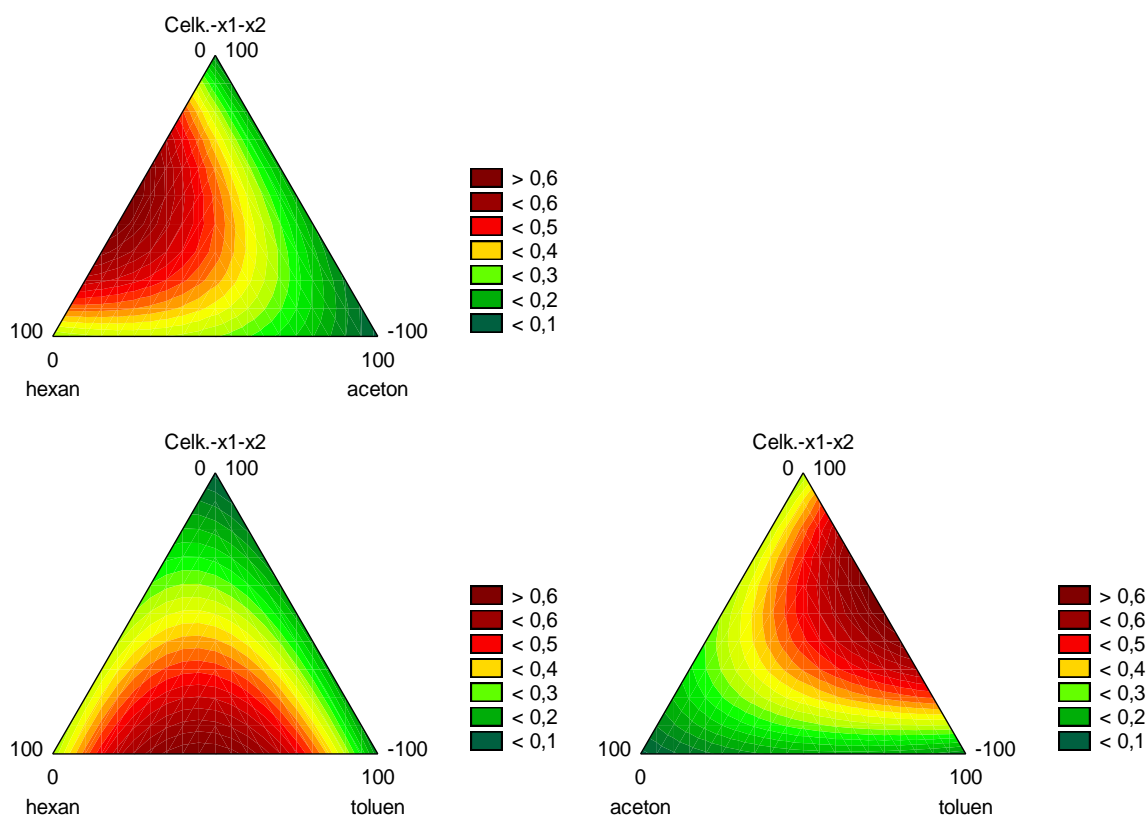
3.1 Optimalizace extrakčních podmínek

Data pro získání optimálních podmínek k extrakci vzorků byla zpracována v programu Statistica 12. V tomto programu byl využit centrální kompozitní program. Pro účely tohoto programu byly využity plochy píků z předešlých měření.

Výběr extrakčního rozpouštědla je klíčovým krokem ovlivňujícím účinnost extrakce půdních vzorků. Extrakční rozpouštědlo by mělo mít správnou polaritu odpovídající analytům a mělo by být schopno účinně extrahovat pesticidy z půdních vzorků [78].

Optimální podmínky pro extrakci byly určeny na základě výsledků statistického programu a to tak, že nejvhodnější kombinací extrakčních činidel jsou hexan a toluen, a to v poměru 60:40. Kritériem pro stanovení optimálních podmínek byla suma ploch jednotlivých látek.

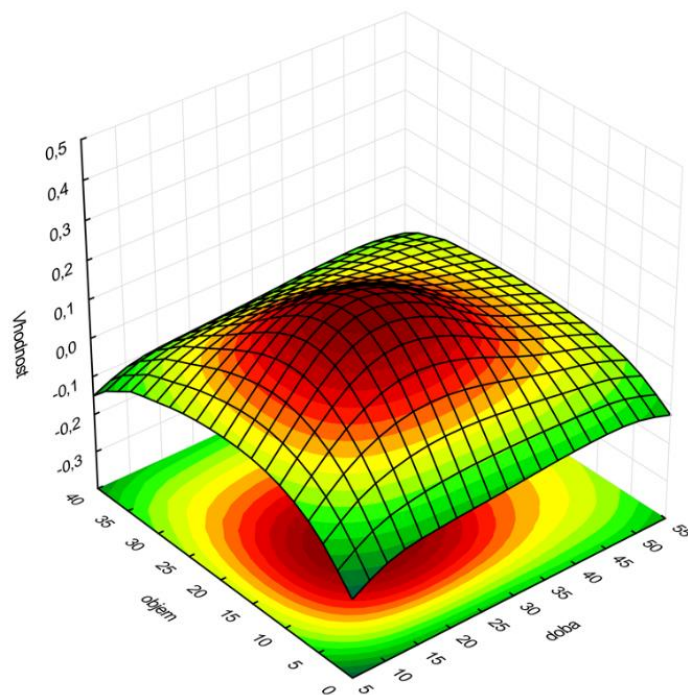
Kombinace extrakčních činidel jsou graficky znázorněné na obrázku č.15.



Obrázek 15 Závislost extrakčního činidla, Vhodností povrch/vrstevnice 1

Pro určení vhodných extrakčních časů v ultrazvukové lázni a vhodného objemu extrakčního činidla byly využity výsledky měření, které vycházely z výsledků provedených experimentů z tabulky č. 14.

Z obrázku č. 16 vyplývá, že optimální čas extrakce v ultrazvukové lázni byl stanoven na 23 minut a celkový objem činidla je 15 ml. Kritériem pro stanovení optimálních podmínek byla suma ploch jednotlivých látek.



Obrázek 16 Závislost modelu na změně objemu a času, Vhodností povrch/vrstevnice; Metoda: Spline

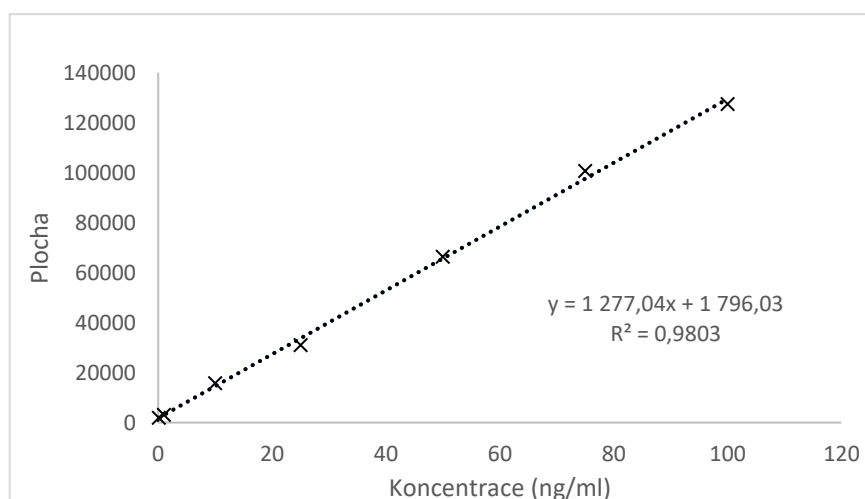
3.2 Kalibrační závislost

Pro potřeby měření reálných vzorků byly vytvořeny kalibrační roztoky v rozsahu koncentrací 0,1 – 100 ng/ml. Kalibrační roztoky byly připraveny postupným odebíráním vypočítaného objemu z již připraveného standardního roztoku směsi EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml. Měření probíhalo v módu MRM.

Byla proměřena kalibrační řada o koncentracích 0,1 ng/ml; 1 ng/ml; 10 ng/ml; 25 ng/ml; 50 ng/ml; 75 ng/ml; 100 ng/ml.

Pro každou látku ze standardní směsi EPA 8081 byla sestavena samostatná kalibrační závislost. Kalibrační závislost byla sestavena vždy z průměru 3 hodnot měření.

Graf kalibrační přímky pro TCMX je zobrazen na obrázku č. 17. Grafy kalibračních závislostí ostatních látek jsou zobrazeny v příloze č. 45-65.



Obrázek 17 Kalibrační přímka pro TCMX

Parametry kalibračních přímek všech látek jsou pro přehlednost sepsány jednotně v tabulce č. 19. Jsou zde také uvedeny hodnoty pro mez stanovitelnosti (LOQ) a pro mez detekce (LOD).

LOQ-Limit kvantifikace – nejnižší bod kalibrace

LOD-Limit detekce – třetina LOQ [82]

Tabulka 16 Parametry kalibrační přímky

	Koncentrační rozsah (ng/ml)	Rovnice regrese	R ²	LOQ (ng/ml)	LOD (ng/ml)
TCMX	0,1-100	y=1 277,04x + 1 796,03	0,9803	0,1	3,33×10 ⁻²
α BHC	0,1-100	y=1 537,6x - 2 294	0,9978	0,1	3,33×10 ⁻²
β BHC	0,1-100	y= 995,69x + 7671,2	0,9983	0,1	3,33×10 ⁻²
Lindan	0,1-100	y=2 048,29x + 10 415,48	0,9923	0,1	3,33×10 ⁻²
δ BHC	0,1-100	y=5 611,26x + 44 526,87	0,9822	0,1	3,33×10 ⁻²
Heptachlor	0,1-100	y=578,45x + 30841	0,9944	0, 1	3,33×10 ⁻²
Aldrin	0, 1-100	y=1 963,94x + 13 705,16	0,9874	0,1	3,33×10 ⁻²
Heptachloreoxid	0,1-100	y=10 248x + 220 565	0,9981	0,1	3,33×10 ⁻²
γ Chlordan	0,1-100	y=397,41x + 24 077	0,9963	0, 1	3,33×10 ⁻²
Endosulfan I	0,1-100	y= 359,55x + 4 567,8	0,9852	0,1	3,33×10 ⁻²
α Chlordan	0,1-100	y=364,63x+ 21 293	0,9956	0, 1	3,33×10 ⁻²
4,4' DDE	0,1-100	y=909,32x + 1 173,94	0,9916	0, 1	3,33×10 ⁻²
Dieldrin	0,1-100	y=1 306,5x + 1 2496	0,9993	0,1	3,33×10 ⁻²
Endrin	0,1-100	y= 532,84x + 6 009,6	0,9981	0,1	3,33×10 ⁻²
Endosulfan II	0,1-100	y=179,93x + 1 687,1	0,9781	0,1	3,33×10 ⁻²
4,4' DDD	0,1-100	y=926,53x +3 498,6	0,9983	0,1	3,33×10 ⁻²
Endrin aldehyd	0,1-100	y=193,19x + 2 941,8	0,9885	0,1	3,33×10 ⁻²
Endosulfansulfát	0,1-100	y=5 406,5x + 331 121	0,9991	0,1	3,33×10 ⁻²
4,4' DDT	0,1-100	y=6 063,1x + 64 664	0,9984	0, 1	3,33×10 ⁻²
Endrin keton	0,1-100	y= 294,71x + 6 881,4	0,9995	0,1	3,33×10 ⁻²
Metoxychlor	0,1-100	y=792,94x + 6 754,1	0,9886	0,1	3,33×10 ⁻²
Dekachlorbifenyl	0,1-100	y=4 891,2x + 35 997	0,9966	0, 1	3,33×10 ⁻²

Všechny body kalibračních přímek splnili podmínky validace. Přípustná odchylka měření při validaci prvního bodu v kalibrační řadě nepřesáhla 20 % a ostatní body kalibrační křivky nepřesáhly odchylku 15 % [82].

Výsledky validace jsou uvedeny níže v tabulce č.17

- $$\text{Odchylka (\%)} = \left| 100 - \left(\frac{\text{Koncentrace vypočítaná}}{\text{Koncentrace předpokládaná}} \right) \times 100 \right|$$

Tabulka 17 Validace metody

Odchylka (%)							
	Koncentrace						
	0,1 ng/ml	1 ng/ml	10 ng/ml	25 ng/ml	50 ng/ml	75 ng/ml	100 ng/ml
TCMX	3,85	6,84	9,03	8,51	0,99	3,20	1,60
α BHC	2,23	6,87	4,87	1,87	2,33	2,69	3,87
β BHC	4,76	2,99	2,87	4,63	1,48	8,93	7,63
Lindan	6,58	0,29	10,27	7,08	1,36	0,34	0,19
δ BHC	9,11	0,03	3,08	6,79	2,05	2,50	1,52
Heptachlor	9,83	6,32	6,41	2,26	0,17	4,52	2,50
Aldrin	1,38	5,73	6,18	9,09	0,19	6,17	3,01
Heptachlorepoxid	7,98	5,74	2,87	3,98	3,94	4,24	1,98
γ Chlordan	10,7	14,72	6,98	6,49	3,60	1,44	0,38
Endosulfan I	8,87	7,44	10,98	4,87	8,93	2,92	1,67
α Chlordan	14,23	9,32	13,66	3,51	3,84	1,65	0,11
4, 4 'DDE	13,19	9,04	3,93	5,98	1,01	3,29	1,77
Dieldrin	3,34	0,83	7,42	2,83	5,85	1,83	7,03
Endrin	4,83	2,83	1,99	0,87	8,09	3,93	0,98
Endosulfan II	1,73	4,93	0,74	3,87	3,74	2,98	2,87
4, 4 'DDD	7,93	3,93	2,13	8,93	8,01	3,98	3,94
Endrin aldehyd	5,02	9,83	7,94	4,83	7,09	1,06	3,87
Endosulfansulfát	4,73	3,82	2,87	4,98	3,23	2,92	4,83
4,4 'DDT	12,67	14,71	7,24	2,59	7,00	2,43	0,14
Endrin keton	9,83	11,84	5,59	4,92	3,83	9,74	1,87
Metoxychlor	2,87	1,09	4,87	3,98	3,87	7,84	0,09
Dekachlorbifenyl	1,94	0,37	7,53	0,25	4,33	1,22	1,83

3.2.1 Ověření vhodnosti navržené metody

Po vyhodnocení vhodných extrakčních podmínek bylo nutné ověřit, zda byly dané podmínky zvoleny správně a budeme moci dosáhnout správných výsledků při analýze reálných vzorků. V tomto kroku byla ověřována pouze ztráta při odpařování.

Bylo odměřeno 15 ml směsi hexan/toluen (40:60). Ke směsi bylo přidáno 100 µl standardu směsi EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml tato směs byla 23 minut extrahována v ultrazvukové lázni. Poté byl obsah extraktu odpařen pod proudem dusíku. Extrakt byl odpařen během 3 hodin. Odparek byl poté převeden na objem 150 µl hexanu. S takto připraveným vzorkem byla poté provedena GC-MS analýza.

Byly připraveny celkem 3 extrakty a každý extrakt byl poté 3 × proměřen.

Ze získaných zprůměrovaných ploch byla stanovena odchylka a extrakční účinnost.

- $$\text{Odchylka (\%)} = \left| 100 - \left(\frac{\text{Koncentrace vypočítaná}}{\text{Koncentrace předpokládaná}} \right) \times 100 \right|$$
- $$\text{Extrakční účinnost (\%)} = 100 - \text{odchylka}$$

Tabulka 18 Výtěžnost extrakce při ověření vhodnosti měření 1

	Výtěžnost extrakce (%)		
TCMX	91,13±0,31	4, 4 'DDE	91,16±1,83
α BHC	92,87±0,09	Dieldrin	92,84±1,01
β BHC	90,38±1,2	Endrin	94,83±1,64
Lindan	88,83±0,33	Endosulfan II	91,54±1,84
δ BHC	92,82±0,88	4, 4 'DDD	92,98±0,98
Heptachlor	93,11±1,01	Endrin aldehyd	90,03±2,06
Aldrin	92,84±1,34	Endosulfansulfát	89,66±1,66
Heptachlorepoxyd	93,44±0,04	4,4 'DDT	90,32±3,21
γ Chlordan	95,84±0,43	Endrin keton	95,23±0,87
Endosulfan I	89,32±1,39	Metoxychlor	92,11±1,43
α Chlordan	90,43±0,98	Dekachlorbifenyl	90,04±1,02

Účinnost metody se pohybovala v intervalu 88,83 % - 95, 84 %

Díky výsledkům, které jsou uvedeny v tabulce č. 18 můžeme usoudit, že tyto zvolené extrakční podmínky, které se týkaly pouze odpařování jsou vhodné pro následující analýzy.

Další varianta, která byla před analýzou reálných vzorků zvažována, byla ta, že vzorky po extrakci nebudou odpařeny pod proudem dusíku, ale pouze v koncentrátoru EVATERM (Labicom s.r.o., Olomouc, ČR) při teplotě 43 °C.

Bylo tedy odměřeno 15 ml směsi hexan/toluen (40:60). Ke směsi bylo přidáno 100 µl standardu směsi EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml tato směs byla 23 minut extrahována v ultrazvukové lázni. Poté byl obsah extraktu odpařován. Po 12 hodinách odpařování nedošlo k úplnému odpaření extraktu. Experiment byl po 12 hodinách ukončen bez následné analýzy. V tomto případě došlo k výrazné časové ztrátě a tato metoda poté pozastavena. Z tohoto měření můžeme usoudit, že takto zvolené podmínky nejsou vhodné pro následující analýzy.

3.2.2 Uměle kontaminované vzorky

V dalším kroku bylo nezbytné provést výpočet extrakční účinnosti uměle kontaminovaných vzorků.

Půdní vzorek byl odebrán lopatkou. Bylo odebráno 50 g půdy. Poté byl půdní vzorek ponechán v suchém prostředí, aby mohl vyschnout. Vzorek půdy byly poté proset (6 mm) a skladován při pokojové teplotě až do doby analýzy. Proběhla extrakce čistého vzorku, u kterého došlo k potvrzení, že vzorek neobsahoval žádnou z látek.

Byly připraveny 3 uměle kontaminované vzorky. Příslušné objemy standardu směsi EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml byly přidány k 1g půdy. Poté byly připravené vzorky podrobeny extrakci. Roztoky měly stanovenou koncentraci 100 ng/ml, 75 ng/ml a 50 ng/ml. Zde byla použita směs Hexan: Toluén (v poměru 60: 40). Směs byla poté zfiltrována přes filtrační papír. Dále byl obsah extraktu odpařen pod proudem dusíku a poté byl odparek převeden na objem 150 µl.

Výsledný extrakt byl 3x proměřen. Ze získaných zprůměrovaných ploch byla stanovena odchylka a extrakční účinnost.

- $$\text{Odchylka (\%)} = \left| 100 - \left(\frac{\text{Koncentrace vypočítaná}}{\text{Koncentrace předpokládaná}} \right) \times 100 \right|$$
- $$\text{Extrakční účinnost (\%)} = 100 - \text{odchylka}$$

Účinnost metody se pohybovala v intervalu 78,18 % - 95, 66 %. Největší výtěžnosti bylo získáno u látky Metoxychlor při koncentraci 75 ng/ml. Naopak nejmenší výtěžnost extrakce byla zjištěná u látky Endosulfan I při koncentraci 50 ng/ml.

Výsledky všech extrakčních účinností jsou zaznamenány v tabulce č. 19.

Tabulka 19 Výtěžnost extrakce uměle kontaminovaných vzorků

	Výtěžnost extrakce (%)		
	100 ng/ml	75 ng/ml	50 ng/ml
TCMX	90,64±0,23	92,22±0,91	88,76±2,72
α BHC	85,92±2,87	87,83±0,12	83,62±1,09
β BHC	89,34±1,98	92,64±1,81	84,98±1,98
Lindan	90,33±0,98	89,46±0,71	88,74±0,15
δ BHC	88,31±2,82	91,44±1,02	87,32±1,71
Heptachlor	91,15±1,09	93,57±0,56	89,79±1,67
Aldrin	87,16±0,98	88,98±2,81	86,93±2,01
Heptachlorepoxid	91,43±1,23	92,53±1,07	90,24±1,76
γ Chlordan	93,00±2,81	93,53±0,33	92,32±0,76
Endosulfan I	82,42±3,72	79,55±1,18	78,18±1,12
α Chlordan	82,63±1,08	85,92±2,32	81,93±0,09
4, 4 'DDE	87,36±1,18	89,94±0,76	90,14±1,76
Dieldrin	91,85±2,15	92,48±1,32	91,48±0,98
Endrin	92,26±3,16	93,64±1,09	90,82±1,09
Endosulfan II	87,88±0,65	89,72±0,91	86,97±8,73
4, 4 'DDD	88,96±1,31	90,25±1,84	85,44±2,09
Endrin aldehyd	91,22±2,02	92,46±1,34	90,83±0,98
Endosulfansulfát	84,33±1,16	86,41±0,06	82,96±1,12
4,4 'DDT	89,34±0,67	91,47±1,05	88,97±1,14
Endrin keton	88,95±0,04	90,90±0,46	87,92±1,98
Metoxychlor	90,80±0,14	95,66±1,17	89,85±1,11
Dekachlorbifenyl	89,92±1,89	90,53±1,36	86,86±0,14

3.2.3 Reálné vzorky

V rámci měření náležících diplomové práci bylo odebráno 10 reálných vzorků půd, které byly převezeny na Katedru analytické chemie Univerzity Pardubice. Vzorky byly nejdříve extrahovány a poté měřeny za pomoci GC-MS. Při tomto měření bylo úkolem zjistit, zda půdy obsahovaly látky ze standardní směsi EPA 8081.

Lokality odkud byly jednotlivé vzorky odebrány jsou blíže popsány v kapitole 2.7, tabulka č.15.

Nejprve byl navážen 1 g zkoumané půdy a poté bylo ke vzorku půdy přidáno extrakční činidlo. Jednotlivé vzorky byly podrobeny extrakci. Zde byla jako rozpouštědlo použita směs Hexan: Toluén (60: 40). Objem extrakčního činidla byl 15 ml a čas extrakce v ultrazvukové lázni byl 23 minut. Extrakt byl poté přefiltrován přes filtrační papír. Dále byl obsah extraktu odpařen pod proudem dusíku a odparek byl převeden na objem 150 μ l hexanu. Vzorek byl navážen a extrahován celkem 3 \times . Extrakty reálných vzorků byly proměřeny celkem 3 \times a výsledné plochy byly zprůměrovány. Výsledky jsou uváděny po přepočtu na extrakční účinnost pro danou látku.

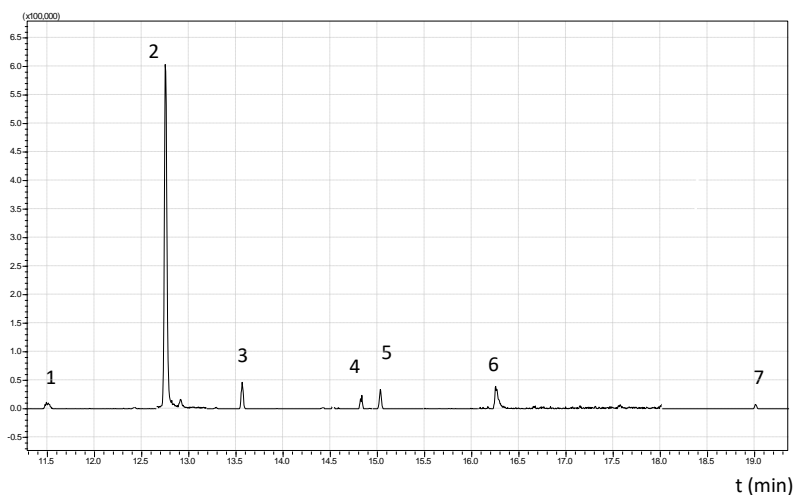
Cílem práce bylo stanovit koncentrace pesticidů v půdách. Pravidla pro používání pesticidů najdeme v nařízení Evropského parlamentu 396/2005 ze dne 23. února 2005 o maximálních limitech pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu [83].

Ze získaných ploch byla stanovena koncentrace látky v extraktu a poté byla vypočítána koncentrace pesticidu v půdě:

- Koncentrace látky v extraktu = $\frac{\text{průměrná plocha-úsek}}{\text{směrnice}}$
- Koncentrace pesticidu v půdě = $\frac{\text{Koncentrace látky v extraktu} \cdot 0,15}{\text{Výtěžnost extrakce uměle kontaminovaného vzorku}}$

Vzorek půdy č. 1 byl odebrán na poli v obci Jemnice (49,0112403N; 15,5959117E). Na obrázku č. 18 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 7 látek. Látky γ Chlordan, 4,4' DDT a dekalchlorbifenyl byly detekovány pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 11,49 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 5,64 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $0,95 \pm 0,015$ ng/g.

Ve vzorku půdy č. 1 nedošlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,72 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 99,10 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $16,83 \pm 0,77$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 1 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 13,55 min odpovídal látce heptachlor jejíž koncentrace v extraktu byla 32,18 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $5,37 \pm 0,055$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 1 nedošlo k překročení limitu pro obsah heptachloru v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah heptachloru ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 15,02 min odpovídal látce α Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 25,44 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $4,65 \pm 0,085$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 1 nedošlo k překročení limitu pro obsah α Chlordanu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah α Chlordanu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.

