

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

**Analýza organických polutantů říčních sedimentů řeky Bečvy
pomocí separačních metod**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:

Bc. Karolína Bednářová

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí práce:

RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

2024 Olomouc

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Karolína Bednářová
Název práce:	Analýza organických polutantů říčních sedimentů řeky Bečvy pomocí separačních metod
Typ práce:	diplomová
Pracoviště:	Katedra analytické chemie
Vedoucí práce:	RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.
Rok odevzdání práce:	2024
Anotace:	Cílem této práce bylo vyvinout metodu pro extrakci a následnou analýzu říčních sedimentů se zaměřením na možné polutanty, konkrétně polycyklické aromatické uhlovodíky a organochlorové pesticidy. Extrakty získané ze sedimentů optimalizovanou extrakční metodou byly analyzovány s využitím plynové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotností spektrometrií za použití SIM a MRM módů, pro zlepšení selektivity detekce.
Klíčová slova:	říční sedimenty, extrakce, polycyklické aromatické uhlovodíky, pesticidy, organochlorové pesticidy, plynová chromatografie, tandemová hmotnostní spektrometrie
Počet stran:	70
Počet příloh:	1
Jazyk:	čeština

Bibliographical identification:

Author's first name and surname:	Bc. Karolína Bednářová
Title:	Analysis of organic pollutants in Bečva river sediments using separation techniques
Type of thesis:	master's
Department:	Department of Analytical Chemistry
Supervisor:	RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.
The year of submission:	2024
Annotation:	The aim of this work was to develop a method for extraction and subsequent analysis of river sediments with a focus on potential pollutants, specifically polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides. The extracts obtained from the sediments by the optimized extraction method were analyzed using gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry using SIM and MRM modes to improve the selectivity of detection.
Keywords:	river sediments, extraction, polycyclic aromatic hydrocarbons, pesticides, organochlorine pesticides, gas chromatography, tandem mass spectrometry
Number of pages:	70
Number of appendixes:	1
Language:	Czech

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci

.....
Bc. Karolína Bednářová

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce, RNDr. Lukáši Kučerovi, Ph.D., za jeho přístup ke studentům, připomínky, názory a cenné rady při zpracování této diplomové práce a také za veškerý čas, který mi věnoval. Dále bych chtěla poděkovat všem pracovníkům katedry Analytické chemie UP a také projektu IGA (IGA_PrF_2024_026). V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině, příteli a přátelům, kteří pro mě byli oporou a podporovali mě v průběhu celého mého vysokoškolského studia.

Obsah

Seznam zkratek	8
1 Úvod	10
2 Teoretická část	11
2.1 Znečištění říčních toků	11
2.1.1 Zdroje znečištění	13
2.1.2 Vliv znečištění na lidské zdraví	14
2.2 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH)	17
2.2.1 Obecná charakteristika	17
2.2.2 Metody extrakce PAH z půdy a sedimentů	20
2.3 Pesticidy	22
2.3.1 Obecná charakteristika	22
2.3.2 Organochlorové pesticidy	26
2.3.3 Organofosfáty	28
2.3.4 Karbamáty	30
2.3.5 Pyrethroidy	31
2.3.6 Anorganické pesticidy	32
2.3.2 Metody extrakce pesticidů z půdy a sedimentů	33
2.4 Využití separačních metod pro analýzy sedimentů	35
2.4.1 Analýza polycyklických aromatických uhlovodíků	37
2.4.2 Analýza pesticidů	38
2.4.3 Analýza ostatních polutantů	39
3 Experimentální část	41
3.1 Chemikálie	41
3.2 Příprava vzorků	41
3.3 Příprava vzorků na analýzu	41
3.3.1 Soxhlet extrakce	42
3.3.2 ASE	42
3.3.3 QuEChERS	42
3.3.4 SPME	42
3.3.5 UAE	43
3.4 Chromatografické a hmotnostně-spektrometrické podmínky	43
4 Diskuze a výsledky	46
4.1 Srovnání extrakčních metod	46
4.2 Hmotnostně-spektrometrická analýza	51

4.3	Identifikace organochlorových pesticidů a polycyklických aromatických uhlovodíků.....	51
4.4	Výsledky analýz reálných vzorků	54
5	Závěr.....	58
6	Seznam literatury.....	59
	Přílohy.....	69

Seznam zkratek

DDT – 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan

PCB – polychlorované bifenyly

EPA – Agentura pro ochranu životního prostředí, federální vládní agentura USA

WHO – světová zdravotnická organizace

API – aktivní farmaceutická substance

PAH – polycyklické aromatické uhlovodíky

POPs – perzistentní organické látky

UAE – extrakce asistovaná ultrazvukem

QuEChERS – zkratka metody extrakce z anglických názvů (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)