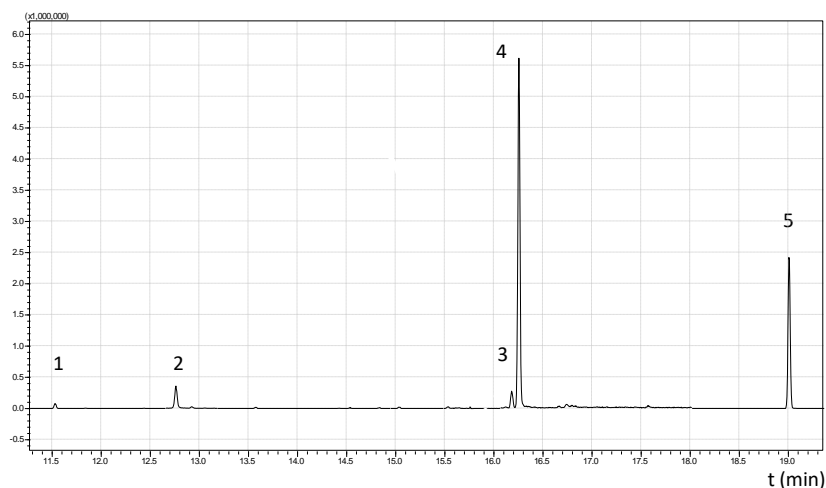


Obrázek 18 Chromatogram vzorku 1: 1- TCMX; 2- δ BHC; 3-Heptachlor; 4- γ Chlordan; 5- α Chlordan; 6-4,4' DDT; 7-Dekachlorbifenyl

Vzorek půdy č. 2 byl odebrán ze záhonku na zahradě v obci Jemnice (49,0172564N;15,5858694E). Na obrázku č. 19 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 5 látek. Pík s retenčním časem 11,51 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 68,65 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $11,16 \pm 0,02$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 2 nedošlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX

ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,71 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 63,44 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $10,41 \pm 0,15$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 2 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 16,28 min odpovídal látce 4,4' DDT jejíž koncentrace v extraktu byla 954,03 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $160,18 \pm 6,1$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 2 došlo k překročení limitu pro obsah 4,4' DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4' DDT ve výši 0,075 mg/kg [84]. Pík s retenčním časem 18,97 min odpovídal látce dekachlorbifenyl jehož koncentrace v extraktu byla 474,01 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $79,07 \pm 0,475$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 2 došlo k překročení limitu pro obsah dekachlorbifenylu v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah dekachlorbifenylu ve výši 0,02 mg/kg [84]. Látka Endosulfansulfát byla detekována pod mezí kvantifikace. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.

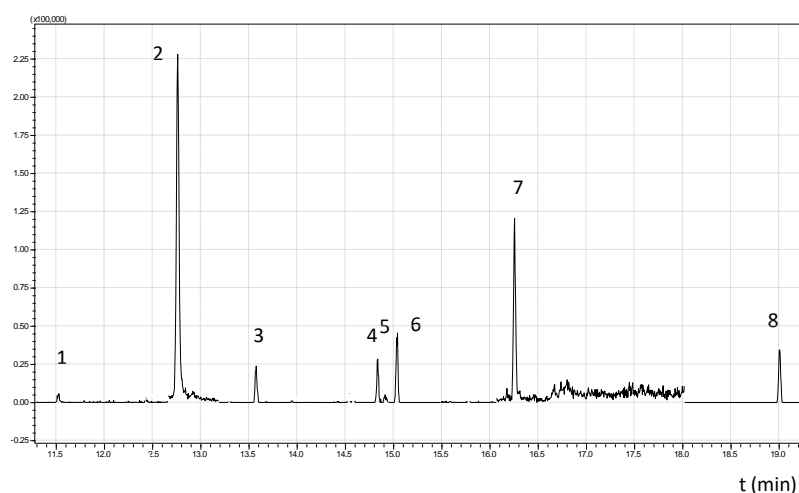
Zahrada se nachází na okraji města v přímé blízkosti pole. Z toho lze vyvodit, že herbicidy ve vzorku zde mohou být zavlečeny blízkou zemědělskou činností.



Obrázek 19 Chromatogram vzorku 2:1-TCMX; 2- δ BHC; 3-Endosulfansulfát; 4-4,4' DDT; 5-Dekachlorbifenyl

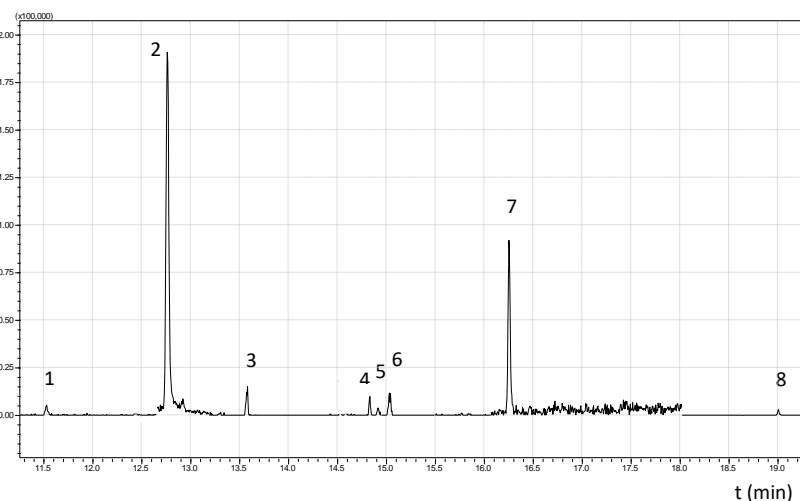
Vzorek půdy č. 3 byl odebrán v lesní struze u obce Lhotice (49,0356706N; 15,6208828E). Na obrázku č. 20 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 8 látek. Pík s retenčním časem 11,51 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 2,61ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $0,44 \pm 0,01$ ng/g.

Ve vzorku půdy č. 3 nedošlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,74 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 32,28 ng/ml. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $5,54 \pm 0,035$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 3 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 14,85 min odpovídal látce γ Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 16,11 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $2,61 \pm 0,02$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 3 nedošlo k překročení limitu pro obsah γ Chlordanu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah γ chlordanu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 15,04 min odpovídal látce α Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 67,52 ng/ml. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $11,78 \pm 0,335$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 3 došlo k překročení limitu pro obsah látky α Chlordan v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah látky α Chlordan ve výši 0,01 mg/kg sušiny [85]. Pík s retenčním časem 16,27 min odpovídal látce 4,4'-DDT jejíž koncentrace v extraktu byla 9,39 ng/ml. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $1,57 \pm 0,04$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 3 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Látky heptachlor, endosulfan I a dekachlorbifenyl byly detekovány pod mezí kvantifikace. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 20 Chromatogram vzorku 3: 1- TCMX; 2- δ BHC; 3-Heptachlor; 4- γ Chlordan; 5- Endosulfan I; 6- α Chlordan; 7-4,4' DDT; 8-Dekachlorbifenyl

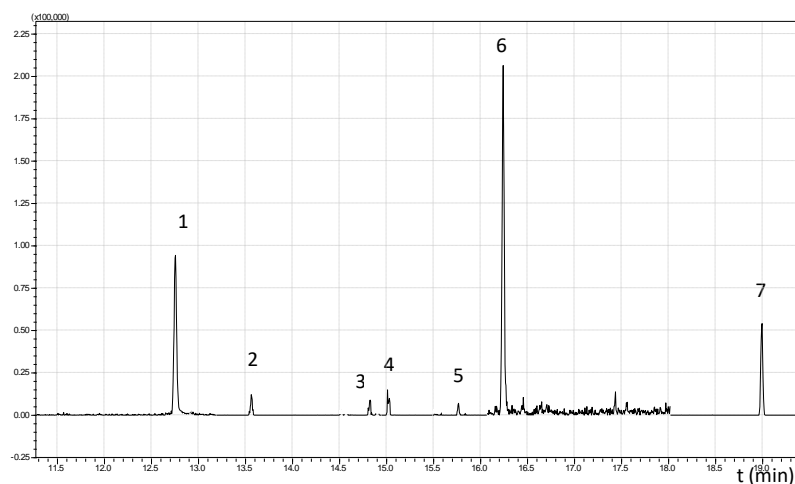
Vzorek půdy č. 4 byl odebrán na lesní ploše v části oploceného lesa u obce Písečné (48,9465583N; 15,4903881E). Na obrázku č. 21 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 8 látek. Látky heptachlor, endosulfan I, γ Chlordan, α Chlordan a dekachlorbifenyl byly detekovány pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 11,52 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 2,26 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $0,38 \pm 0,015$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 4 nedošlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,73 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 24,93 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $4,28 \pm 0,105$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 4 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 16,27 min odpovídal látce 4,4'-DDT jejíž koncentrace v extraktu byla 3,35 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $0,56 \pm 0,05$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 4 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 21 Chromatogram vzorku 4: 1-TCMX; 2- δ BHC; 3- Heptachlor; 4- γ Chlordan; 5-Endosulfan I; 6- α Chlordan; 6-4,4' DDT; 8-Dekachlorbifenyl

Vzorek půdy č. 5 byl odebrán na poli u obce Budkov (49,0009472N; 15,5904344E). Na obrázku č. 22 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 7 látek. Pík s retenčním časem 12,72 min odpovídal látce δ BHC jehož koncentrace v extraktu byla 8,82 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $1,51 \pm 0,06$ ng/g. Ve

vzorku půdy č. 5 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 16,27 min odpovídal látce 4,4' DDT jejíž koncentrace v extraktu byla 23,93 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $4,03 \pm 0,12$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 5 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 19,06 min odpovídal látce dekachlorbifenyl jejíž koncentrace v extraktu byla 3,68 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $0,63 \pm 0,01$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 5 nedošlo k překročení limitu pro obsah dekachlorbifenyly v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah dekachlorbifenyly ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Látky heptachlor, γ Chlordan, α Chlordan a endosulfan II byly detekovány pod mezí kvantifikace. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.

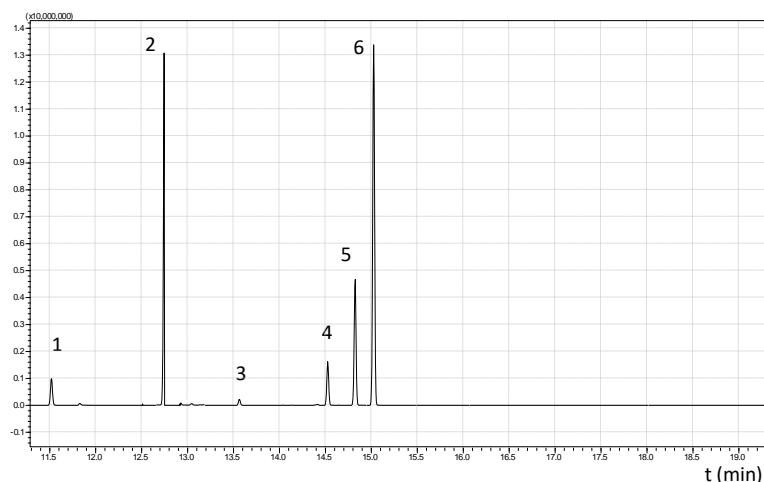


Obrázek 22 Chromatogram vzorku 5: 1- δ BHC; 2- Heptachlor; 3- γ Chlordan; 4- α Chlordan; 5- Endosulfan II; 6-4,4' DDT; 7 Dekachlorbifenyl

Vzorek půdy č. 6 byl odebrán na lesní ploše u obce Budkov (49,0386739N; 15,6278781E). Na obrázku č. 23 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 6 látek. Pík s retenčním časem 11,50 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 738,54 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $122,22 \pm 1,885$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,73 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 2433,58 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky.

Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $413,35 \pm 6,67$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 13,54 min odpovídal látce heptachlor jejíž koncentrace v extraktu byla 211,22 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $34,75 \pm 0,385$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k překročení limitu pro obsah heptachloru v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah heptachloru ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 14,49 min odpovídal látce heptachloreoxid jejíž koncentrace v extraktu byla 144,36 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $23,68 \pm 0,23$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k překročení limitu pro obsah heptachloreoxidu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah heptachloreoxidu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 14,81 min odpovídal látce γ Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 17811,51 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $2893,90 \pm 20,51$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k výraznému překročení limitu pro obsah γ Chlordanu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah γ chlordanu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 15,02 min odpovídal látce α Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 24925,09 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $4524,68 \pm 13,01$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 6 došlo k překročení limitu pro obsah látky α Chlordan v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah látky α Chlordan ve výši 0,01 mg/kg sušiny [85]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.

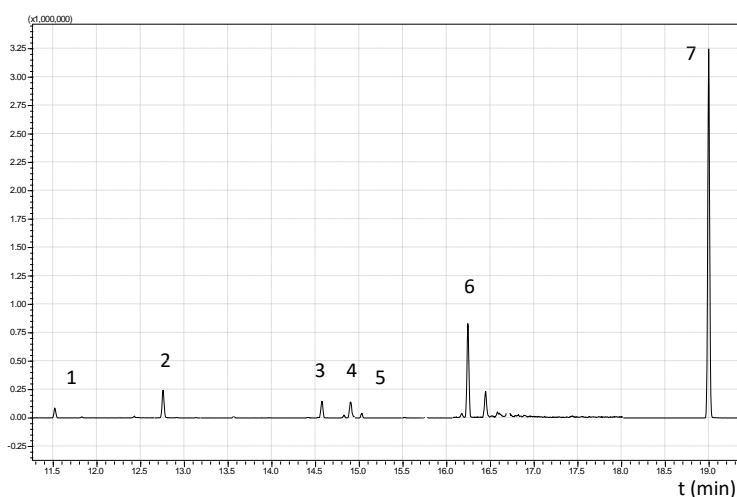
Lesní plocha ze které byl vzorek půdy odebrán, je každoročně ošetřována herbicidy, které slouží k likvidaci nežádoucích rostlin. Je vysoce pravděpodobné, že látky přetrvaly v půdě a poté jsme je byli schopni detekovat ve větším množství i v půdním vzorku č. 6.



Obrázek 23 Chromatogram vzorku 6: 1-TCMX; 2- δ BHC; 3-Heptachlor; 4-Heptachlorepoxid; 5- γ Chlordan; 6- α Chlordan

Vzorek půdy č. 7 byl odebrán na poli u obce Panenská (48,9981597N; 15,4992394E). Na obrázku č. 24 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 7 látek. Pík s retenčním časem 11,51 min odpovídal látce TCMX jejíž koncentrace v extraktu byla 64,49 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $10,49 \pm 0,2$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 nedošlo k překročení limitu pro obsah TCMX v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah TCMX ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 12,74 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 36,75 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $6,31 \pm 0,025$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 14,81 min odpovídal látce γ Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 242,89 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $39,03 \pm 0,14$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 došlo k překročení limitu pro obsah γ Chlordanu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah γ chlordanu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem 15,02 min odpovídal látce α Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 82,51 ng/ml. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $14,41 \pm 0,16$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 došlo k překročení limitu pro obsah látky α Chlordan v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah látky α Chlordan ve výši 0,01 mg/kg sušiny [85]. Pík s retenčním časem 16,27 min odpovídal látce 4,4'-DDT, jejíž koncentrace v extraktu byla 124,58 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá,

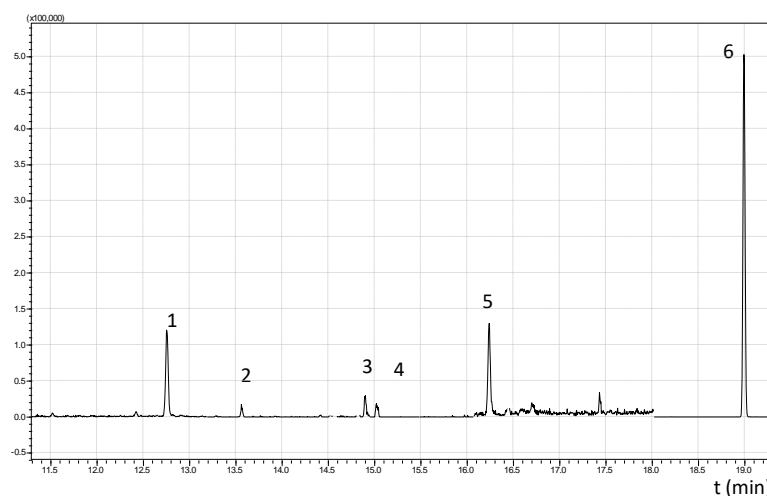
že v půdě je koncentrace pesticidu $20,19 \pm 0,35$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 18,98 min odpovídal látce dekachlorbifenyl jejíž koncentrace v extraktu byla 663,88 ng/ml. Koncentrace extraktu vyšla mimo rozsah kalibrační křivky. Měřený roztok bylo nutné naředit. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $110,74 \pm 1,205$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 7 došlo k překročení limitu pro obsah dekachlorbifenyly v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah dekachlorbifenyly ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Látka heptachloreoxid byla detekována pod mezí kvantifikace. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 24 Chromatogram vzorku 7:1-TCMX; 2- δ BHC; 3- Heptachloreoxid; 4- γ Chlordan; 5- α Chlordan; 6-4,4' DDT; 7-Dekachlorbifenyl

Vzorek půdy č. 8 byl odebrán v lesní struze u obce Písečné (48,9401881N; 15,5085733E). Na obrázku č. 25 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 6 látek. Látky Heptachlor a α Chlordan byly detekovány pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 12,74 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 13,58 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $2,33 \pm 0,045$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 8 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 14,90 min odpovídal látce γ Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 15,45 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $2,51 \pm 0,025$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 8 nedošlo k překročení limitu pro obsah γ Chlordanu v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah γ Chlordanu ve výši 0,01 mg/kg [85]. Pík s retenčním časem

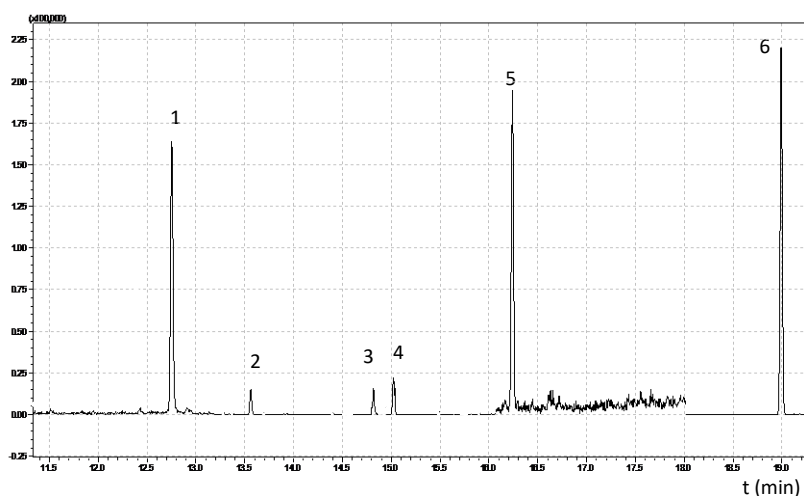
16, 27 min odpovídal látce 4,4'-DDT jejíž koncentrace v extraktu byla 10,89 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $1,83 \pm 0,025$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 8 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 18,98 min odpovídal látce dekachlorbifenyl jejíž koncentrace v extraktu byla 94,88 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $15,82 \pm 0,415$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 8 nedošlo k překročení limitu pro obsah dekachlorbifenylu v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah dekachlorbifenylu ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 25 Chromatogram vzorku 8: 1- δ BHC; 2-Heptachlor; 3- γ Chlordan; 4- α Chlordan; 5-4,4' DDT; 6-Dekachlorbifenyl

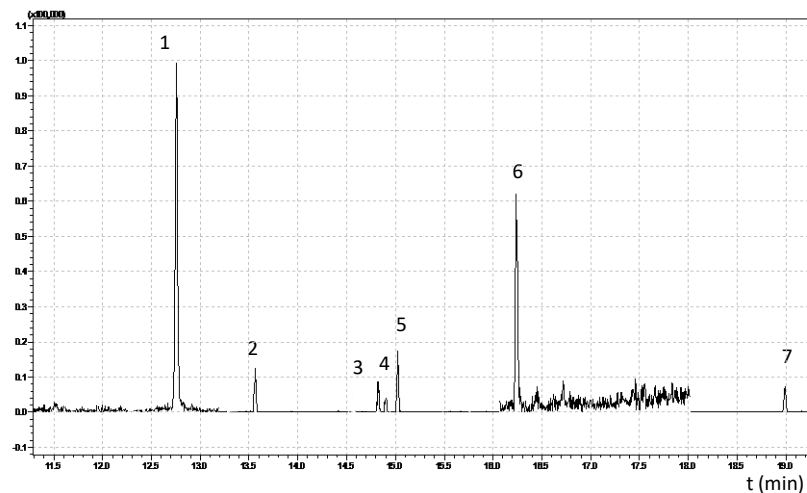
Vzorek půdy č. 9 byl odebrán poblíž lesní cesty u rybníku Záděra (49,0511811N; 15,6061528E). Na obrázku č. 26 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 6 látek. Látka heptachlor a γ Chlordan byly detekovány pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 12,79 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 21,97 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $3,77 \pm 0,09$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 9 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 15,02 min odpovídal látce α Chlordan jejíž koncentrace v extraktu byla 7,07 ng/ml. Tento výsledek značí to, že v půdě je koncentrace pesticidu $1,29 \pm 0,02$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 9 nedošlo k překročení limitu pro obsah látky α Chlordan v půdě, neboť Vyhláška 13/1994 Sb. určuje maximální limit pro obsah látky α Chlordan ve výši 0,01 mg/kg sušiny [85]. Pík s retenčním časem 16, 28 min odpovídal látce 4,4'-DDT jejíž

koncentrace v extraktu byla 21,08 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $3,55 \pm 0,03$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 9 nedošlo k překročení limitu pro obsah 4,4'-DDT v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah 4,4'-DDT ve výši 0,075 mg/kg sušiny [84]. Pík s retenčním časem 19,03 min odpovídal látce dekachlorbifenyl jejíž koncentrace v extraktu byla 38,59 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $6,66 \pm 0,26$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 9 nedošlo k překročení limitu pro obsah dekachlorbifenylu v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah dekachlorbifenylu ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 26 Chromatogram vzorku 9: 1- δ BHC; 2-Heptachlor; 3- γ Chlordan; 4- α Chlordan; 5-4,4' DDT; 6-Dekachlorbifenyl

Vzorek půdy č. 10 byl odebrán na lesní ploše u obce Panenská (48,9944469N; 15,4817842E). Na obrázku č. 27 můžeme vidět chromatogram, podle kterého bylo identifikováno celkem 7 látek. Látky heptachlor, γ Chlordan, Endosulfan I, α Chlordan, 4,4'-DDT a dekachlorbifenyl byly detekovány pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 12,72 min odpovídal látce δ BHC jejíž koncentrace v extraktu byla 10,05 ng/ml. Z tohoto výsledku vyplývá, že v půdě je koncentrace pesticidu $1,72 \pm 0,02$ ng/g. Ve vzorku půdy č. 10 nedošlo k překročení limitu pro obsah δ BHC v půdě, neboť Vyhláška 153/2016 Sb. určuje maximální limit pro obsah δ BHC ve výši 0,02 mg/kg sušiny [84]. Souhrn všech látek je uveden v tabulce č. 20 na straně 82.



Obrázek 27 Chromatogram vzorku 10: 1- δ BHC; 2-Heptachlor; 3- γ Chlordan; 4- Endosulfan I; 5- α Chlordan; 6-4,4' DDT; 7-Dekachlorbifenyl

Všechny výsledky jsou pro přehlednost uvedeny v tabulce č. 20 na straně 82. Pokud je v tabulce uvedeno, že koncentrace látek v půdě je pod mezí kvantifikace, tak současně to znamená, že je koncentrace látek nad mezí detekce.

Tabulka 20 Celkové výsledky vzorků 1-10

Látka	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Vzorek 6	Vzorek 7	Vzorek 8	Vzorek 9	Vzorek 10
	Koncentrace v půdě (ng/g)									
TCMX	0,95±0,015	11,16±0,02	0,43±0,01	0,38±0,015	<LOD	122,22±1,885	10,49±0,2	<LOD	<LOD	<LOD
α BHC	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
β BHC	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Lindan	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
δ BHC	16,83±0,77	10,41±0,15	5,54±0,035	4,28±0,105	1,51±0,06	413,35±6,67	6,31±0,025	2,33±0,045	3,77±0,09	1,72±0,02
Heptachlor	5,37±0,055	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	34,75±0,385	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Aldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Heptachlorepoxid	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	23,68±0,23	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD
γ Chlordan	<LOQ	<LOD	2,61±0,02	<LOQ	<LOQ	2893,90±20,51	39,03±0,14	2,51±0,025	<LOQ	<LOQ
Endosulfan I	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ
α Chlordan	4,65±0,085	<LOD	11,78±0,335	<LOQ	<LOQ	4524,68±13,01	14,41±0,16	<LOQ	1,29±0,02	<LOQ
4,4' DDE	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dieldrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endosulfan II	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
4,4' DDD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endrin aldehyd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Endosulfansulfát	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
4,4' DDT	<LOQ	160,18±6,1	1,57±0,04	0,56±0,05	4,03±0,12	<LOD	20,91±0,35	1,83±0,025	3,55±0,03	<LOQ
Endrin keton	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Metoxychlor	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Dekachlorbifenylyl	<LOQ	79,07±0,475	<LOQ	<LOQ	0,63±0,01	<LOD	110,74±1,205	15,82±0,415	6,66±0,26	<LOQ

ZÁVĚR

Hlavním cílem této diplomové práce bylo vyvinout metodu pro stanovení pesticidů metodou GC-MS v režimu MRM. V teoretické části byla provedena literární rešerše zaměřená na problematiku pesticidů. Dále jsou v teoretické části popsány techniky plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie a jejich spojení, které je v dnešní době velmi často využívané nejen při analýze pesticidů. Hlavními výhodami tohoto spojení je jednoduchá a relativně rychlá analýza. Proto je tato metoda vhodná pro rutinní analýzy v laboratořích.

V experimentální části bylo nejprve potřebné provést optimalizaci metody pro analýzu pesticidů pomocí GC-MS. Bylo provedeno několik měření k nalezení vhodných parametrů pro měření vzorků. Pro tento účel byl použit standardní roztok směsi EPA 8081. Optimalizované podmínky byly poté použity pro měření kalibračních roztoků, uměle kontaminovaných a reálných vzorků. Roztok EPA 8081 byl nejprve proměřován za pomoci GC-MS v režimu SCAN. Z dat získaných metodou SCAN byla vytvořena metoda SIM. Po získání SIM chromatogramu byla vytvořena metoda v režimu PIS. Takto získaný režim byl využit pro získání dat k vytvoření vhodné metody měřící v režimu MRM. Pro tento účel bylo testováno 12 různých kolizních energií v rozmezí hodnot 5 až 60 V. Režim MRM je ze všech režimů nejcitlivější. V tomto režimu byly následně proměřovány všechny reálné vzorky.

V dalším kroku experimentu bylo nutné vybrat vhodné podmínky pro extrakci za pomoci ultrazvuku. Nejprve bylo potřeba zvolit správnou směs. Nejlepší účinnost vykazoval hexan a toluen. Poté byl pomocí statistického programu Statistica 12 vyhodnocen optimální čas extrakce v ultrazvukové lázni a objem extrakčního činidla. Výsledný čas extrakce byl tedy 23 minut a celkový objem směsi hexan: toluen (40:60) byl 15 ml. Extrakt byl poté přefiltrován přes filtrační papír. Extrakt byl dále odpařen dusíkem. Odparek byl převeden na objem 150 μ l hexanu a poté finálně zanalyzován.

Součástí diplomové práce byla také analýza 10 reálných vzorků půd, kde hlavním cílem bylo určit, zda vzorky obsahují některé látky ze standardní směsi EPA 8081. U všech vzorků byly pozorovatelné píky odpovídající některé z látek směsi. Koncentrace některých látek byla tak nízká, že nepřekročila mez stanovitelnosti.

U 6 vzorků byla kvantifikována látka TCMX. Tato látka má schopnost přetrvávat v půdě několik desítek let jako pozůstatek po ošetřování lesních a zemědělských ploch pesticidními přípravky, které tuto látku obsahují [86].

Přítomnost látky δ BHC u všech vzorků lze vysvětlit tím, že se tato látka používala ve velké míře na ošetřování zemědělských a lesních ploch, proto může být v půdě i po několika letech stále detekována. Látka δ BHC se v minulosti využívala jako prostředek k hubení hlodavců [87].

U vzorků č. 1 a č. 6 byla kvantifikována látka heptachlor. V 70. letech 20. století byl heptachlor využíván při aplikaci zemědělských přípravků k hubení hmyzu na osivech a na plodinách. Pesticid se silně váže na půdu a téměř se neodpařuje, proto jsme ho byli schopni i po několika letech v půdním vzorku stále detekovat [87].

U vzorků č. 6 a č. 7 dochází k překročení limitů pro obsah látky γ Chlordan v půdách. U vzorků č. 3, č. 6 a č. 7 dochází k překročení limitů pro obsah látky α Chlordan v půdách. Látky γ Chlordan a α Chlordan byly do konce minulého století využívány na ošetření obilí a kukuřice proti škůdcům. Látky mají schopnost poměrně dlouho přetrvávat v půdě, proto jsme je byli schopni i po několika letech stále detekovat ve větším množství i v půdních vzorcích [86].

Z výsledků je patrné, že všechny zkoumané vzorky s výjimkou vzorku č. 6 obsahovaly látku 4,4' DDT i přes to, že používání této látky je již od roku 1974 zakázáno. Tento výsledek souvisí s tím, že 4,4' DDT má schopnost poměrně dlouho přetrvávat v životním prostředí a v půdě. Váže se na půdní částice a poločas rozkladu se podle typu půdy pohybuje od několika let až po několik desetiletí [88].

U 5 vzorků byla kvantifikována látka dekachlorbifenyl. Tato látka byla masivně používána v první polovině 20. století. Do půdy se dostávala samovolně během nevhodné průmyslové výroby. Dnes se může do půdy dostat především při špatném zacházení s nebezpečným odpadem [89].

Závěrem je třeba znovu připomenout, že i když jsou dnes pesticidy hojně používány jako přípravky k hubení nebo regulaci škodlivých organismů, nesmíme zapomínat na to, že mohou mít závažné dopady na lidské zdraví i na životní prostředí. Unikají do vody, do vzduchu a do půdy, kde představují riziko pro necílové rostliny, volně žijící živočichy, půdní ekosystém, kvalitu povrchových a podzemních vod i pro biologickou rozmanitost obecně. Proto je nutné používat pesticidy s co největší rozvahou a zodpovědností.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] TADEO, José. (2019). *Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples*. Taylor & Francis Group. 107 s. ISBN 978-1-138-48603-4.
- [2] ANDREU, Vicente. PICÓ, Yolanda. (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 23 (10-11), p. 772-789.
- [3] KAUR, Rajveer. KAUR MAVI, Gurjot. RAGHAV, Shweta. KHAN, Injeela. (2019). Pesticides Classification and its Impact on Environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 8(3), p. 1889-1897.
- [4] CASIDA, John. (2018). Nobel Prize for Medicine: Dr. Paul Müller. *Nature*. 162, p. 727.
- [5] YANG, Jingxiang. WARD, Michael. KAHR, Bart. (2017). Abuse of Rachel Carson and Misuse of DDT Science in the Service of Environmental Deregulation. *Angewandte Chemie*. 129 (34), p. 10158-10164.
- [6] ŠUTA, Miroslav. In: *Opatrně s pesticidy*. [online]. 2009. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://ekolist.cz/cz/publicistika/nazory-a-komentare/opatrne-s-pesticidy#disc>.
- [7] USA lags behind EU, Brazil and China in banning harmful pesticides. In: *Phys.org* [online]. 2019 [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://phys.org/news/2019-06-usa-lags-eu-brazil-china.html>.
- [8] HAJŠLOVÁ, Jana. KOCOUREK, Vladimír. (2004). *Osud prostředků pro ochranu rostlin v potravním řetězci člověka*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 PRAHA 6 – Ruzyně. 42 s. ISBN1-85075-921-9 2.
- [9] STEPHENSON, Erald. FERRIS, Ian. HOLLAND, Patrick. NORDBERG, Monica, (2006). Glossary of terms relating to pesticides. *Pure and Applied Chemistry*, 78. p. 2075–2154.
- [10] TABASHNIK, Bruce. MONTA-SANCHEZ, David. WHALON, Mark. HOLLINGWORT, Robert. CARRIERE, Yves. (2014). Defining Terms for Proactive Management of Resistance to Bt Crops and Pesticides. *Journal of Economic Entomology*. 107(2), p. 496–507.
- [11] BRIGGS, Geoffrey. (1990). Predicting the behaviour of pesticides in soil from their physical and chemical properties. *The Royal Society*. 329 (1255), p. 105-113.

- [12] DAS, Kelvin. TIWARI, Ryan. SHRIVASTAVA, Denise. (2010), Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(2), p. 104-111.
- [13] STOYTICHEVA, Margarita. (2011). *Pesticides in the Modern World: Trends in Pesticides Analysis*. InTech, Rijeka. 514 s. ISBN 978-953-307-437-5.
- [14] YADAV, Ishwar, Chandra. DEVI, Ningombam, Linthoingambi. (2017). Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *ResearchGate*, p.141-151.
- [15] KIZLINK, Juraj. (2005). *Technologie chemických látek. 3. přeprac. vyd.* Brno: VUT. 282 s. ISBN 80-214-2913-5.
- [16] ROSER, Max. Pesticides. *In: Our world in data*. [online]. 2019. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://ourworldindata.org/pesticides>.
- [17] RASHID, Bushra. HUSNAIN, Tayyab. RIAZUDDIN, Sheikh. (2010). Herbicides and Pesticides as Potential Pollutants: A Global Problem. *Plant Adaptation and Phytoremediation*. 1(1), p. 427-447.
- [18] FEDTKE, Carl. (1982). *Biochemistry and Physiology of Herbicide Action*. Springer, Berlin, Heidelberg. 204 s. ISBN 978-3-642-68375-6.
- [19] HAVERKATE, Franklin. TEMPEL, Adam. DEN HELD, Anton. (1999). Interaction of 2,4,5-trichlorophenylsulphonylmethyl thiocyanate with fungal spores. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 75, p. 308–315.
- [20] LATIJNHOUWERS, Maita. DE WIT, Pierre. GOVERS, Francine. (2003). Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants. *Trends in Microbiology*. 11(10), p. 462-469.
- [21] HRELIA, Paul. FIMOGNARI, Calvin. MAFFEI, Fred. VIGAGNI, Filip. MESIRCA, Ronaldo. POZZETTI, Leona. PAOLINI, Marte. CANTELLI FORTI, George. (1996). The genetic and non-genetic toxicity of the fungicide Vinclozolin. *Mutagenesis*. 11(5), p. 445-453.
- [22] MUELLER, Daren. (2013). Fungicides: Terminology. *Iowa State University*. Retrieved June 1. 6(1), p. 86-94.
- [23] Do it yourself pest control facts. *In: Naturespest* [online]. 2017. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://www.naturespest.com/professional-do-it-yourself-pest-control-advice/do-it-yourself-pest-control-guide/>.

- [24] GIBBS, Katherine. MACKEY, Robin. CURRIE, David. (2009). Human land use, agriculture, pesticides and losses of imperiled species. *Diversity and Distributions*. 15, p. 242-253.
- [25] PIMENTEL, David. EDWARDS, Clive. (1982). Pesticides and Ecosystems. *BioScience*, 32(7), p. 595–600.
- [26] MAHMOOD, Isra. SHAZADI, Kanwal. GUL, Alvina. HAKEEM, Rehman, Khalid. IMADI, Sameen, Ruqia. (2015). Effects of Pesticides on Environment. *Plant, Soil and Microbes Volume 1: Implications in Crop Science*. Springer International. 1(1), p.120-125.
- [27] ZAHM, Shelia, Hoar. WARD, Mary. (1998). Pesticides and Childhood Cancer. *Environmental Health Perspectives*. 106 (3), p. 893-908.
- [28] PRAKASH, Anand. RAO, Jagadiswari. (2018). *Botanical Pesticides in Agriculture*. 234 s. ISBN 978-131-513-85-72.
- [29] KUMAR, Vinod. KUMAR, Piyush. (2019). Pesticides in agriculture and environment: Impacts on human health. *Contaminants in Agriculture and Environment: Health Risks and Remediation*. Agro Environ Media, Haridwar, India. p.76-95. DOI:10.26832/AESA-2019-CAE-0160-07.
- [30] TOSI, Simone. COSTA, Cecilia. VESCO, Umberto. QUAGLIA, Giancarlo. GUIDO, Giovanni. (2018). A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. *Science of The Total Environment*. 615(15), p. 208-218.
- [31] KISO, Yoshiaki. NISHIMURA, Yuta. KITAO, Takane. NISHIMURA, Kazuyuki. (2000). Rejection properties of non-phenylic pesticides with nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*. 171(2), p. 229-237.
- [32] MA, Xiaomei. BUFFLER, Patricia. GUNIER, Robert. DAHL, Gary. SMITH, Martyn. REINIER, Kyndaron. REYNOLDS, Peggy. (2002). Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspect*. 110(9), p. 955–960.
- [33] MALOUF, Camille. OTTERSBAACH, Katrin. (2018). Molecular processes involved in B cell acute lymphoblastic leukaemia. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 75, p. 417-446.

- [34] MENEZES, Helvécio. PAULO, Breno. PAIVA, Maria José. CARDEAL, Zenilda. (2016). A Simple and Quick Method for the Determination of Pesticides in Environmental Water by HF-LPME-GC/MS. *Journal of analytical Methods in Chemistry*, p. 203-234.
- [35] SAMSIDAR, Anwar. SIDDIQUEE, Shafiquzzaman. Md SHAARANI, Sharidufin. (2018). A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*. 71, p. 188-201.
- [36] DOMÍNGUEZ, Irene. GONZÁLEZ, Roberto, Romero. LIÉBANAS, Javier, Arrebola. MARTÍNEZ Vidal, FRENICH, Antonia, Garrido. (2016). Automated and semi-automated extraction methods for GC–MS determination of pesticides in environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 12, p. 1-12.
- [37] FILHO, Adalberto, Menezes. SANTOS, Fábio, Nevesdos. PEREIRA, Pedro, Afonso. (2010). Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC–MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. *Microchemical Journal*. 96, p. 139-145.
- [38] High-Resolution Accurate-Mass GC-MS. In: *ThermoFischer Scientific*. [online]. 2012. [cit. 2020-12-03]. Dostupné z https://www.thermofisher.com/cz/en/home/industrial/mass-spectrometry/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-systems/high-resolution-accurate-mass-gc-ms.html?ce=E.21CMD.DL107.39839.01&cid=E.21CMD.DL107.39839.01&ef_id=EAIAIQobChMI6fCJnL-X8gIVTOvtCh2j6gjoEAAYASAAEgIzuvD_BwE:G:s&s_kwcid=AL!3652!3!502686057028!p!!g!!gas%20chromatograph&gclid=EAIAIQobChMI6fCJnLX8gIVTOvtCh2j6gjoEAAYASAAEgIzuvD_BwE.
- [39] BARTLE, Keith. MYERS, Peter. (2002). History of gas chromatography. *School of Chemistry, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, UK*. 21(9-10), p. 547-557.
- [40] JANDERA, Pavel. (2011). *Atomová a moleulová spektroskopie*. Univerzita Pardubice. 206 s. ISBN 978-80-7395-392-8.
- [41] SPARKMAN, David. (2000). *Mass spectrometry desk reference*. Pittsburgh: Global View Pub. 168 s. ISBN 978-0-9660813-2-9.

- [42] KRONE, Nils. HUGHES, Beverly. LAVERY, Gareth. STEWART, Paul. ARLT, Wiebke. SHACKLETON, Cedric. (2010). Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 121(3-5), p. 496-504.
- [43] Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Information. In: *ThermoFischer Scientific*. [online]. 2012. [cit. 2020-12-03]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/industrial/mass-spectrometry/mass-spectrometry-learning-center/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms-information.html>.
- [44] JONES, Michael. (2019). Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *American Chemical Society*. 1(1), p. 204-207.
- [45] RAYNIE, Douglas. (2006). Modern Extraction Techniques. *Analytical Chemistry*, 78(12), p. 3997–4004.
- [46] OPEKAR, František. JELÍNEK, Ivan. RYCHLOVSKÝ, Petr. PLZÁK, Zbyněk. (2001). *Základy analytické chemie*. Univerzita Karlova v Praze. 204 s. ISBN 9788024617756.
- [47] TIWARI, Brijesh. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 71, p. 100-109.
- [48] WU, Jianyong. LIN, Lidong. CHAU, Foo-Tim. (2001). Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochemistry*. 8(4), p. 347-352.
- [49] PICÓ, Yolanda. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 43(1), p. 84-99.
- [50] ROSTAGNO, Mauricio. PRADO, Juliana. (2013). *Natural Product Extraction: Principles and Applications*. RSC Publishing. 236 s. ISBN 978-1-84973-606-0.
- [51] ROSTAGNO, Mauricio. CARMELO, Miguel. BARROSO, George. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*. 1012(2), p. 119-128.
- [52] CARRERA, Ceferino. RUIZ-RODRIGUEZ, Ana. PALMA, Miguel. BARROSO, Carmelo. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*. 732(1), p. 100-104.

- [53] Ultrazvuková extrakce z rostlin. In: *Pragolab.cz*. [online]. 2020. [cit. 2020-11-26]. Dostupné z: <https://www.pragolab.cz/ultrazvukova-extrakce-z-rostlin>.
- [54] Ultrasonic Extraction and its Working Principle. In: *Hielscher.com*. [online]. 1999. [cit. 2020-12-03]. Dostupné z <https://www.hielscher.com/ultrasonic-extraction-and-its-working-principle.htm>.
- [55] ESCLAPEZ, Martin, Dave. GARCÍA-PÉREZ, John. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*. 3(108), p. 126-132.
- [56] CHEMAT, Farid. HUMA, Zille. KHAN, Muhammed. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(4), p. 813-835.
- [57] LYKOGIANNI, Maira. BEMPELOU, Eleftheria. KARAMAOUNA, Filitsa. ALIFERIS, Konstantinos. (2021). Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. *Science of The Total Environment*. 795 (15), p. 148-162.
- [58] AYDIN, Mehmet, Emin. OZCAN, Senar. (2006). Ultrasonic Solvent Extraction of Organochlorine Pesticides from Soil. *Analytica Chimica Acta*. 559(2), p.173-180.
- [59] GONCALVES, Carter. ALPEDURADA, Michael, Frank. (2005). Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spektrometry. *Talanta*. 65(5), p.1179-1189.
- [60] LOZOWICKA, Božena. RUTKOWSKA, Ewa. JANKOWSKA, Magdalena. (2017). Influence of QuEChERS modifications on recovery and matrix effect during the multi-residue pesticide analysis in soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 24, p. 7124–7138.
- [61] PROFUMO, Antonella. GOIRGIO, Alessandra, Guarnieri. MELLERIO, Giacomo. CUCCA, Lucia. MERLI, Daniele. (2020). GC-MS qualitative analysis of the volatile, semivolatile and volatilizable fractions of soil evidence for forensic application: A chemical fingerprinting. *Talanta*. 219 (1), p. 121-134.
- [62] SAHOO, Sanjay, Kumar. MANDAL, Kousik. KUMAR, Rajinder. SINGH, Balwinder. (2014). Analysis of Fluopicolide and Propamocarb Residues on Tomato and Soil Sample Preparation Method in Combination with GLC and GCMS. *Food Anal. Methods*. 7, p. 1032–1042.

- [63] MIHAJLOVIC, Ivana. MILORADOV, Mirjana, Vojinovic. FRIES, Elke. (2011). Application of Twisselmann Extraction, SPME, and GC-MS To Assess Input Sources for Organophosphate Esters into Soil. *Environmental Science Technology*. 45(6), p. 2264–2269.
- [64] SÁ, Luísa, Correia. FERNANDES, Virgínia, Cruz. CALHAU, Conceição. DOMINGUES, Valentina, Fernandes. MATOS, Cristina, Delerue. (2012). Determination of organochloride pesticides in agricultural soils applying quechers, gc-ms/ms. *Geral*. 35(2), p.329-336.
- [65] SANCHEZ-BRUNETE, Consuelo. ALBERO, Beatriz. TADEO, José. (2004). Multiresidue Determination of Pesticides in Soil by Gas Chromatography–Mass Spectrometry Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(6), p. 1445-1451.
- [66] CHAI, Lian-Kuet. FATIMAH, Elie. JINANG, Christine. (2014). Determination of 24 pesticides residues in mineral and peat soils by modified QuEChERS method and gas chromatography. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 94 (5), p. 519-530.
- [67] CHENG, Zhipeng. DONG, Fengshou. XU, Jun. LUI, Xingang. WU, Xiaohu. CHEN, Zenglong. PAN, Xinglu. ZHEN, Yongguan. (2016). Atmospheric pressure gas chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry for simultaneous determination of fifteen organochlorine pesticides in soil and water. *Journal of Chromatography A*. 1435(1), p. 115-124.
- [68] SULTANA, Jawairia. SVED, Jabir. MAHMOOD, Adeel. ALI, Usman. YASIR, Muhammad. REHMAN, Abdur. MALIK, Naseem. LI, Jun. ZHANG, Gan. (2014). Investigation of organochlorine pesticides from the Indus Basin, Pakistan: Sources, air–soil exchange fluxes and risk assessment. *Science of The Total Environment*. 498(1), p. 113-122.
- [69] RAFIGUE, Nazia. TARIG, Saadia. AHMED, Dildar. (2016). Monitoring and distribution patterns of pesticide residues in soil from cotton/wheat fields of Pakistan. *Environmental Monitoring and Assessment*. 188(1), p. 695-699.
- [70] ANDRADE-HERRERA, Moises. ESCALONA-SEGURA, Griselda. GONZÁLES-JAUREGUI, Mauricio. HURTADO, Rafael. VARGAS-CONTRERAS, Jorge. RENDÓN – VON OSTEN, Jaime. (2019). Presence of Pesticides and Toxicity Assessment of Agricultural Soils in the Quintana Roo Mayan Zone, Mexico Using Biomarkers in Earthworms (*Eisenia fetida*). *Water, Air, & Soil Pollution*. 230(59), p. 508-514.

- [71] YANG, Xiaoxia. SONG, Yufang. KAI, Jianrong. CAO, Xiufeng. (2012). Enzymatic biomarkers of earthworms *Eisenia fetida* in response to individual and combined cadmium and pyrene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 86, p. 162–167.
- [72] O' HALLORAN, Kathryn. (2007). Toxicological Considerations of Contaminants in the Terrestrial Environment for Ecological Risk Assessment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* . 12(1), p. 74-83.
- [73] REDDY, Chakra. RAO, Venkateswara. (2008). Biological response of earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) to an organophosphorous pesticide, profenofos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71(2), p. 574-582.
- [74] VALVERDE, Mar, García. BUENO, María, Jesús. GÓMEZ-RAMOS, María. GALLIANO, Francisco, José. ALBA, Amadeo. (2021). Validation of a quick and easy extraction method for the determination of emerging contaminants and pesticide residues in agricultural soils. *MethodsX*. 8(1), p. 101-129.
- [75] GUAN, Jin. LI, Dongjing. GUO, Yiguang. SHI, Shuang. YAN, Feng. (2018). Simultaneous determination of seven pesticide residues in soil samples using ultrasound-assisted dispersive solid-phase extraction combined with GC–MS/MS. *SSC Plus*. 1(4), p. 296-305.
- [76] PUSKÁS, Irén. FARSANG, Andrea. CSÉPE, Zoltán. BARTUS, Máté. (2013). Heavy metal exposure and risk characterization of topsoils in urban playgrounds and parks. *Geophysical Research Abstracts*. 16(1), p. 98-103.
- [77] SAPCAIN, Aida. CAKAL, Mirsada. OMAMOVIC, Belma. SALIHOVIC, Mirsada. PEHLIC, Ekrem. JACIMOVIC, Zeljko. JANCAN, Gordan. (2016). Herbicide and pesticide occurrence in the soils of children's playgrounds in Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. *Environmental Monitoring and Assessment*. 450 (188), 265-282.
- [78] XIAOJUAN, Song. XIRAN, He. MINGMING, Yin. YANYAN, Wan. (2018). Determination of organochlorine and organophosphorus pesticides in soil by gas chromatography-tandem mass spectrometry with accelerated solvent extraction. *Chinese Journal of chromatography*. 36(10), p. 1038-1044.
- [79] YANEVA, Spaska. MLADENOV, Metodi. (2020). Analytical Determination of organochlorine pesticides in soil and foods. *Agricultural Science*. 75(2), p. 313-320.

- [80] Směrnice Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 128/2009. [online]. In: *Eur-lex.europa*. 2009. [cit. 2022-8-26]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32009L0128>.
- [81] SOARES, Camil. NEVES, Antony. QUEIROZ, Martin. OLIVEIRA, Anna. COSTAET, Albert. (2015). Determination of pesticides in soil using a hyphenated extraction technique. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 26(9), p .1790-1797.
- [82] SUCHÁNEK, Miroslav. MILDE, David. (2015). *Kvalimetrie: 20. Vhodnost analytických metod pro daný účel*. 2.vydání. Praha: EURACHEM-ČR. 145 s. ISBN 978-80-86322-00-1.
- [83] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005. In: *Eur-lex.europa*. [online]. 2005. [cit. 2022-08-20]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32005R0396>.
- [84] Vyhláška č. 153/2016 Sb. In: *Zákony pro lidi*. [online]. 2016. [cit. 2022-9-9]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-153>.
- [85] Vyhláška č. 13/1994 Sb. In: *Zákony pro lidi*. [online]. 1994. [cit. 2022-9-9]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1994-13>.
- [86] CREMLYN, Richard. (1985). *Pesticidy*. SNTL-Nakladatelství technické literatury. 365 s. ISBN 04-625-85.
- [87] LÜLLMANN, Heinz. MOHR, Klaus. WEHLING, Martin. (2004). *Farmakologie a toxikologie*. Praha: Grada. 534 s. ISBN 8024708361.
- [88] ŠUTA, Miroslav. (2008). *Chemické látky v životním prostředí a zdraví*. Ekologický institut Veronica. 234 s. ISBN 978-80-87308-00-4.
- [89] VÉBER, Karel. KREDL, František. (1991). *Polychlorované bifenyly v biosféře, zejména ve vodách a některých vodních organismech*. 253 s. Academia. ISBN 8020003614.

SEZNAM PŘÍLOH

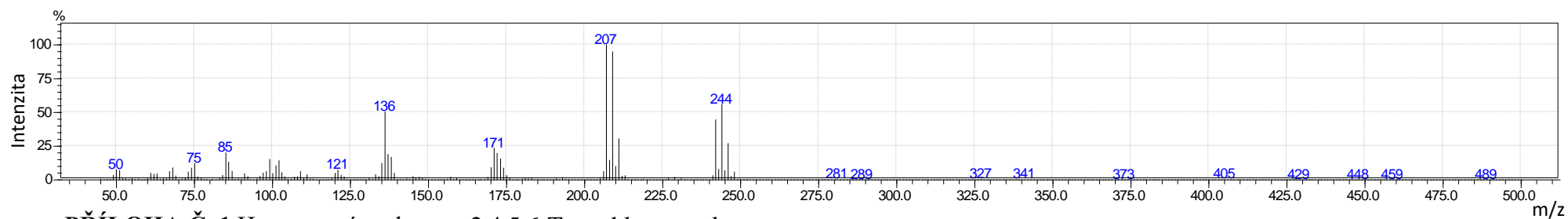
PŘÍLOHA Č. 1 Hmotnostní spektrum - 2,4,5,6-Tetrachlor- <i>m</i> -xylen.....	98
PŘÍLOHA Č. 2 Hmotnostní spektrum- α BHC.....	98
PŘÍLOHA Č. 3 Hmotnostní spektrum- β BHC.....	99
PŘÍLOHA Č. 4 Hmotnostní spektrum-Lindan.....	99
PŘÍLOHA Č. 5 Hmotnostní spektrum- δ BHC.....	99
PŘÍLOHA Č. 6 Hmotnostní spektrum-Heptachlor.....	100
PŘÍLOHA Č. 7 Hmotnostní spektrum-Aldrin.....	100
PŘÍLOHA Č. 8 Hmotnostní spektrum-Heptachloreoxid.....	100
PŘÍLOHA Č. 9 Hmotnostní spektrum- γ Chlordan.....	101
PŘÍLOHA Č. 10 Hmotnostní spektrum-Endosulfan I.....	101
PŘÍLOHA Č. 11 Hmotnostní spektrum α Chlordan.....	101
PŘÍLOHA Č. 12 Hmotnostní spektrum-4,4' DDE.....	102
PŘÍLOHA Č. 13 Hmotnostní spektrum-Dieldrin.....	102
PŘÍLOHA Č. 14 Hmotnostní spektrum-Endrin.....	102
PŘÍLOHA Č. 15 Hmotnostní spektrum-Endosulfan II.....	103
PŘÍLOHA Č. 16 Hmotnostní spektrum-4,4' DDD.....	103
PŘÍLOHA Č. 17 Hmotnostní spektrum-Endrin aldehyd.....	103
PŘÍLOHA Č. 18 Hmotnostní spektrum-Endosulfan sulfát.....	104
PŘÍLOHA Č. 19 Hmotnostní spektrum-4,4' DDT.....	104
PŘÍLOHA Č. 20 Hmotnostní spektrum-Endrin keton.....	104
PŘÍLOHA Č. 21 Hmotnostní spektrum-Metoxychlor.....	105
PŘÍLOHA Č. 22 Hmotnostní spektrum-Dekachlorbifenyl.....	105
PŘÍLOHA Č. 23 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- 2,4,5,6 Tetrachlor- <i>m</i> -xylen.....	106

PŘÍLOHA Č. 24 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- α BHC.....	106
PŘÍLOHA Č. 25 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- β BHC.....	107
PŘÍLOHA Č. 26 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Lindan.....	107
PŘÍLOHA Č. 27 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- δ BHC.....	108
PŘÍLOHA Č. 28 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Heptachlor.....	108
PŘÍLOHA Č. 29 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Aldrin.....	109
PŘÍLOHA Č. 30 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Heptachloreoxid.....	109
PŘÍLOHA Č. 31 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- γ Chlordan.....	110
PŘÍLOHA Č. 32 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endosulfan I.....	110
PŘÍLOHA Č. 33 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- α Chlordan.....	111
PŘÍLOHA Č. 34 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDE.....	111
PŘÍLOHA Č. 35 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Dieldrin.....	112
PŘÍLOHA Č. 36 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin.....	112
PŘÍLOHA Č. 37 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endosulfan II.....	113

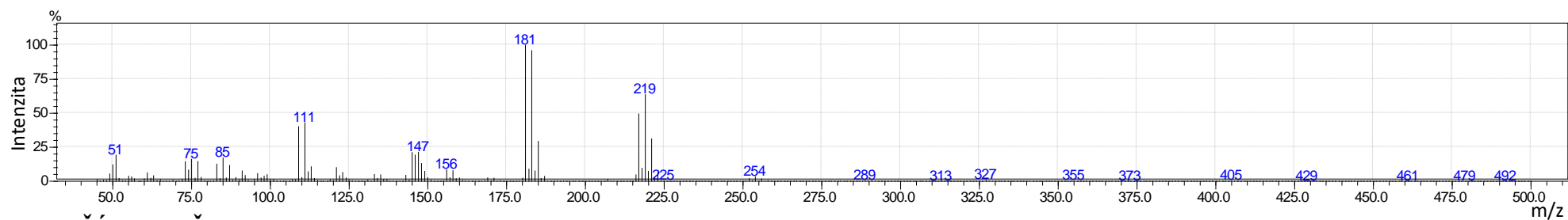
PŘÍLOHA Č. 38 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDD.....	113
PŘÍLOHA Č. 39 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin aldehyd.....	114
PŘÍLOHA Č. 40 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endosulfan sulfát.....	114
PŘÍLOHA Č. 41 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDT.....	115
PŘÍLOHA Č. 42 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin keton.....	115
PŘÍLOHA Č. 43 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Metoxychlor.....	116
PŘÍLOHA Č. 44 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Dekachlorbifenyl.....	116
PŘÍLOHA Č. 45 Kalibrační přímka pro α BHC.....	117
PŘÍLOHA Č. 46 Kalibrační přímka pro β BHC.....	117
PŘÍLOHA Č. 47 Kalibrační přímka pro Lindan.....	117
PŘÍLOHA Č. 48 Kalibrační přímka pro δ BHC.....	118
PŘÍLOHA Č. 49 Kalibrační přímka pro Heptachlor.....	118
PŘÍLOHA Č. 50 Kalibrační přímka pro Aldrin.....	118
PŘÍLOHA Č. 51 Kalibrační přímka pro Heptachlorepoxid.....	119
PŘÍLOHA Č. 52 Kalibrační přímka pro γ Chlordan.....	119
PŘÍLOHA Č. 53 Kalibrační přímka pro Endosulfan I.....	119
PŘÍLOHA Č. 54 Kalibrační přímka pro α Chlordan.....	120
PŘÍLOHA Č. 55 Kalibrační přímka pro 4, 4 'DDE.....	120
PŘÍLOHA Č. 56 Kalibrační přímka pro Dieldrin.....	120
PŘÍLOHA Č. 57 Kalibrační přímka pro Endrin.....	121
PŘÍLOHA Č. 58 Kalibrační přímka pro Endosulfan II.....	121

PŘÍLOHA Č. 59 Kalibrační přímka pro 4,4'-DDD.....	121
PŘÍLOHA Č. 60 Kalibrační přímka pro Endrin aldehyd.....	122
PŘÍLOHA Č. 61 Kalibrační přímka pro Endosulfansulfát.....	122
PŘÍLOHA Č. 62 Kalibrační přímka pro 4,4'-DDT.....	122
PŘÍLOHA Č. 63 Kalibrační přímka pro Endrin keton.....	123
PŘÍLOHA Č. 64 Kalibrační přímka pro Metoxychlor.....	123
PŘÍLOHA Č. 65 Kalibrační přímka pro Dekachlorbifenyl.....	123

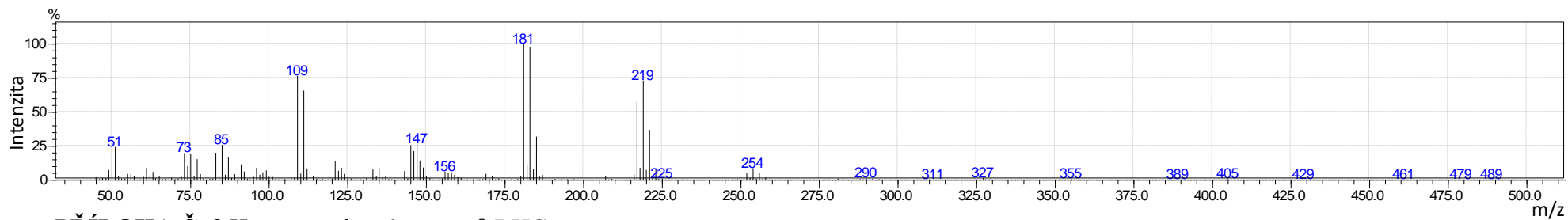
PŘÍLOHY



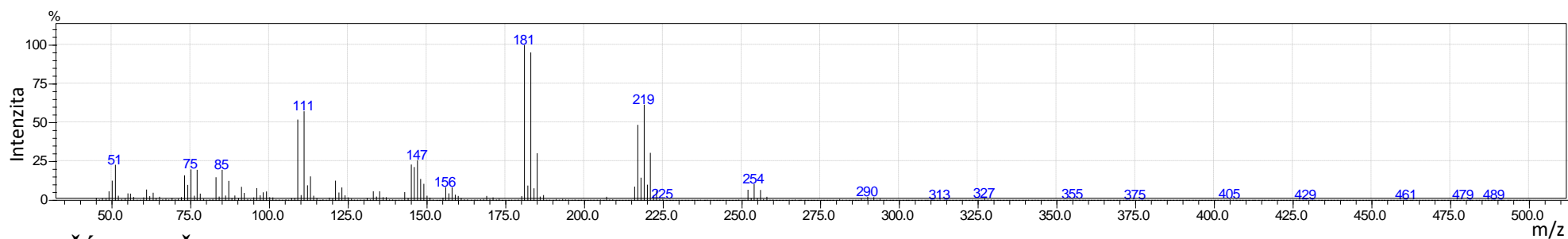
PŘÍLOHA Č. 1 Hmotnostní spektrum -2,4,5,6-Tetrachlor-*m*-xylen



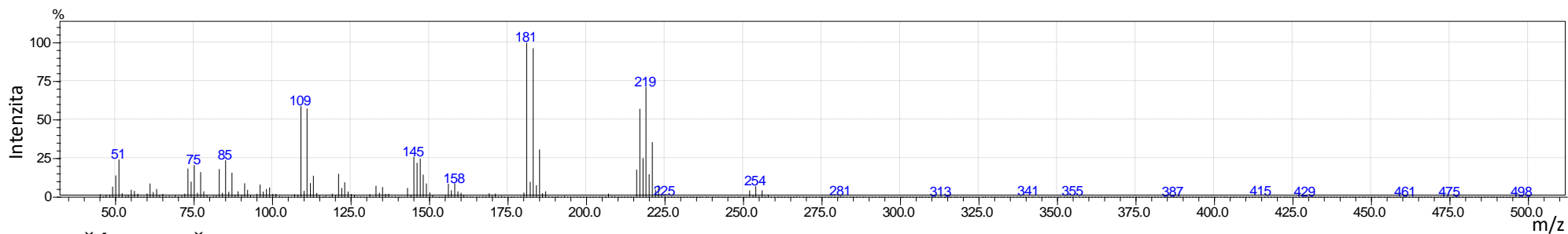
PŘÍLOHA Č. 2 Hmotnostní spektrum – α BHC



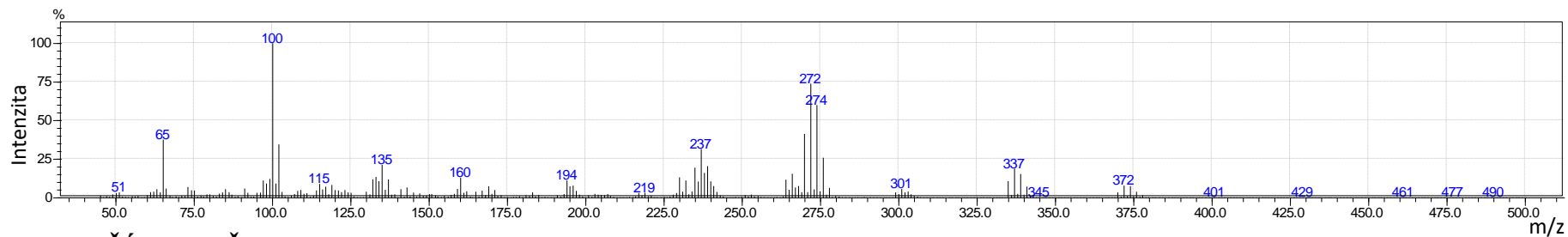
PŘÍLOHA Č. 3 Hmotnostní spektrum – β BHC



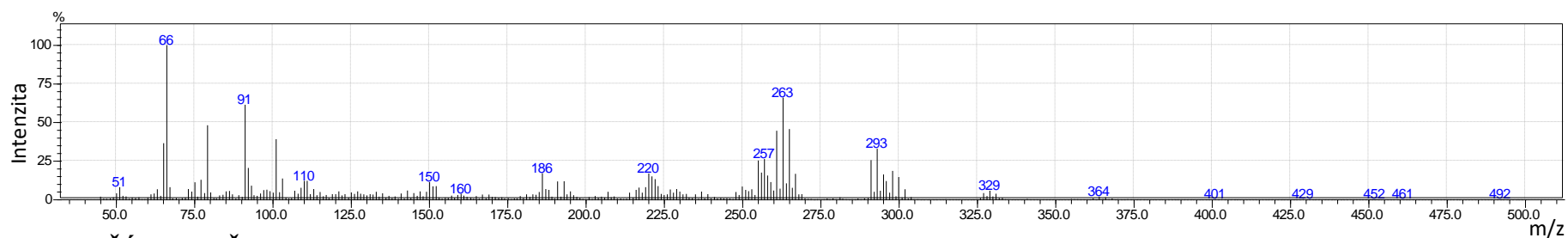
PŘÍLOHA Č. 4 Hmotnostní spektrum - Lindan



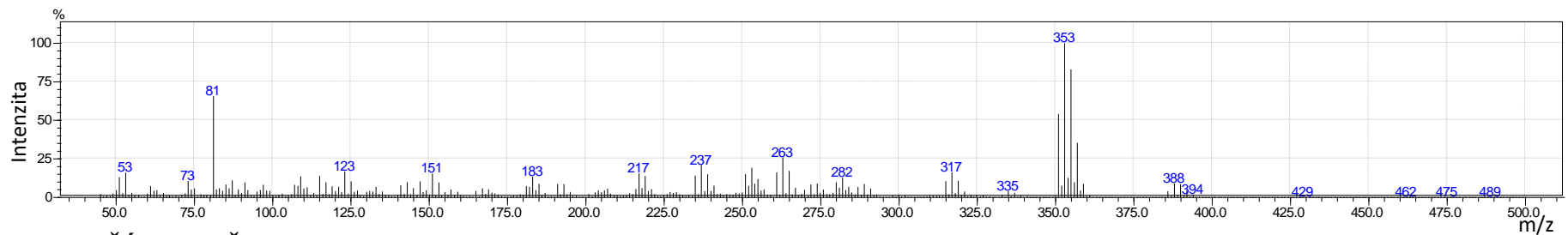
PŘÍLOHA Č. 5 Hmotnostní spektrum – δ BHC



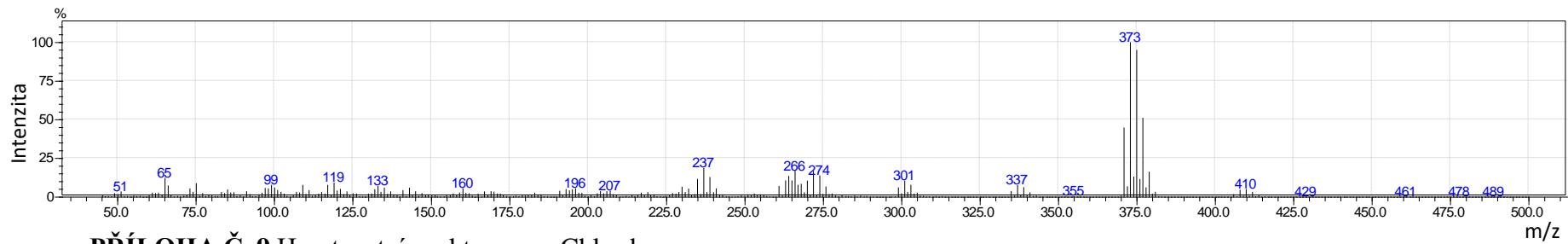
PŘÍLOHA Č. 6 Hmotnostní spektrum - Heptachlor



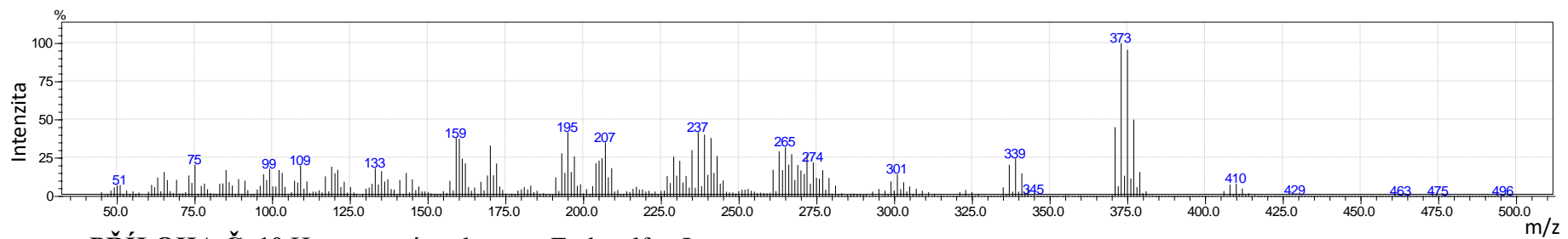
PŘÍLOHA Č. 7 Hmotnostní spektrum - Aldrin



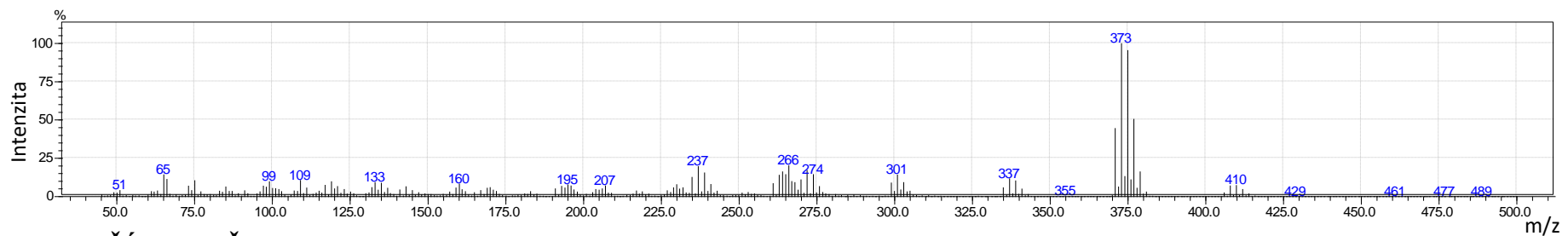
PŘÍLOHA Č. 8 Hmotnostní spektrum - Heptachlorepoxid



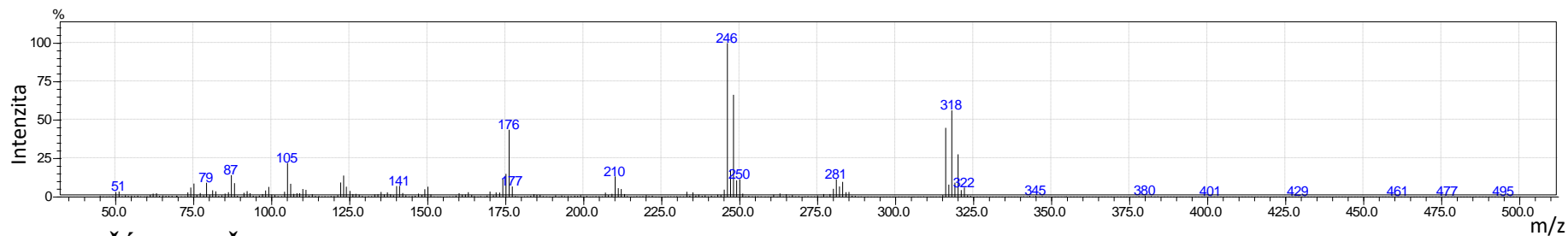
PŘÍLOHA Č. 9 Hmotnostní spektrum – γ Chlordan



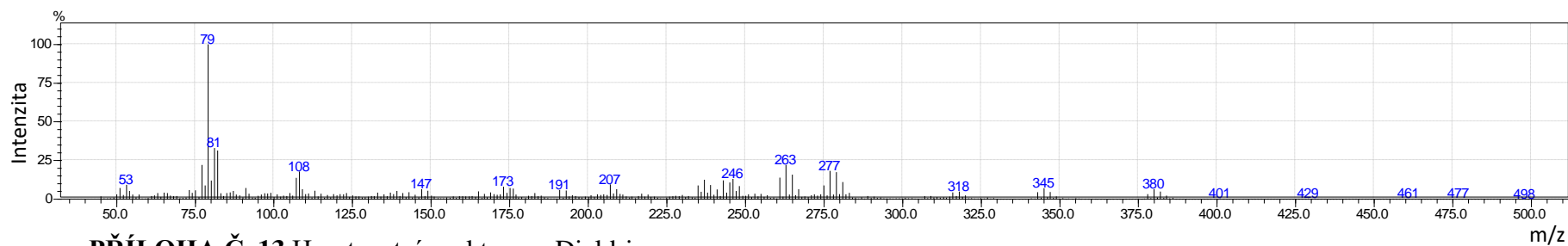
PŘÍLOHA Č. 10 Hmotnostní spektrum - Endosulfan I



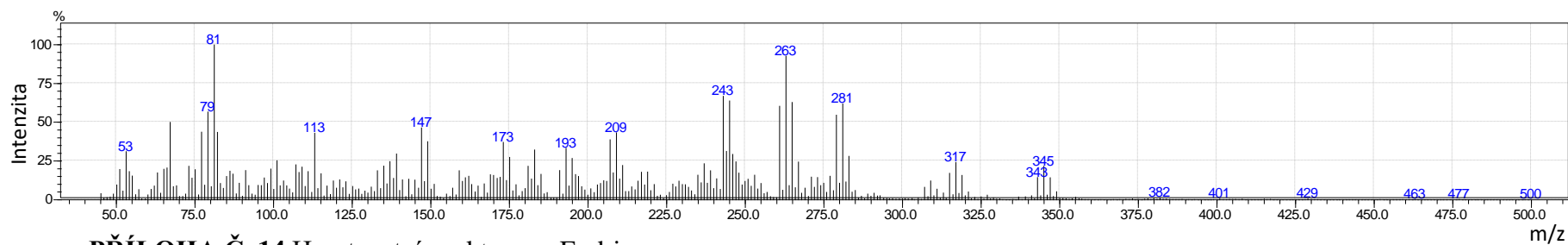
PŘÍLOHA Č. 11 Hmotnostní spektrum – α Chlordan



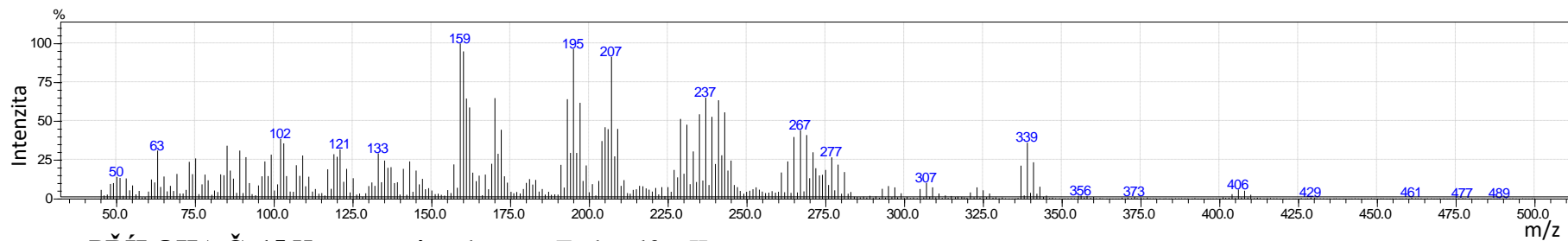
PŘÍLOHA Č. 12 Hmotnostní spektrum - 4,4' DDE



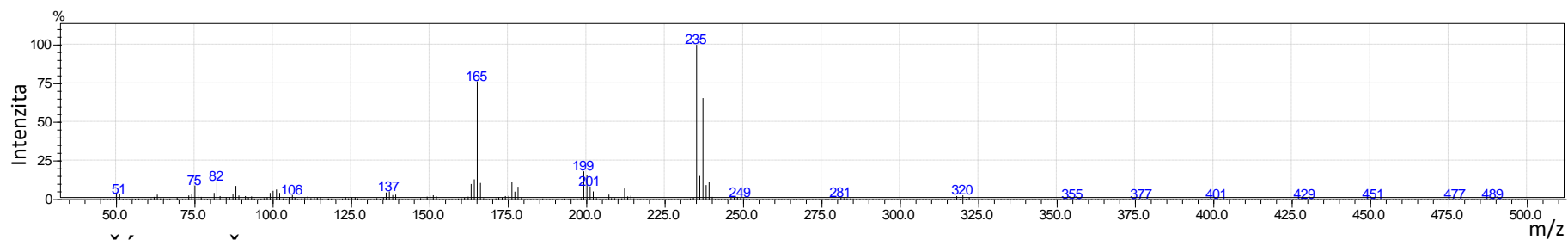
PŘÍLOHA Č. 13 Hmotnostní spektrum - Dieldrin



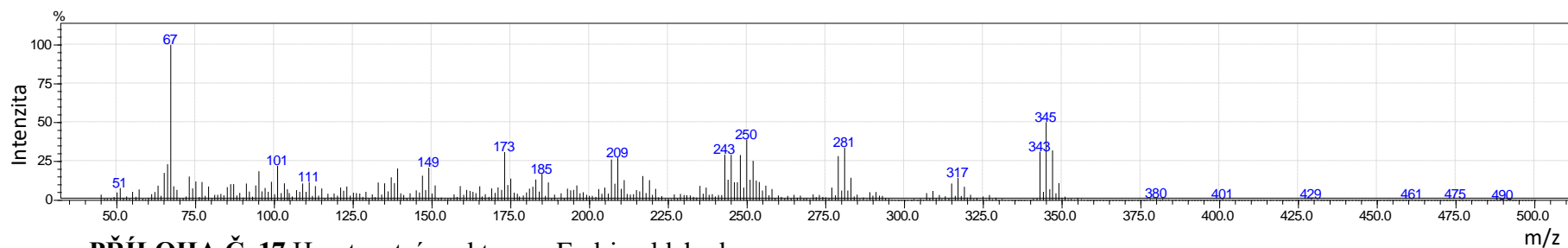
PŘÍLOHA Č. 14 Hmotnostní spektrum – Endrin



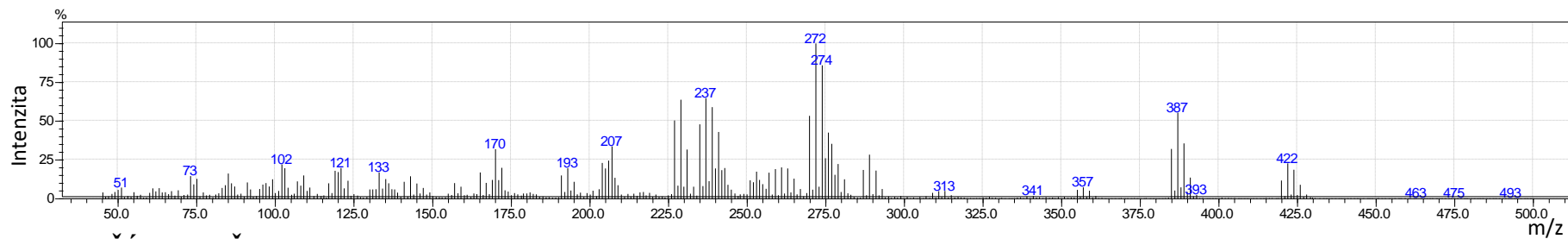
PŘÍLOHA Č. 15 Hmotnostní spektrum - Endosulfan II



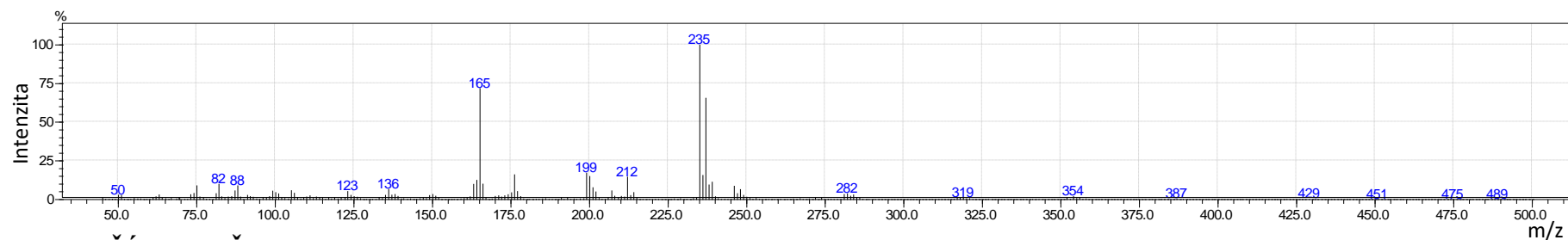
PŘÍLOHA Č. 16 Hmotnostní spektrum - 4,4' DDD



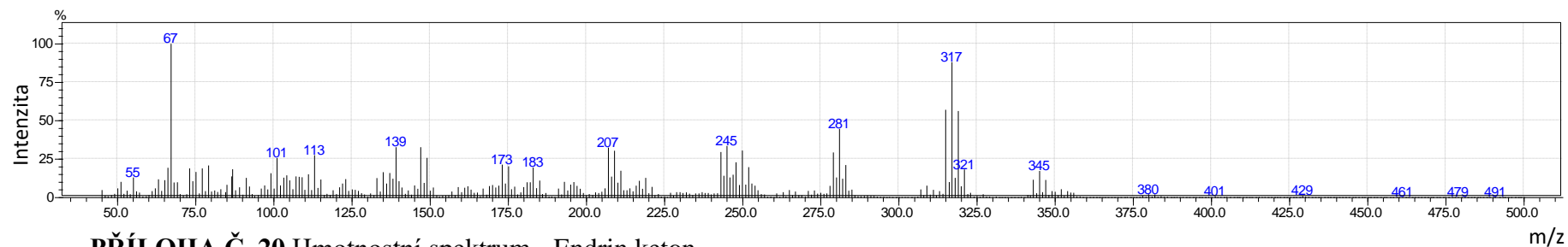
PŘÍLOHA Č. 17 Hmotnostní spektrum - Endrin aldehyd



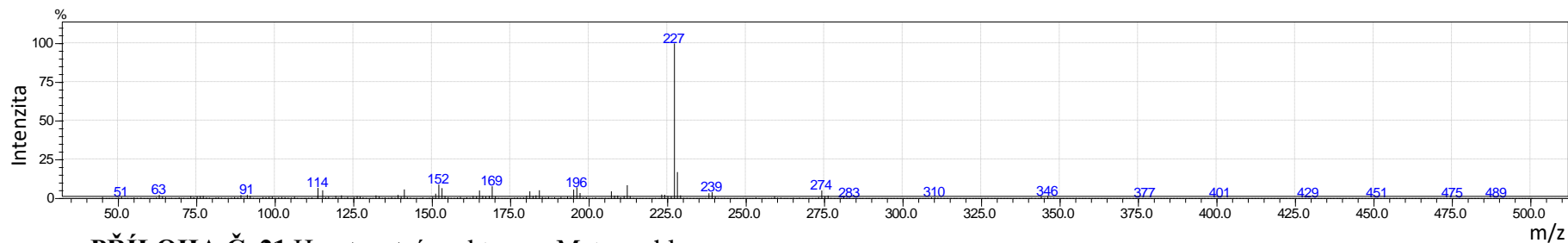
PŘÍLOHA Č. 18 Hmotnostní spektrum - Endosulfan sulfát



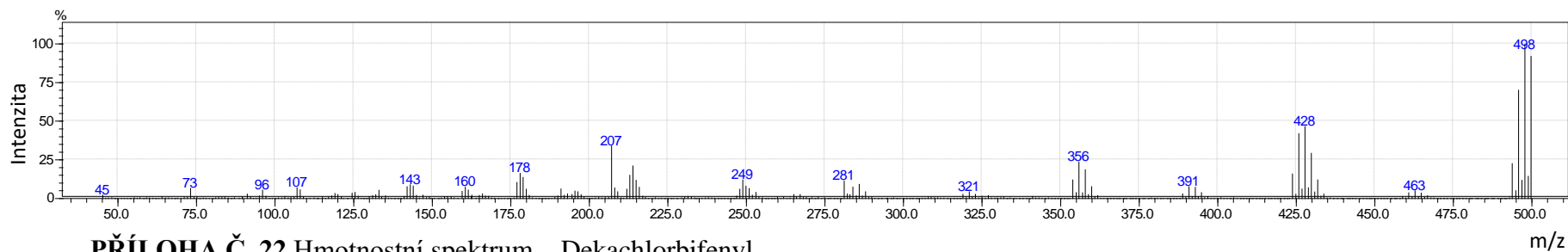
PŘÍLOHA Č. 19 Hmotnostní spektrum - 4,4' DDT



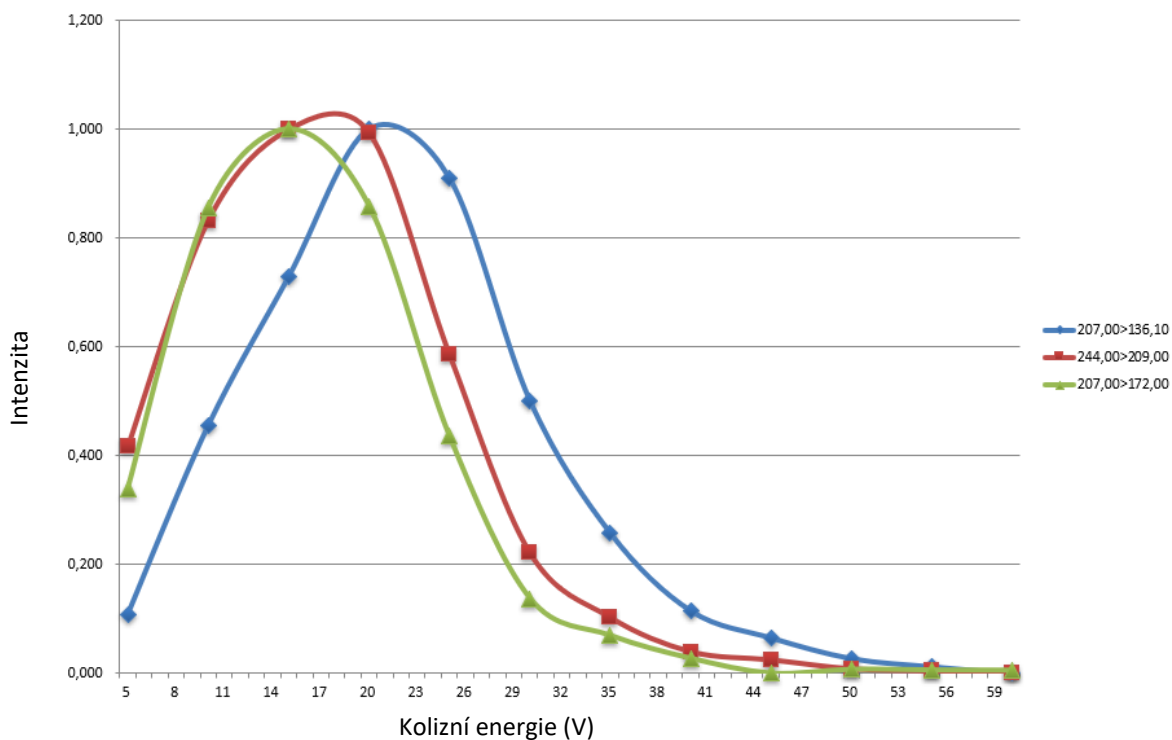
PŘÍLOHA Č. 20 Hmotnostní spektrum - Endrin keton



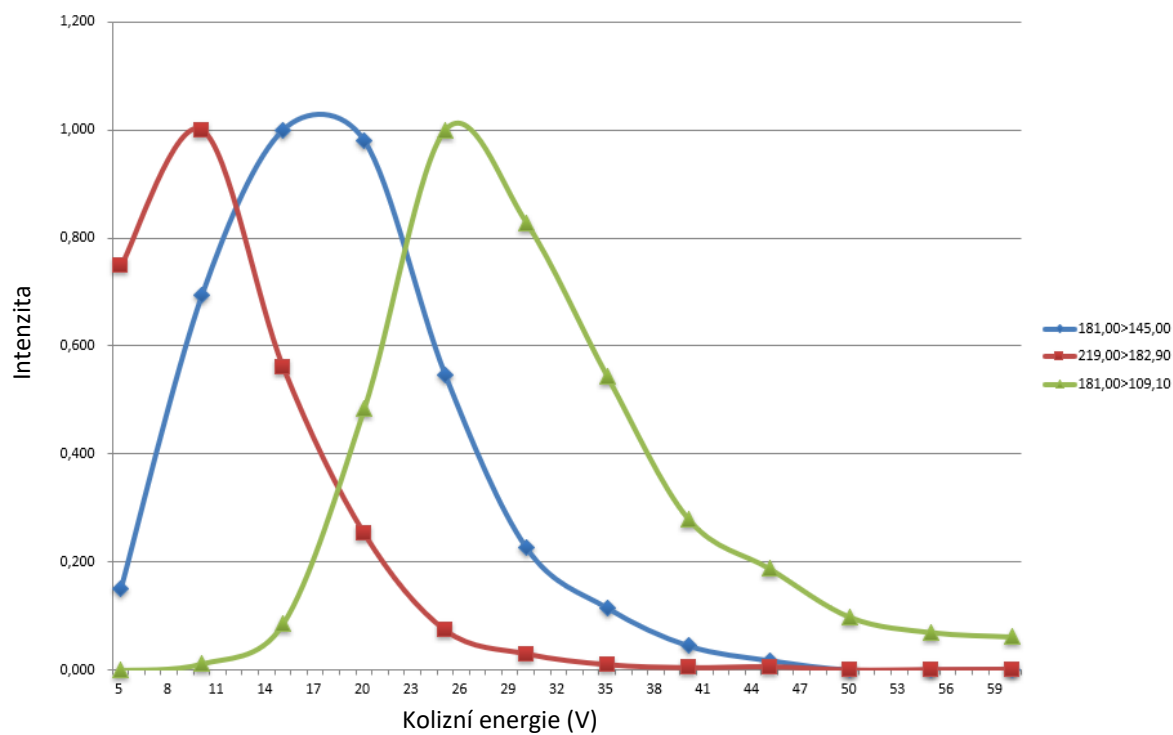
PŘÍLOHA Č. 21 Hmotnostní spektrum - Metoxychlor



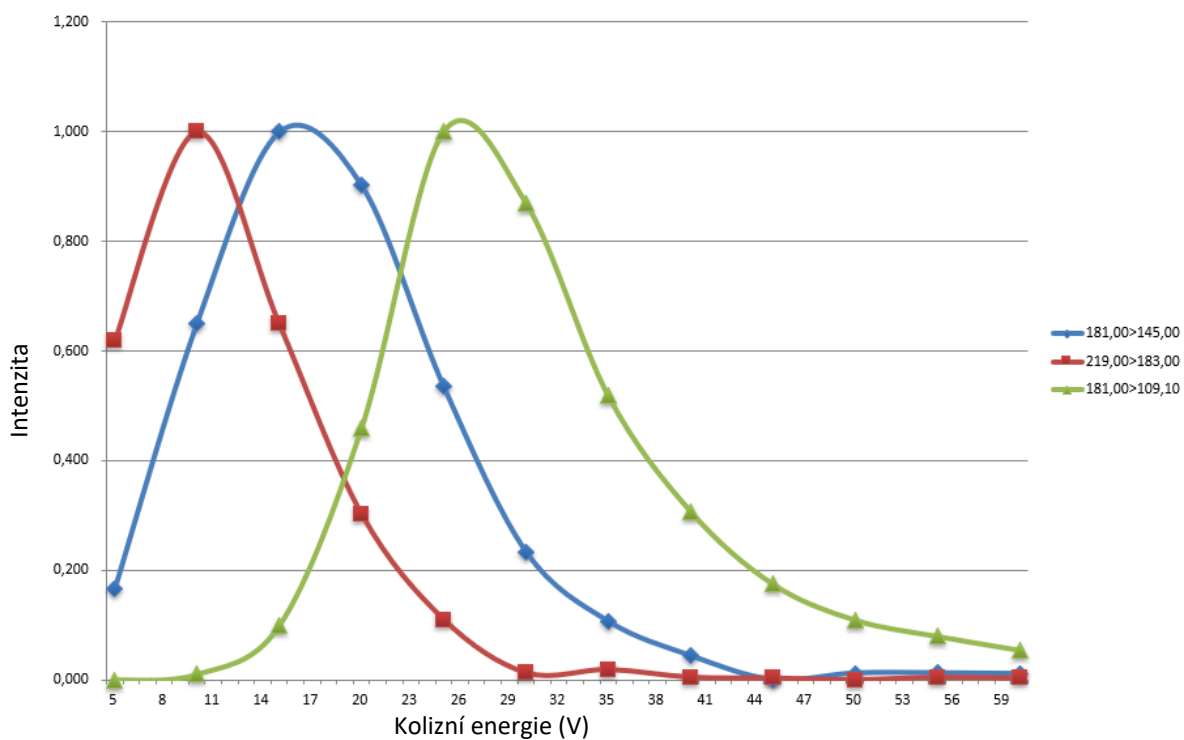
PŘÍLOHA Č. 22 Hmotnostní spektrum – Dekachlorbifenyl



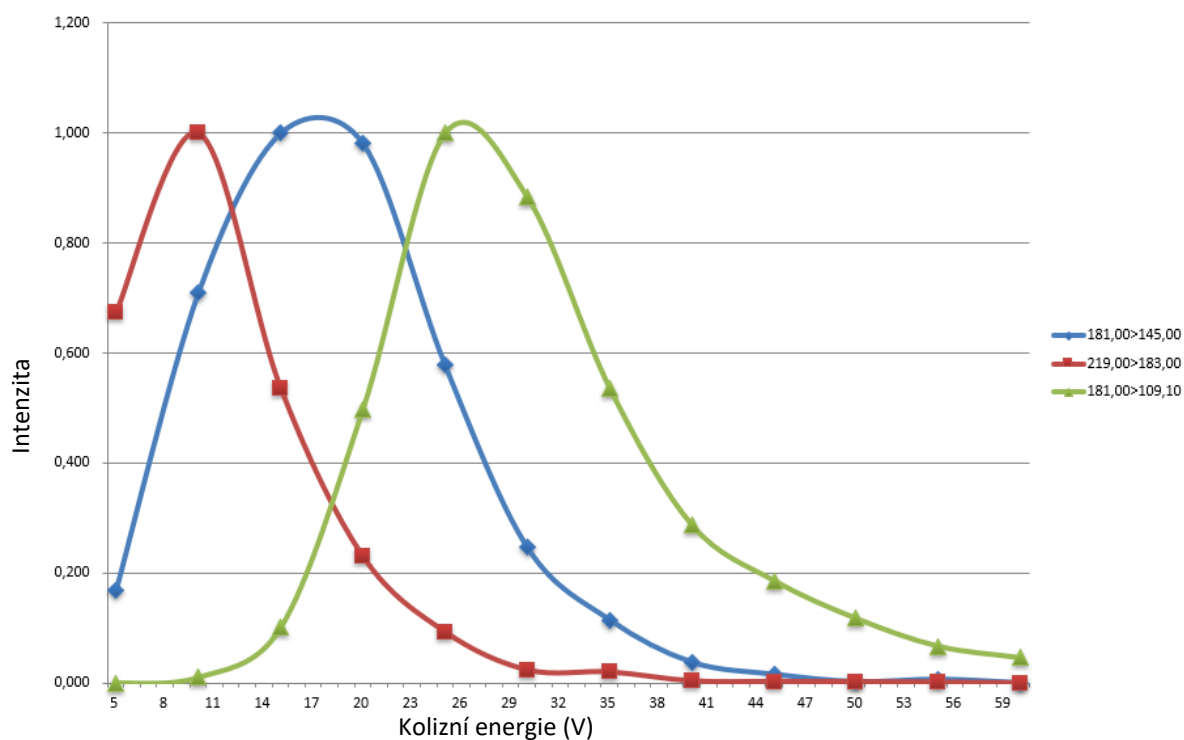
PŘÍLOHA Č. 23 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM - 2,4,5,6 Tetrachlor-*m*-xylen



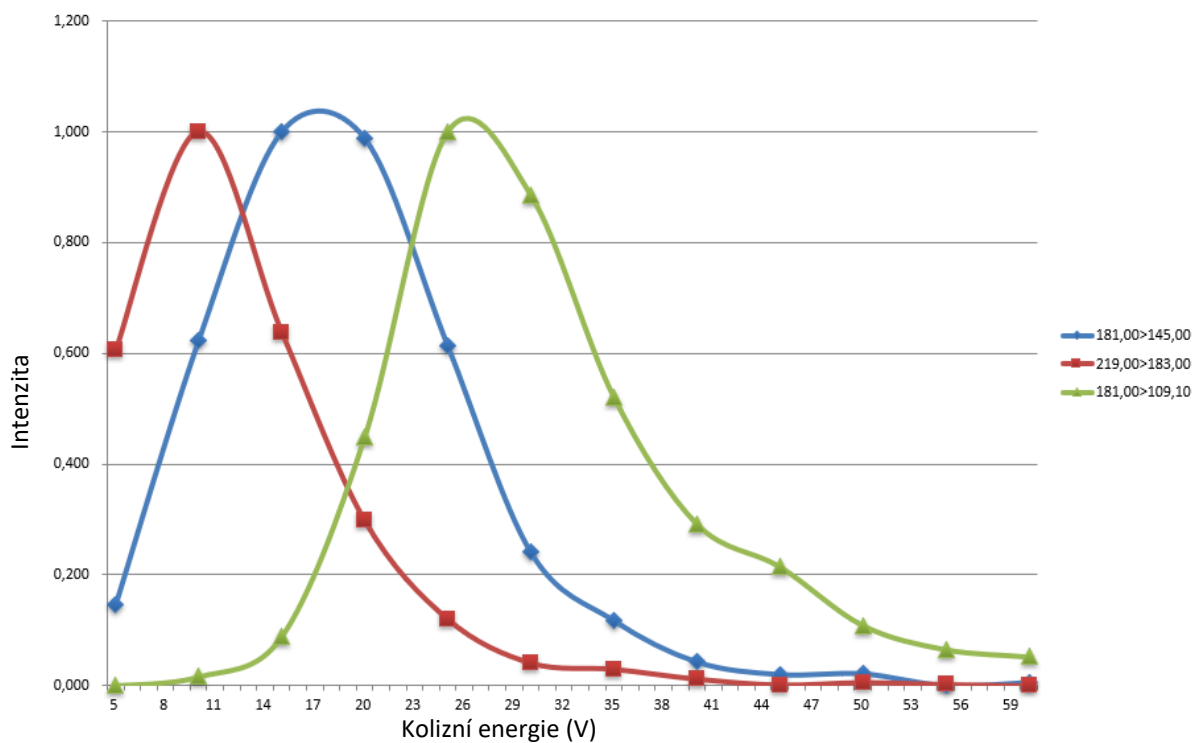
PŘÍLOHA Č. 24 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM – α BHC



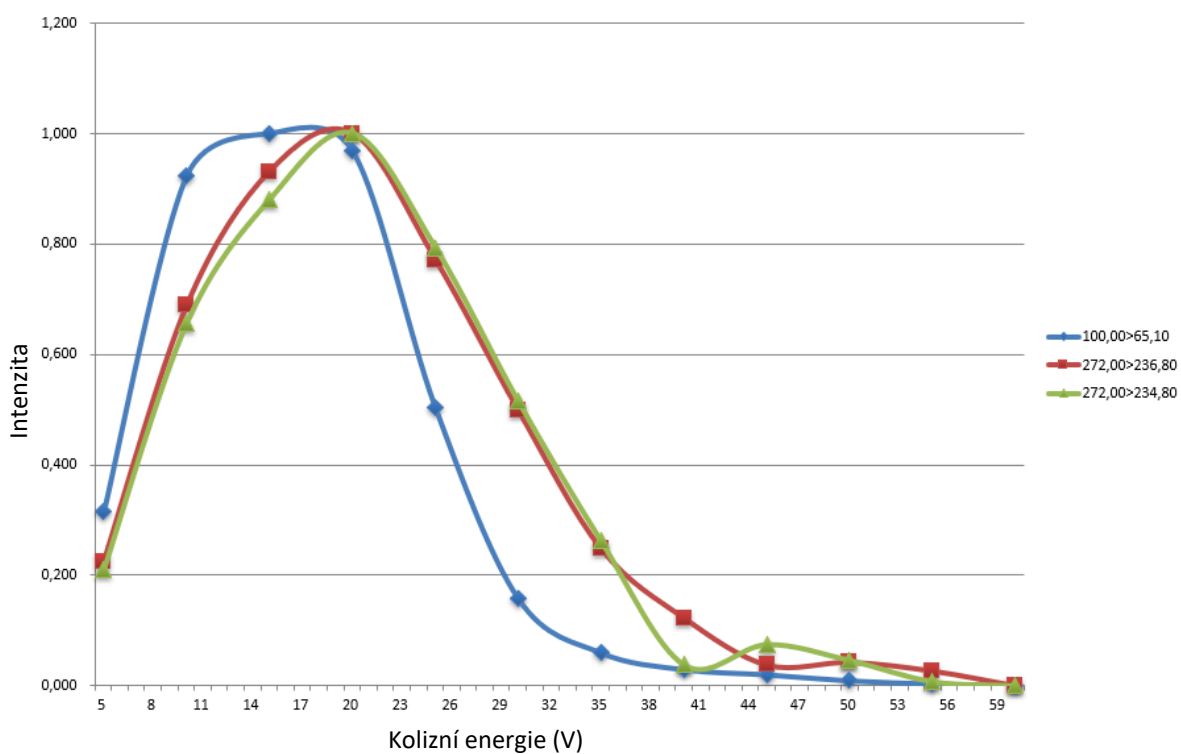
PŘÍLOHA Č. 25 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- β BHC



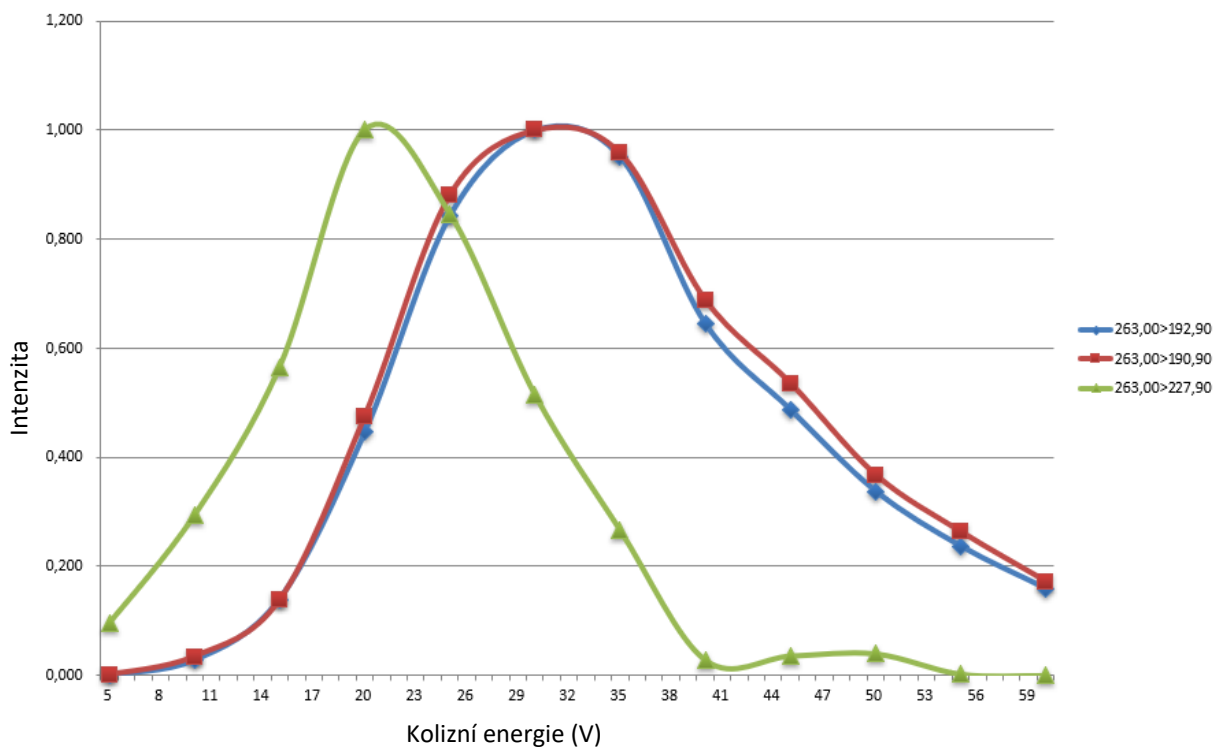
PŘÍLOHA Č. 26 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Lindan



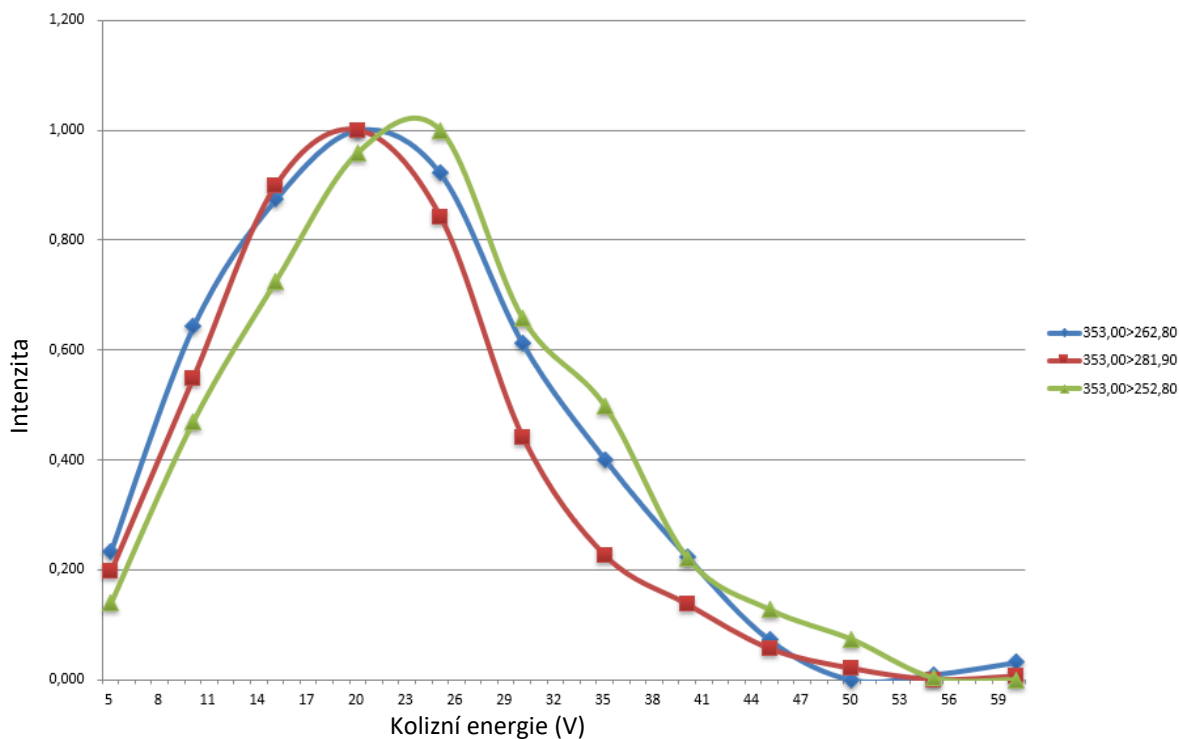
PŘÍLOHA Č. 27 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- δ BHC



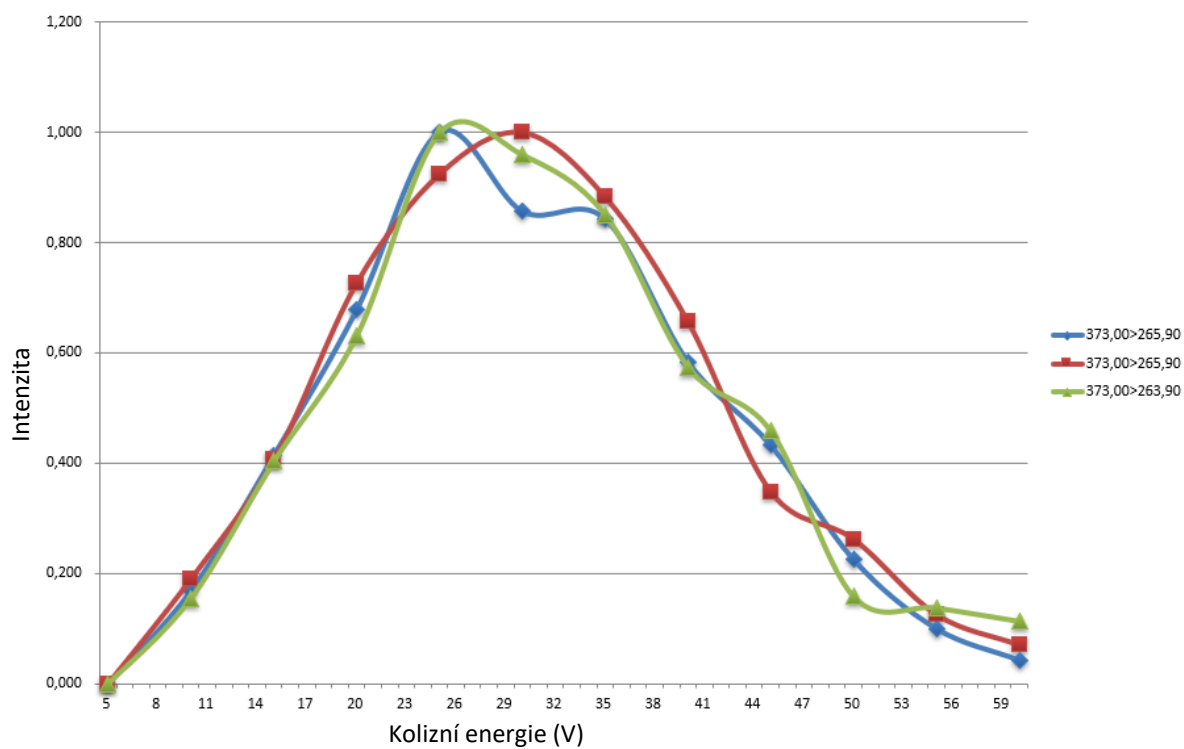
PŘÍLOHA Č. 28 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Heptachlor



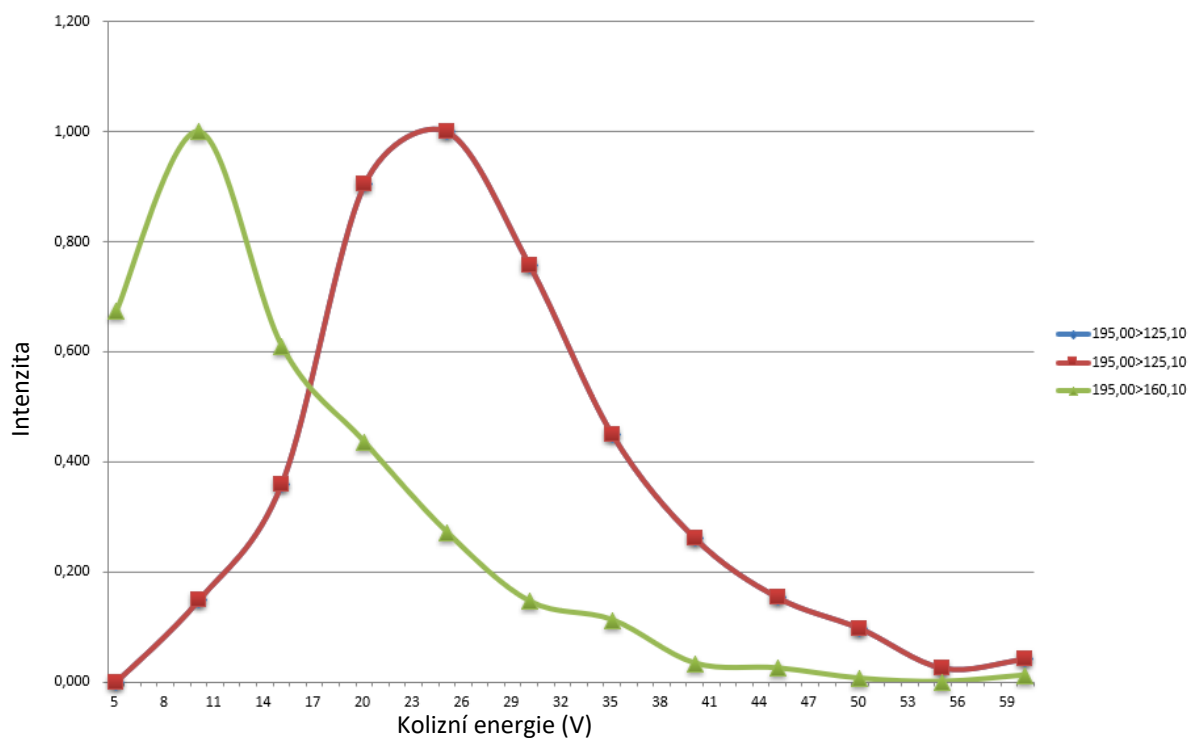
PŘÍLOHA Č. 29 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Aldrin



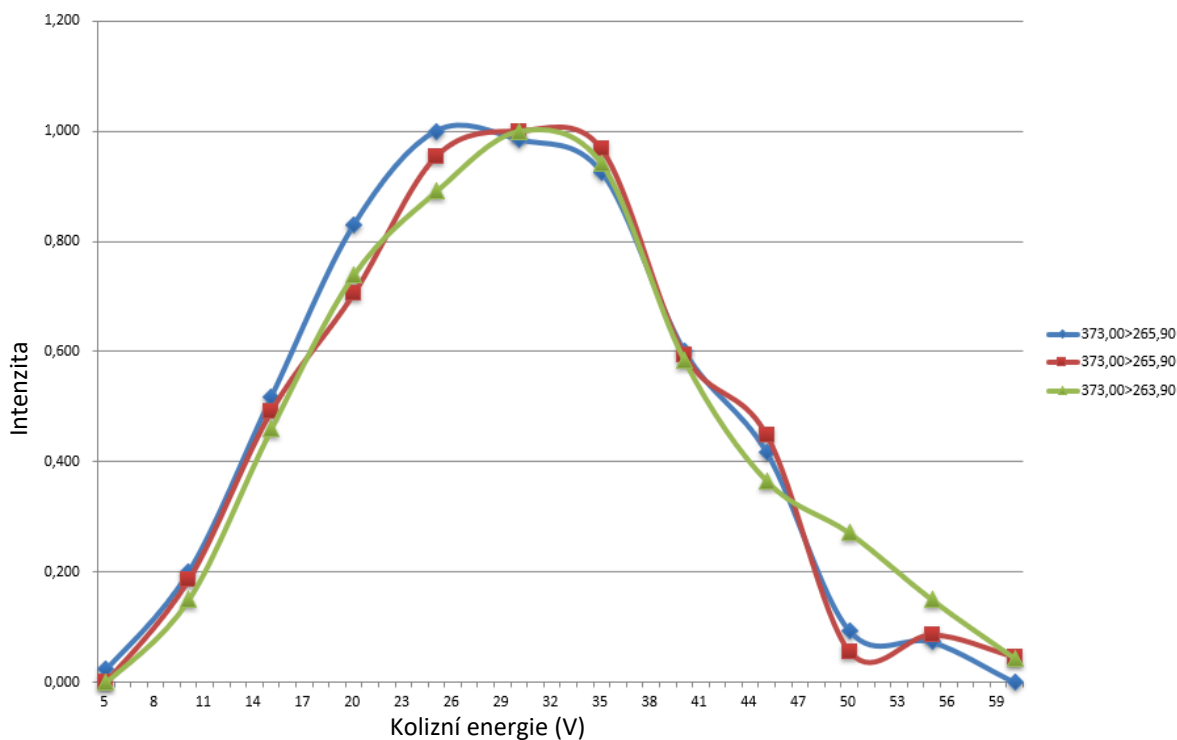
PŘÍLOHA Č. 30 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Heptachlorepid



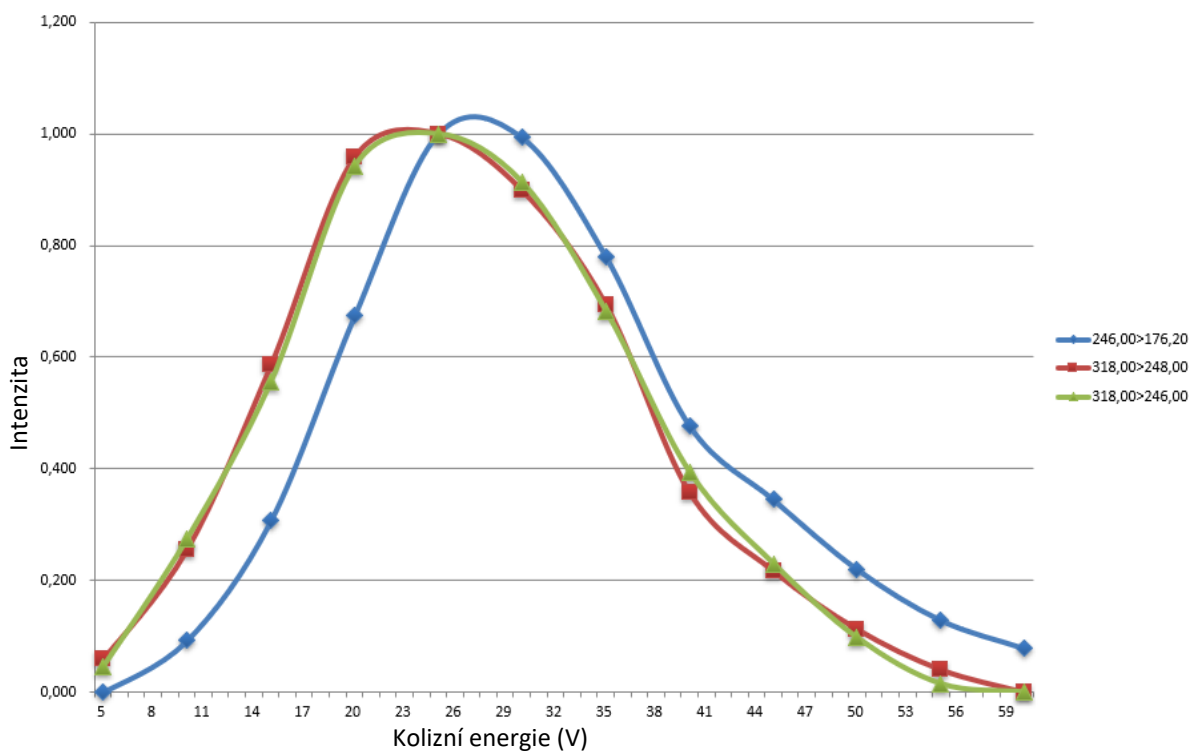
PŘÍLOHA Č. 31 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-
 γ Chlordan



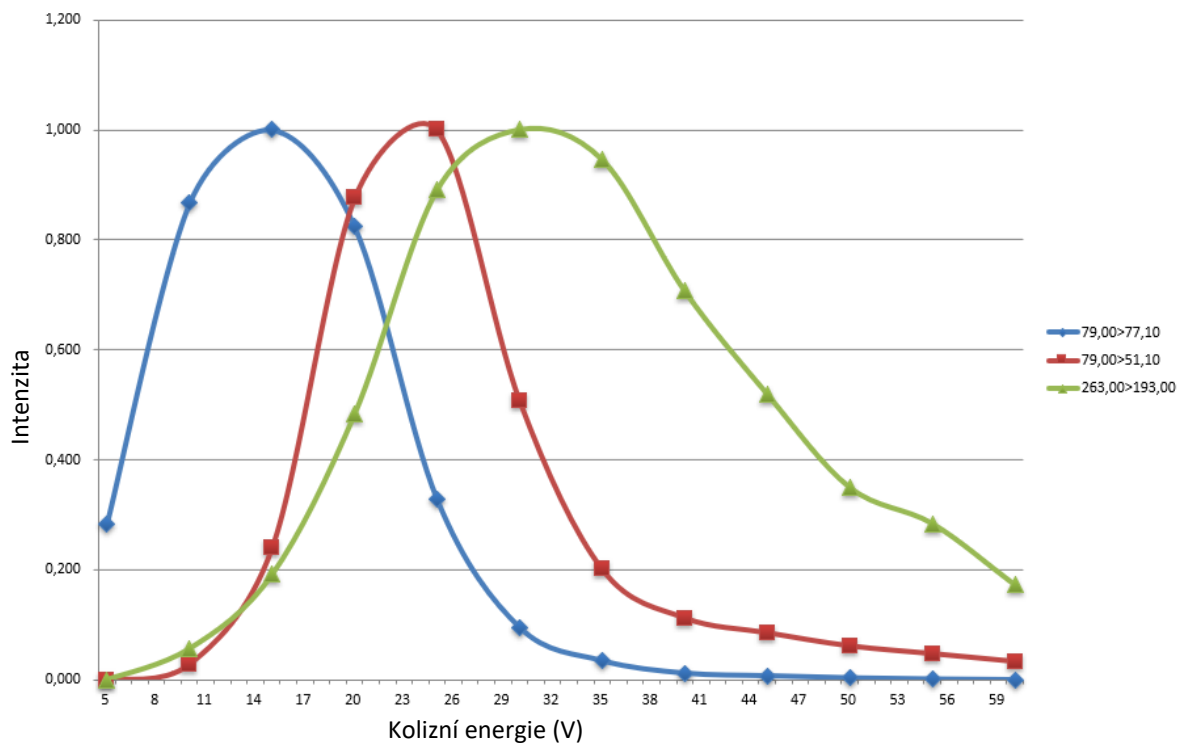
PŘÍLOHA Č. 32 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-
 Endosulfan I



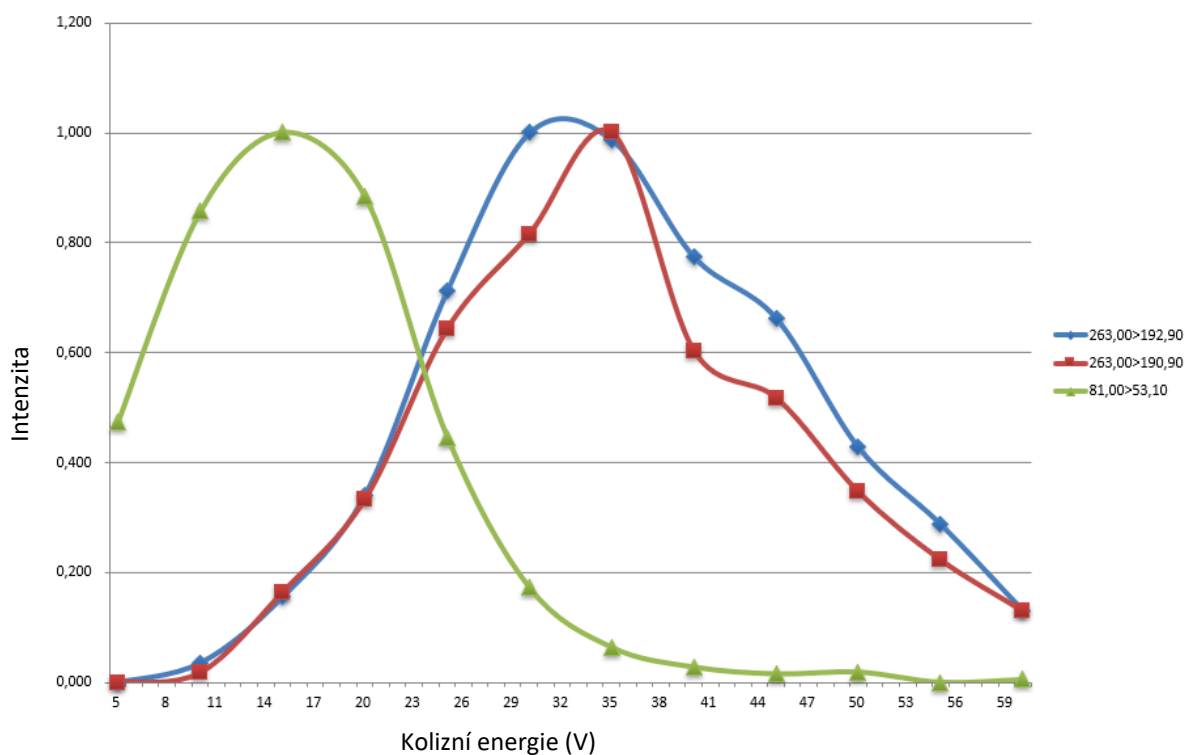
PŘÍLOHA Č. 33 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM- α Chlordan



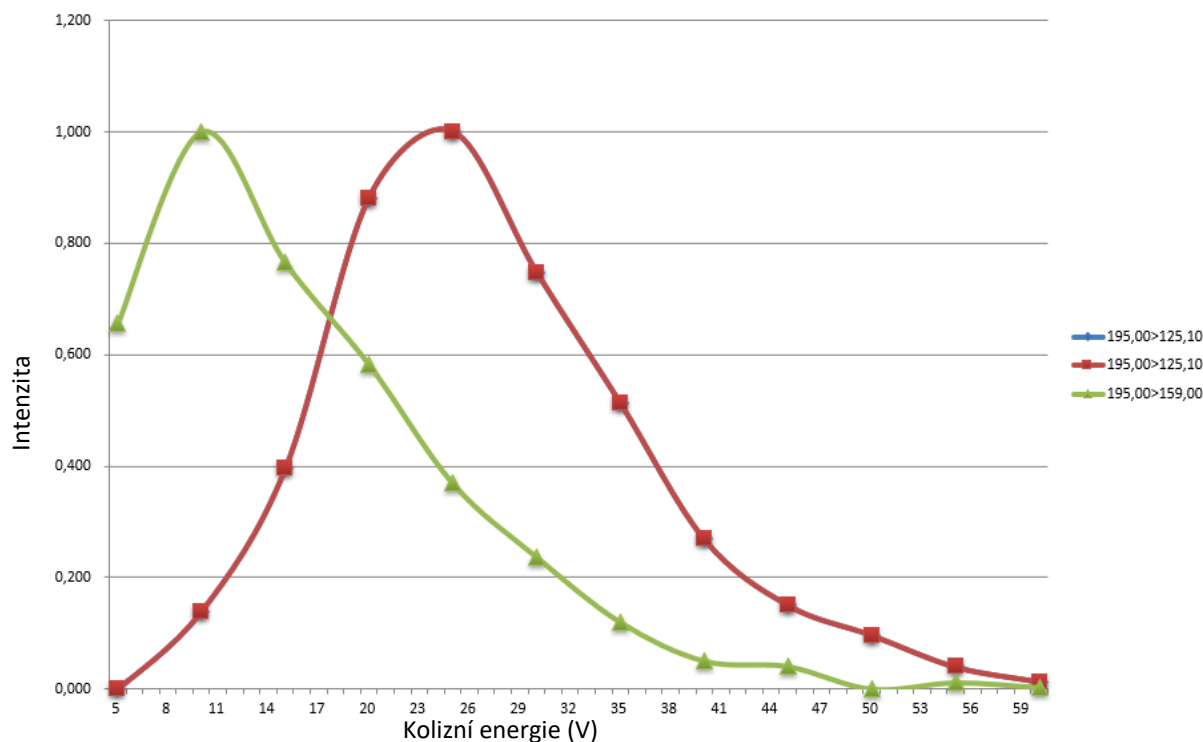
PŘÍLOHA Č. 34 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDE



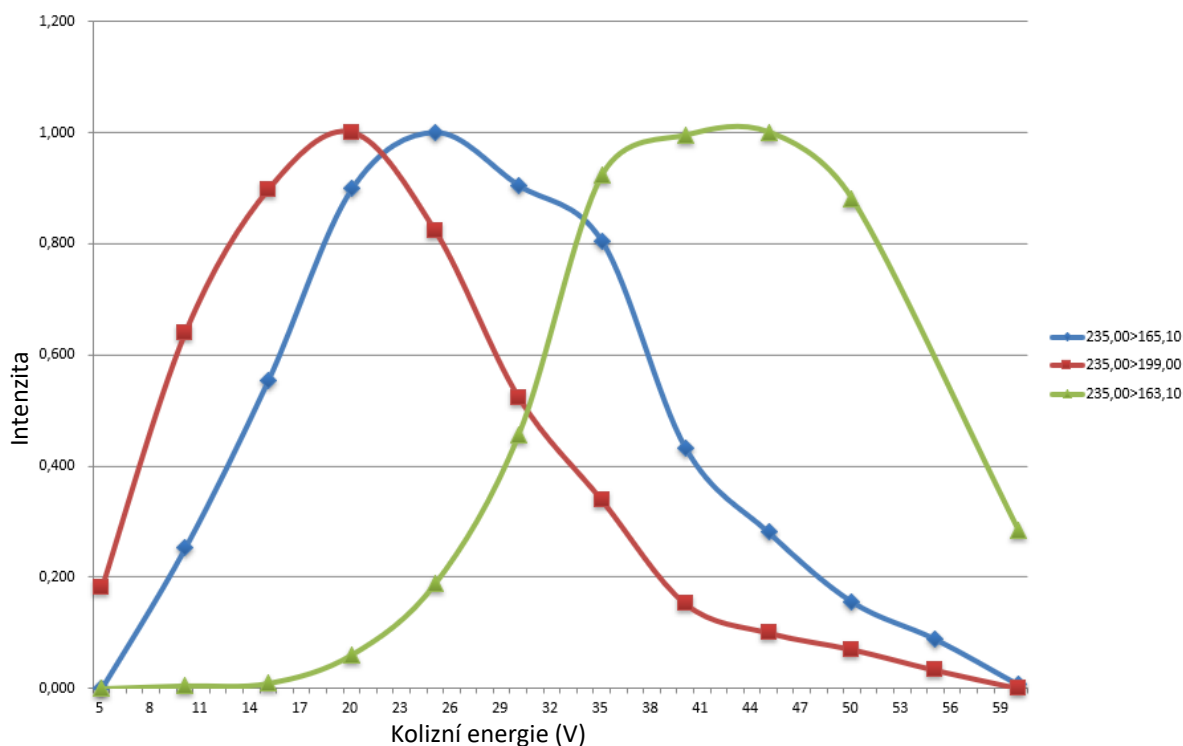
PŘÍLOHA Č. 35 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Dieldrin



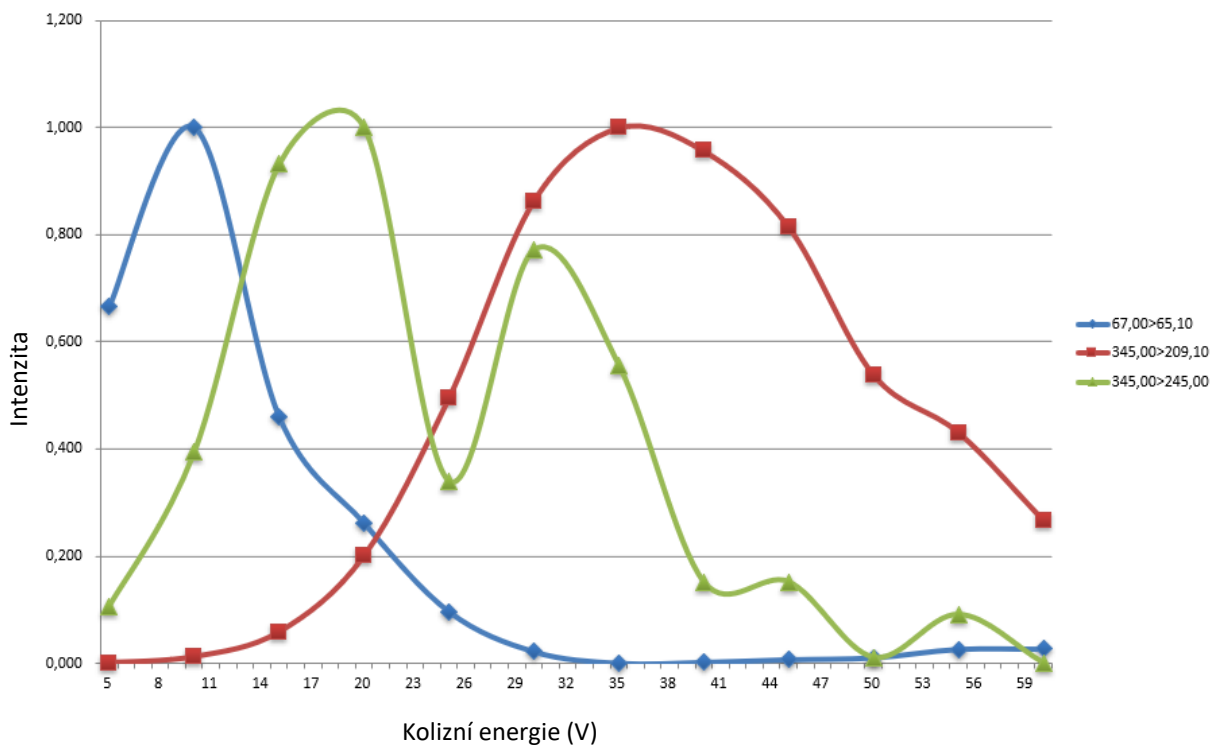
PŘÍLOHA Č. 36 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin



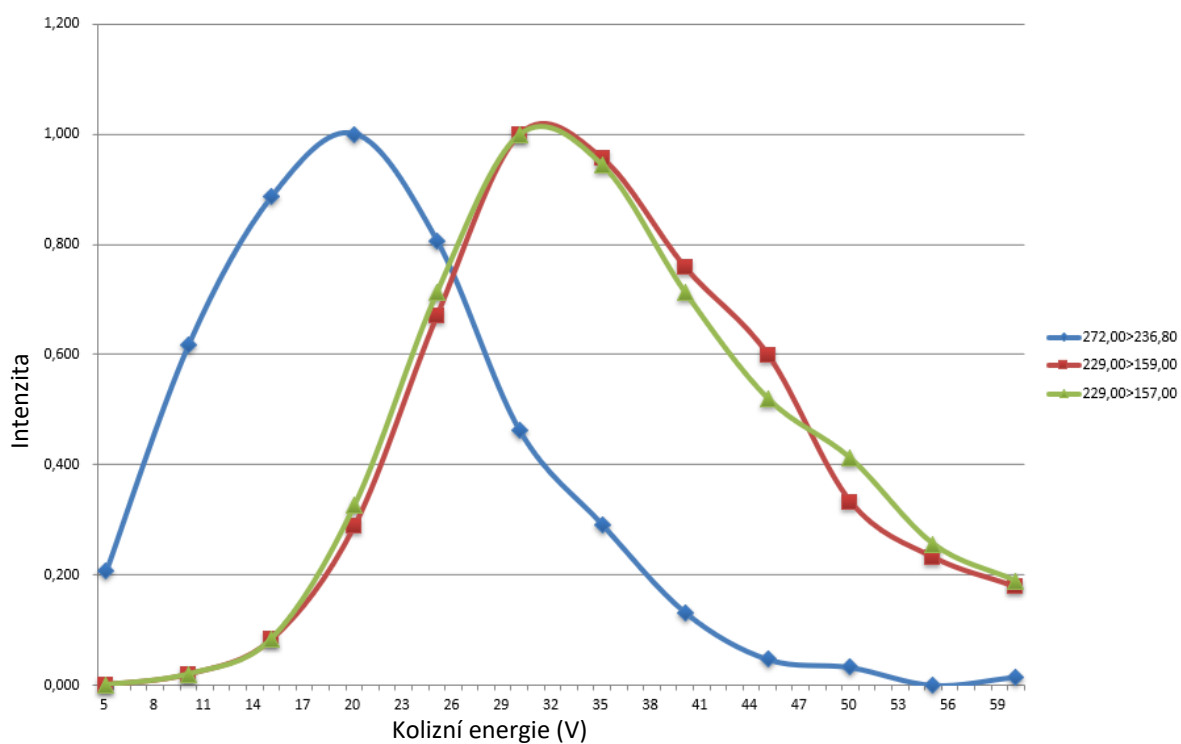
PŘÍLOHA Č. 37 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endosulfan II



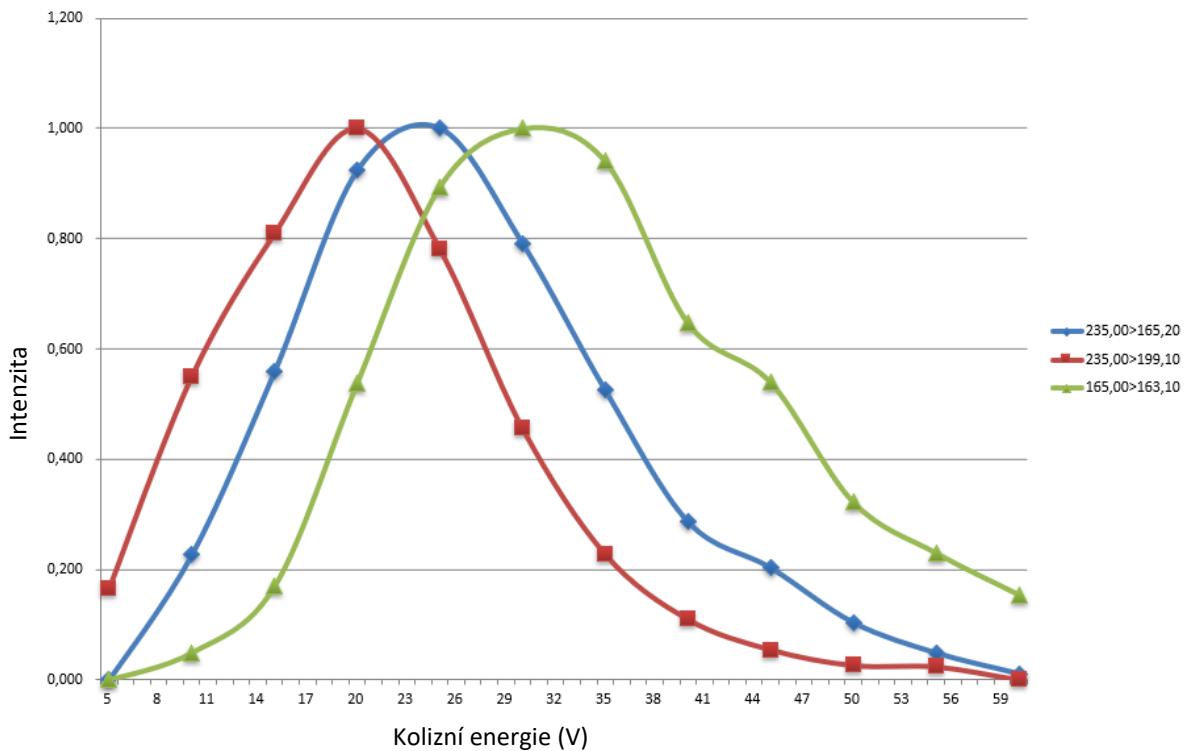
PŘÍLOHA Č. 38 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDD



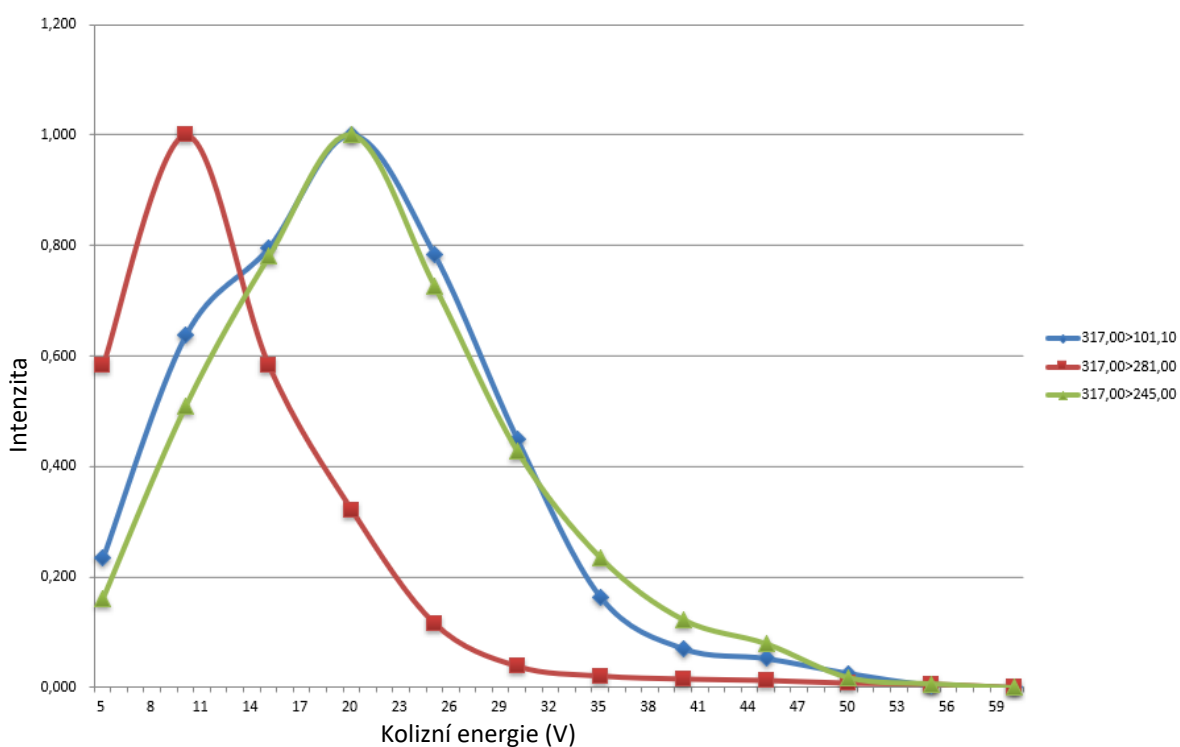
PŘÍLOHA Č. 39 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin aldehyd



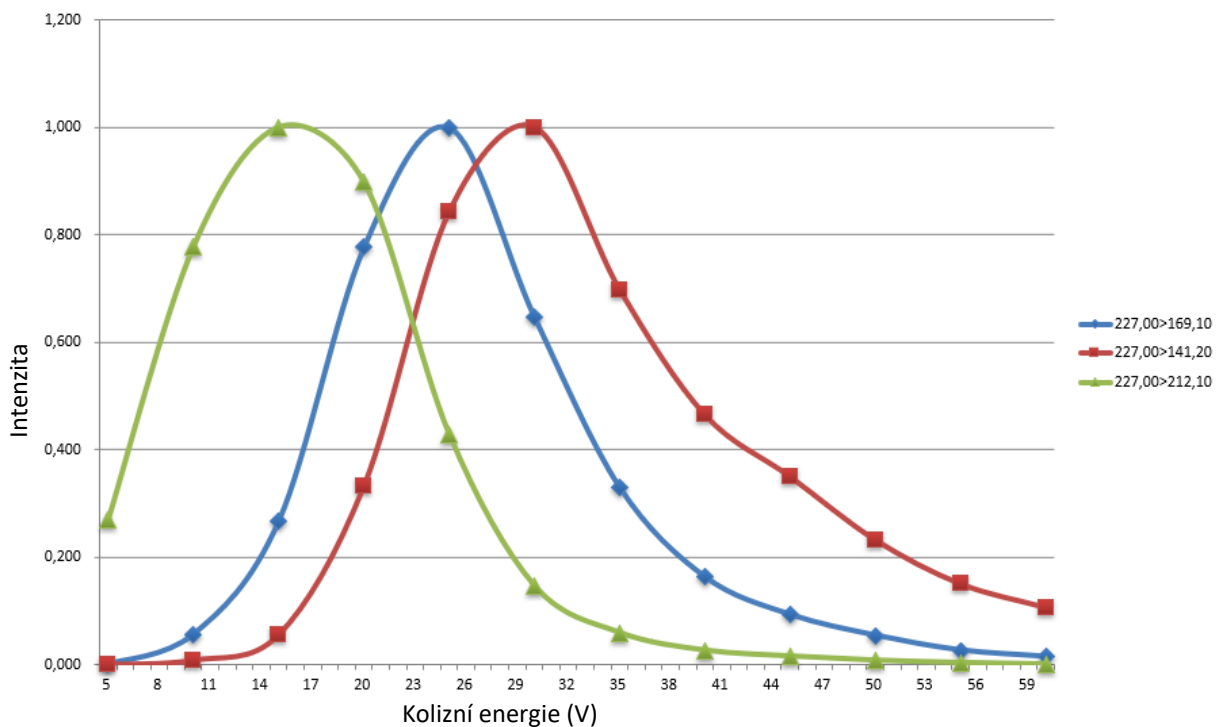
PŘÍLOHA Č. 40 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endosulfan sulfát



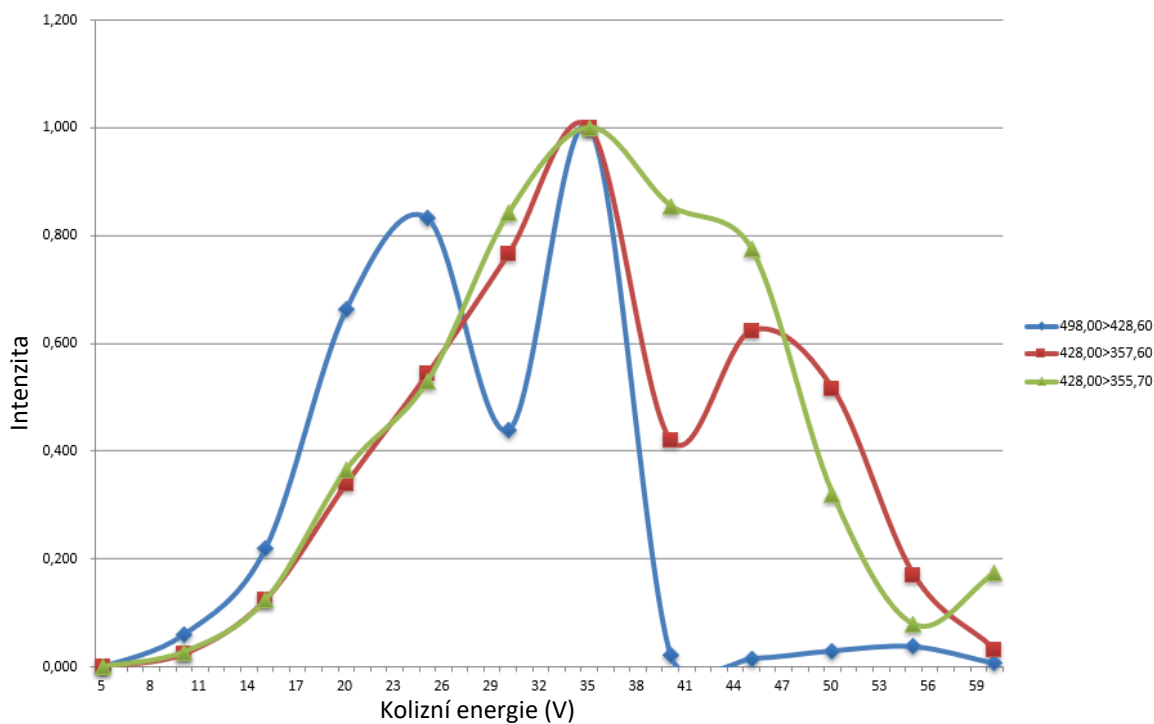
PŘÍLOHA Č. 41 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-4,4' DDT



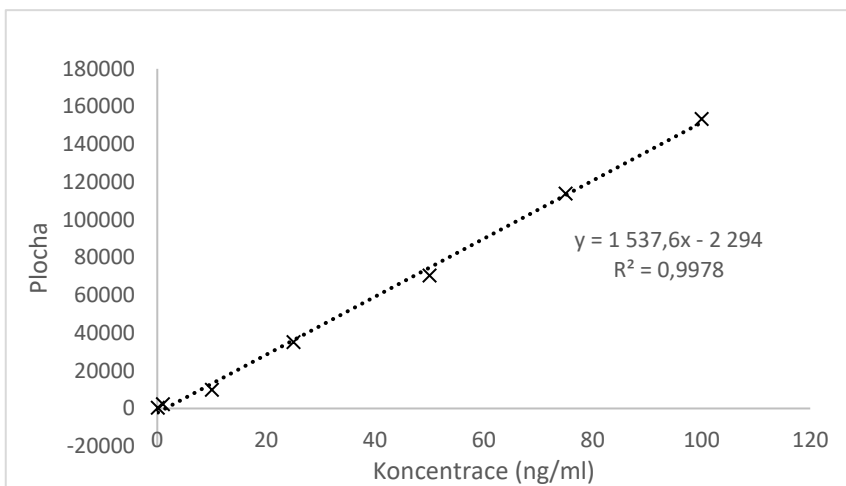
PŘÍLOHA Č. 42 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Endrin keton



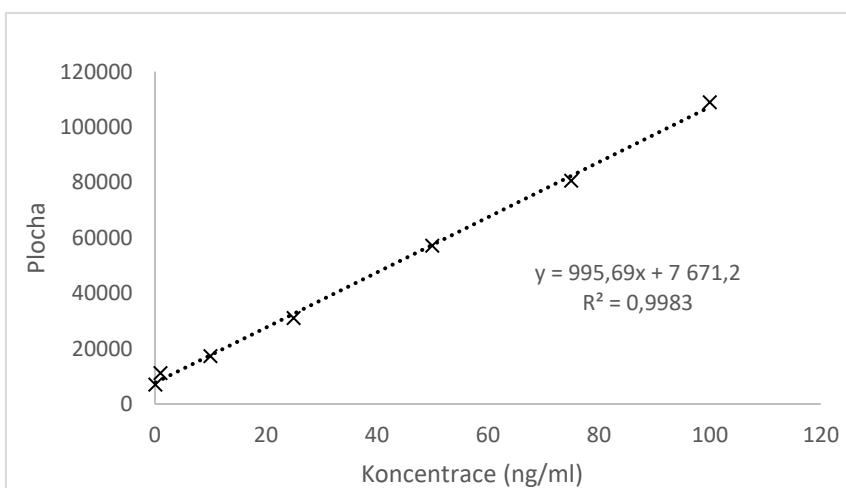
PŘÍLOHA Č. 43 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Metoxychlor



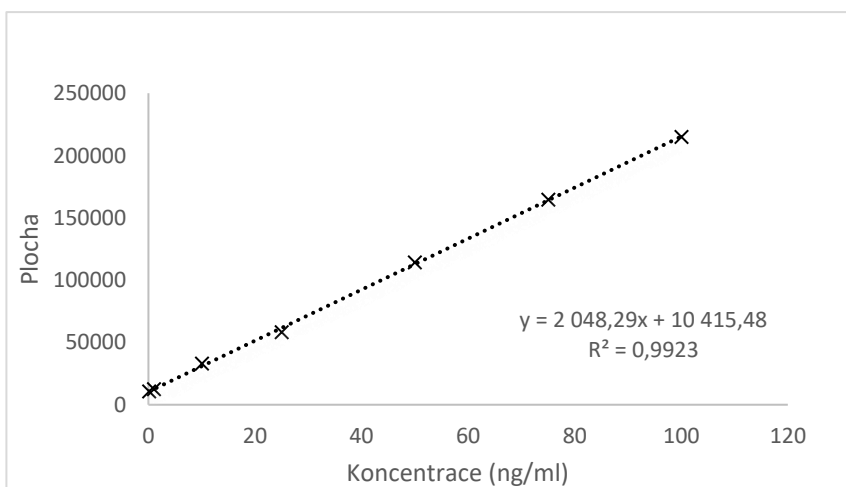
PŘÍLOHA Č. 44 Grafické znázornění vybraných přechodů a energií v režimu MRM-Dekachlorbifenyl



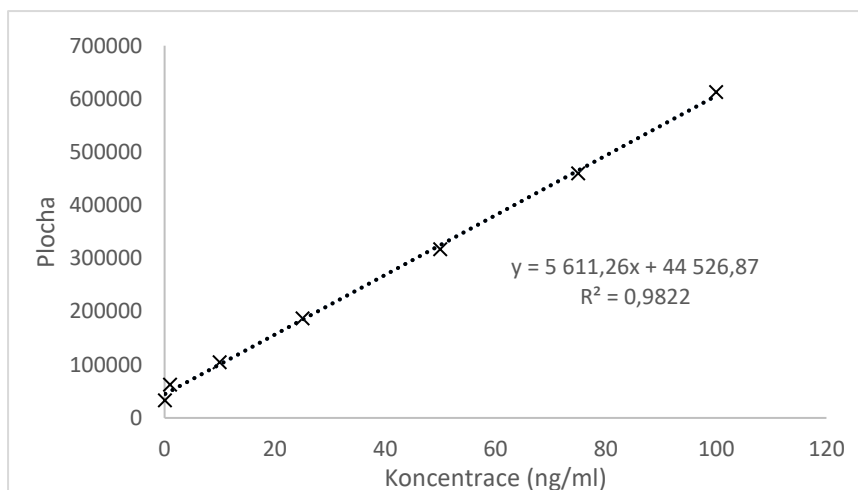
PŘÍLOHA Č. 45 Kalibrační přímka pro α BHC



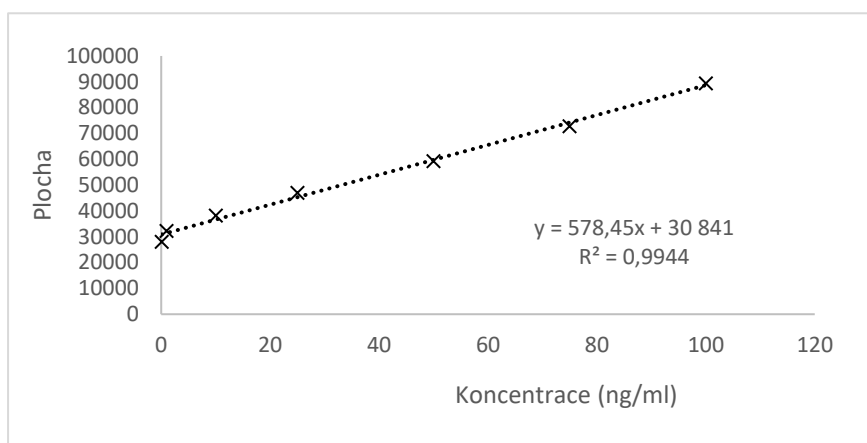
PŘÍLOHA Č. 46 Kalibrační přímka pro β BHC



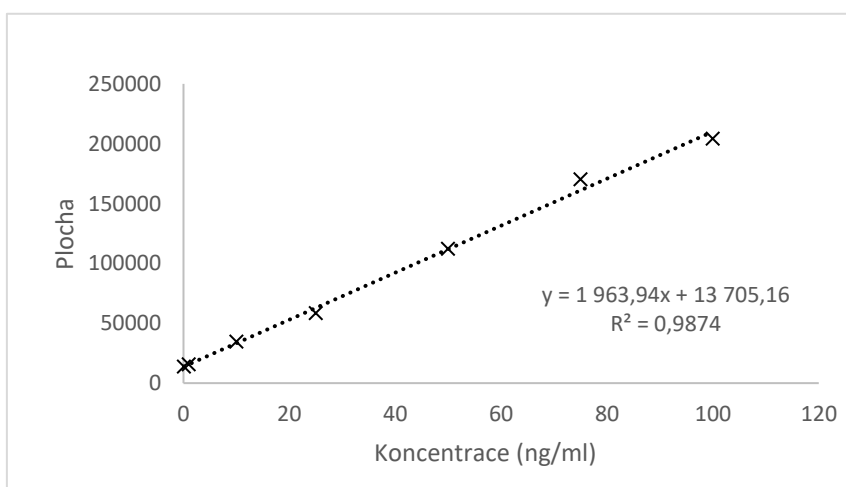
PŘÍLOHA Č. 47 Kalibrační přímka pro Lindan



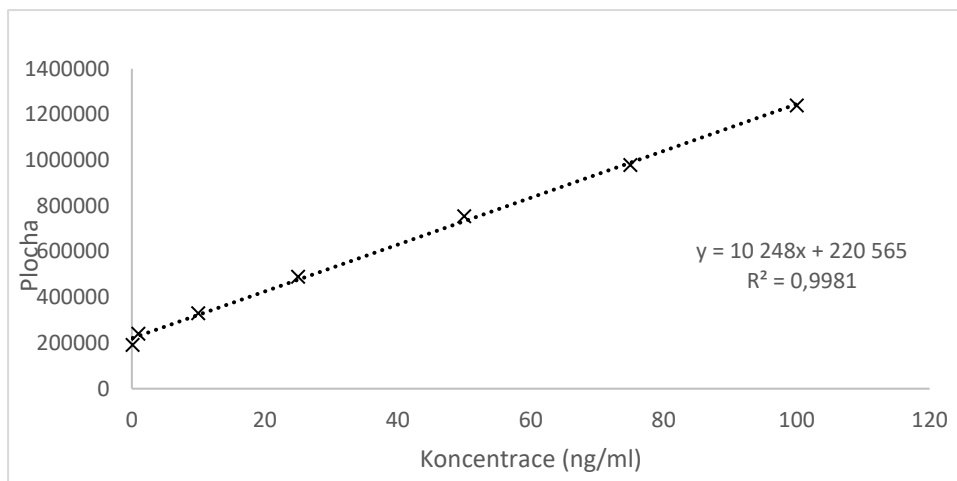
PŘÍLOHA Č. 48 Kalibrační přímka pro δ BHC



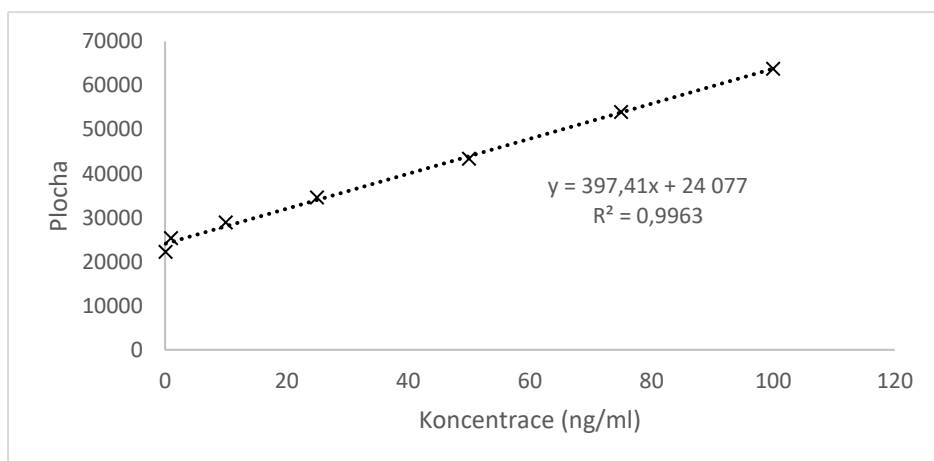
PŘÍLOHA Č. 49 Kalibrační přímka pro Heptachlor



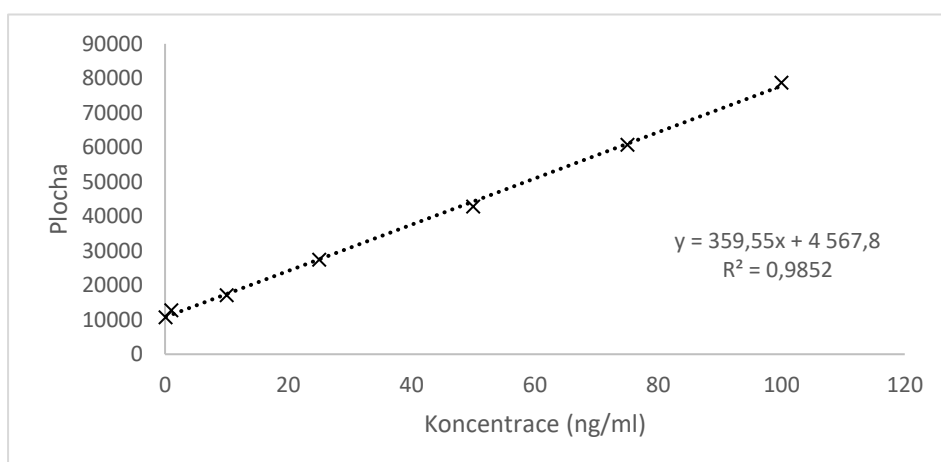
PŘÍLOHA Č. 50 Kalibrační přímka pro Aldrin



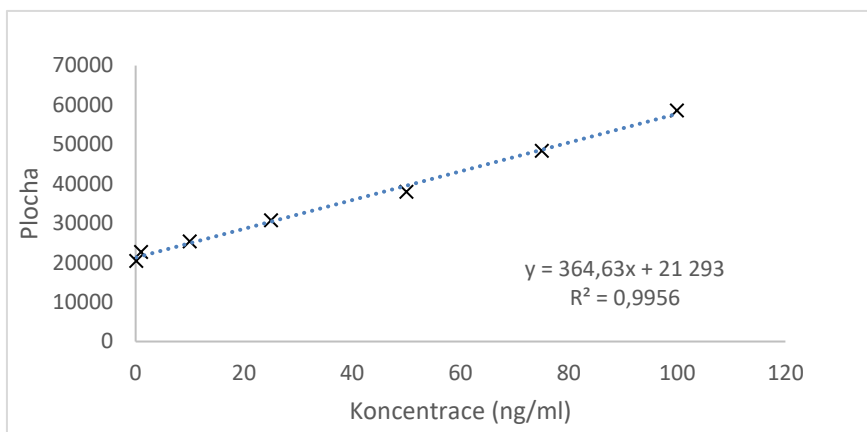
PŘÍLOHA Č. 51 Kalibrační přímka pro Heptachlorepoxid



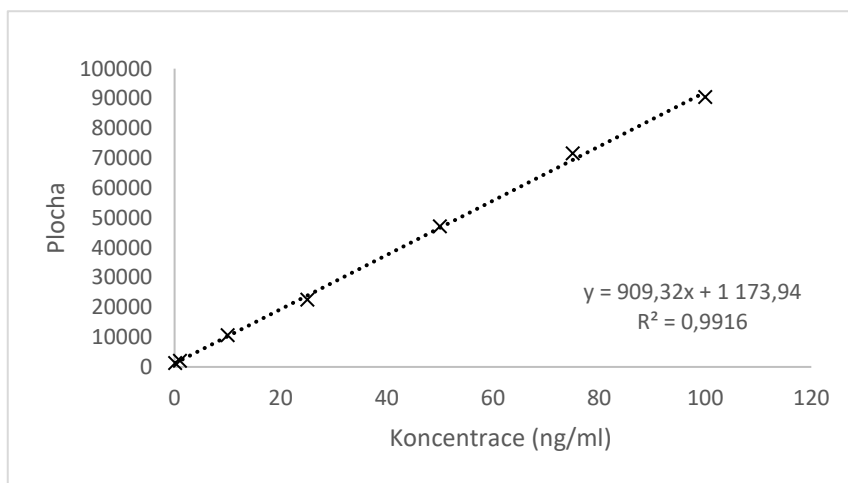
PŘÍLOHA Č. 52 Kalibrační přímka pro γ Chlordan



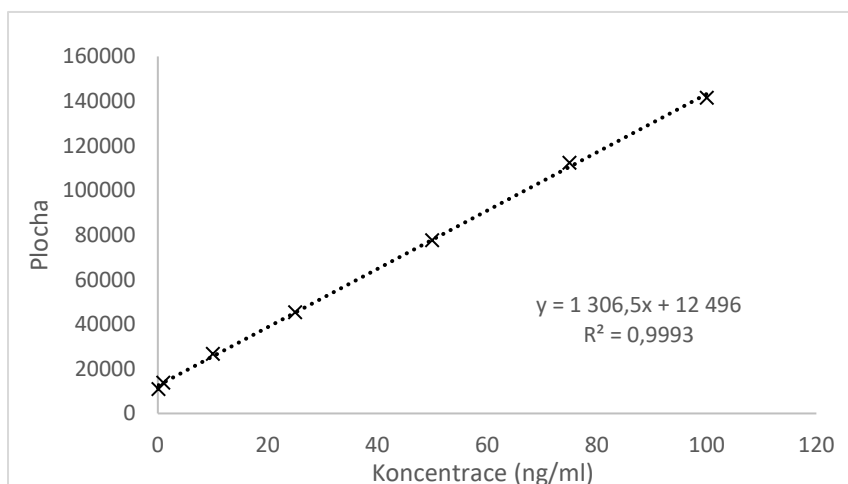
PŘÍLOHA Č. 53 Kalibrační přímka pro Endosulfan 1



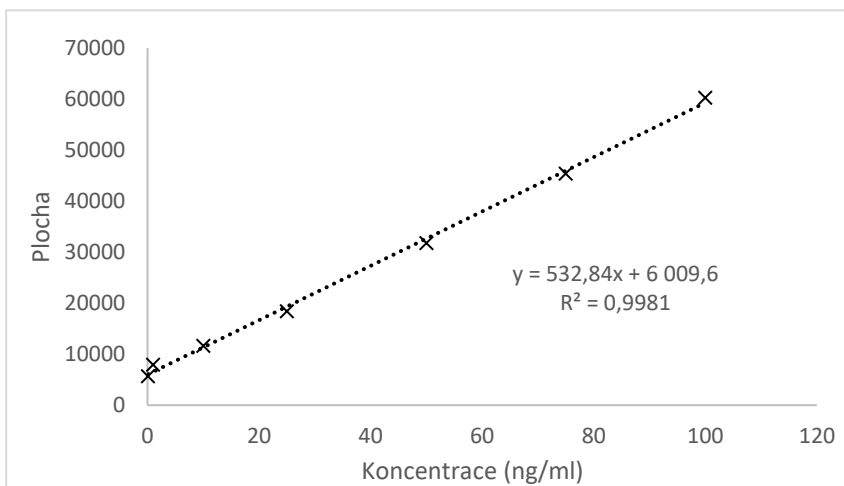
PŘÍLOHA Č. 54 Kalibrační přímka pro α Chlordan



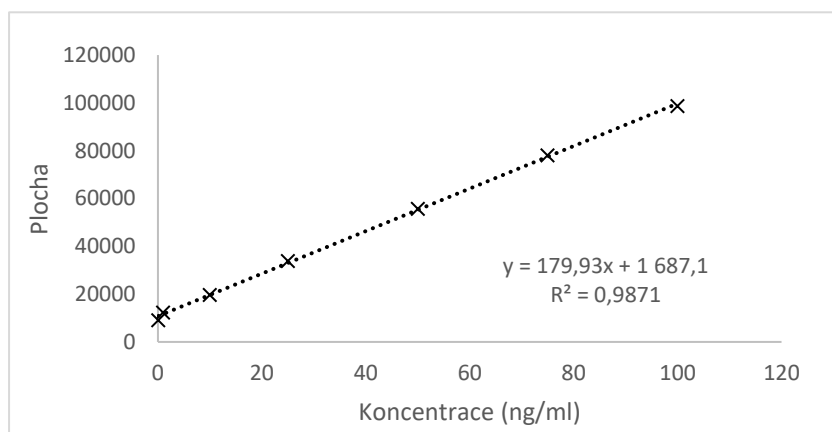
PŘÍLOHA Č. 55 Kalibrační přímka pro 4,4' DDE



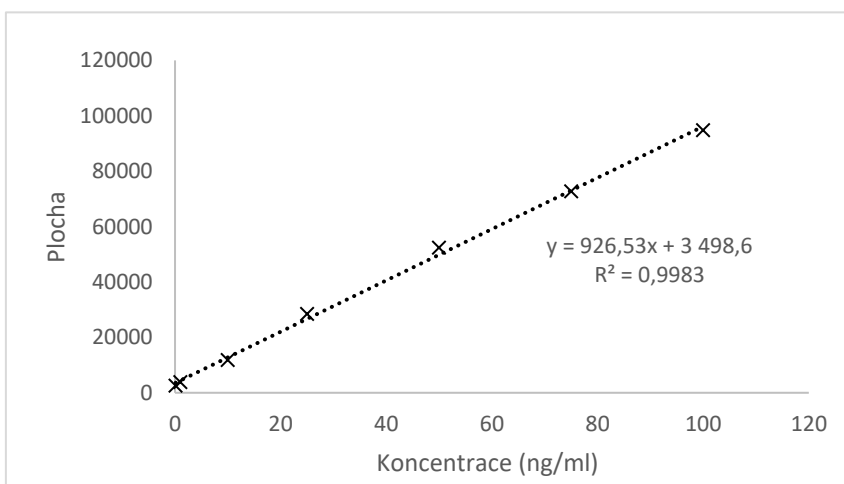
PŘÍLOHA Č. 56 Kalibrační přímka pro Dieldrin



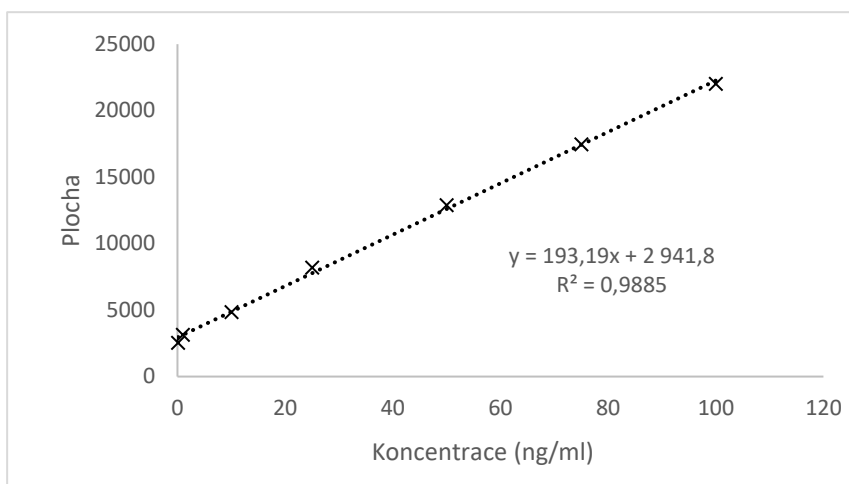
PŘÍLOHA Č. 57 Kalibrační přímka pro Endrin



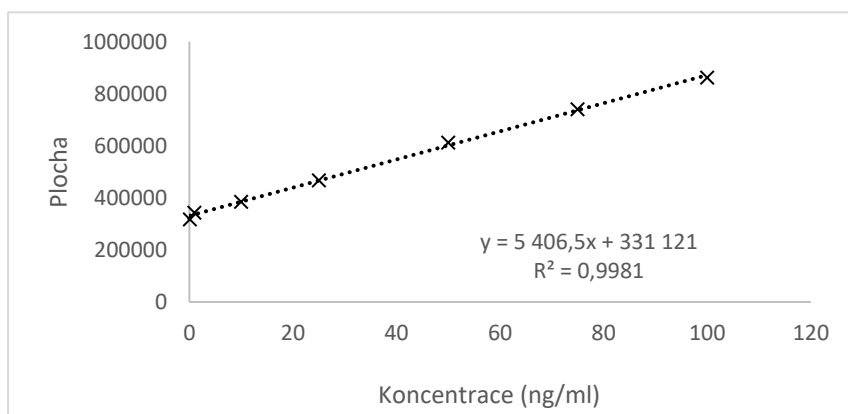
PŘÍLOHA Č. 58 Kalibrační přímka pro Endosulfan II



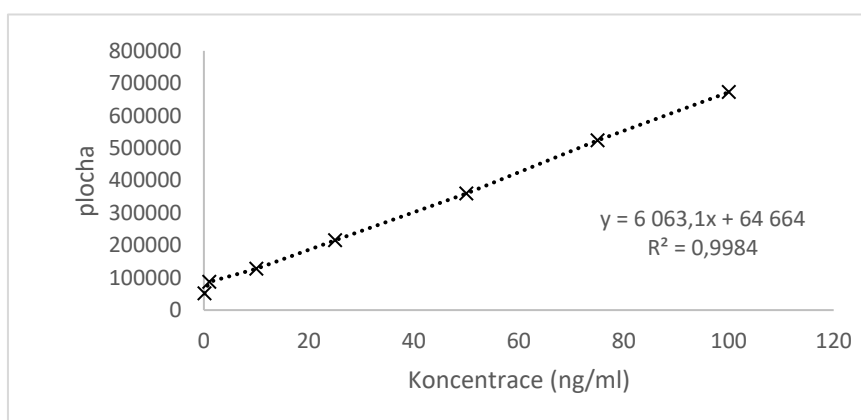
PŘÍLOHA Č. 59 Kalibrační přímka pro 4,4' DDD



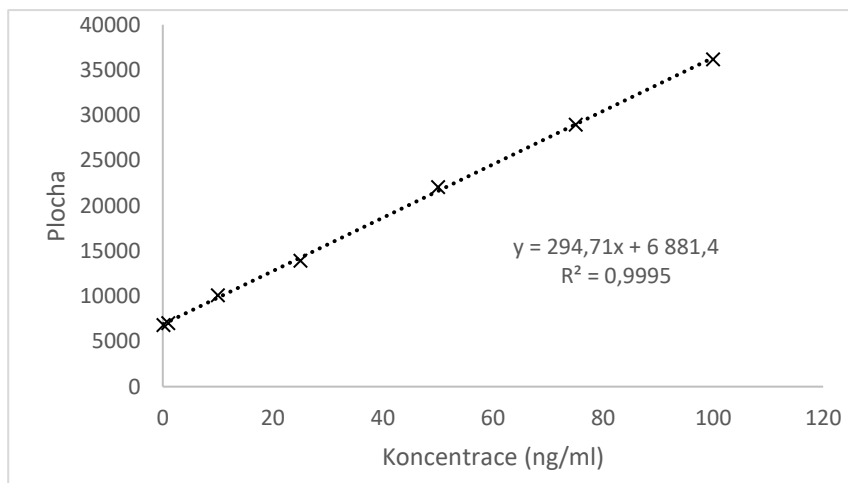
PŘÍLOHA Č. 60 Kalibrační přímka pro Endrin aldehyd



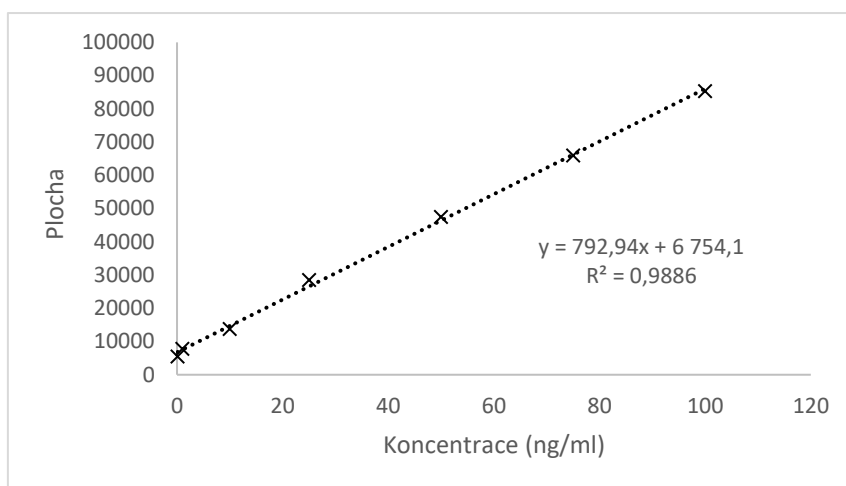
PŘÍLOHA Č. 61 Kalibrační přímka pro Endosulfansulfát



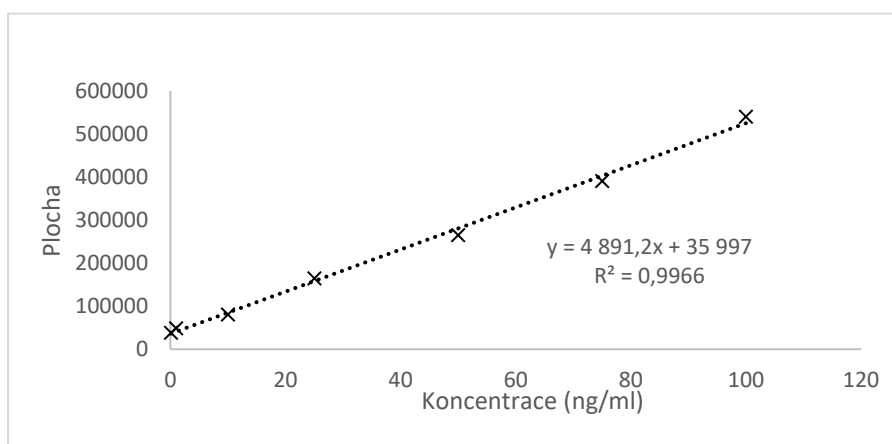
PŘÍLOHA Č. 62 Kalibrační přímka pro 4,4' DDT



PŘÍLOHA Č. 63 Kalibrační přímka pro Endrin keton



PŘÍLOHA Č. 64 Kalibrační přímka pro Metoxychlor



PŘÍLOHA Č. 65 Kalibrační přímka pro Dekachlorbifenyyl