SPME – mikroextrakce tuhou fází

p,p'-DDT – 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan

p,p'-DDD – 1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan

p,p'-DDE – 1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethylen

OCP – organochlorové pesticidy

GABA – γ -aminomáselná kyselina

HCH – hexachlorcyklohexan

OP – organofosfátové pesticidy

AChE – acetylcholinesteráza

ACh – acetylcholin

DNA – deoxyribonukleová kyselina

GC – plynová chromatografie

MS – hmotnostní spektrometrie

LC – kapalinová chromatografie

SIM – monitorování selektivního iontu (single ion monitoring)

MRM – monitorování selektivních hmotnostních přechodů (multiple reaction monitoring)

HPLC – ultra účinná kapalinová chromatografie

ECD – detektor elektronového zachytu

ESI – ionizace elektrosprejem

APCI – chemická ionizace za atmosférického tlaku

ICP – indukčně vázané plazma

ASE – akcelerovaná extrakce

TIC – celkový iontový proud (total ion current)

1 Úvod

Voda ve všech svých podobách je pro život nepostradatelná. I přes to je její kvalita na mnoha místech světa výrazně ohrožena. Řeky, jezera i rybníky jsou znečišťovány ať už vlivem přírodních jevů, tak i vlivem člověka. Tyto polutanty ovšem nezůstávají pouze ve vodě, ale distribuují se dále do životního prostředí, kde mohou reagovat, přeměňovat se nebo se ukládat. V konečném důsledku pak tedy i látka, která byla na určitém místě použita pro prospěch člověka, může mít nebezpečné dopady v místě, kam se svou distribucí dostala.

Tyto následky nemusí být v krátkodobém měřítku patrné, často však vyplývají na povrch při dlouhodobé expozici. Značná část kontaminantů vyskytujících se v životním prostředí je totiž velmi perzistentní. Tyto látky tedy ovlivňují ekosystém i zdraví člověka i dlouho po svém vstupu. Je proto zapotřebí jejich přítomnost v prostředí monitorovat, jelikož některé z nich mohou mít závažný vliv nejen na lidské zdraví.

Analýza polutantů se ve většině případů neobejde bez přečištění a extrakce, poněvadž matrice, ve kterých se polutanty nacházejí, jsou velmi komplexní. Cílem této diplomové práce je vytvořit postup, pomocí kterého by bylo možno vyextrahovat z říčních sedimentů souběžně dvě skupiny běžných polutantů, konkrétně polycyklické aromatické uhlovodíky a organochlorové pesticidy. Kromě samotné extrakce si tato práce klade za cíl také sestavit metodu pro separační techniku, která by zvládla identifikovat výše uvedené polutanty i v nízkých koncentracích, v jakých se často v prostředí vyskytují.

2 Teoretická část

2.1 Znečištění říčních toků

Znečištění říčních toků je problém, se kterým se potýkáme v dnešní době, ale jeho prvopočátky sahají hlouběji do minulosti. Kritickým se stal celosvětový rozmach průmyslu po konci druhé světové války. Tento rozmach v rámci honby za uspokojením tužeb zákazníka nebral příliš ohledy na životní prostředí, a tak se řeky staly nejen průmyslovým zdrojem vody, ale také se do nich částečně vypouštěl i průmyslový odpad. Právě díky rychlému rozvoji průmyslu v druhé polovině 20. století se do řek začaly dostávat do té doby nepříliš známé látky (např. DDT, PCB) či těžké kovy, které jak známo jsou vysoce toxické pro vodní organismy. [1] Kromě průmyslu bylo velkou ránou pro vodní toky také rychlé rozrůstání měst, na které vlády nestíhaly dostatečně rychle reagovat a z důvodu nedostatku sanitčních zařízení se do vod dostávaly i lidské exkrementy. [2]

Následky nyní nesou řeky po celém světě. Některé z nich jsou pro místní obyvatelstvo velmi významné, nehledě na to, v jak katastrofálním stavu se aktuálně nacházejí. Jako příklad lze uvést řeku Matanza v Argentině, která je považována za jednu z nejznečištěnějších řek na světě. Protéká jedním z nejlidnatějších regionů v Argentině (žije zde více než 6 milionů obyvatel tedy přibližně 13 % celkové populace Argentiny) a vlévá se do řeky La Plata, která je základním zdrojem pitné vody pro Buenos Aires, hlavní město Argentiny. V jejích vodách byly nalezeny těžké kovy, polycyklické aromatické uhlovodíky, různá organická hmota a také organické a anorganické polutanty. Kromě polutantů vyskytujících se v samotné řece dělá potíže i zápach, který je tímto znečištěním způsoben a na který si místní obyvatelé stěžují. Problémem je zde určitě i více než 15 tisíc továren, které se nacházejí v blízkosti tohoto vodního toku, ovšem svou roli hraje také vysoká populace lidí v okolí řeky. [3–5]

Dalším příkladem může být řeka Ganga, která je nejen důležitá z hlediska obživy, protože dodává vodu pro zemědělství (celkově je na ní z hlediska obživy závislých asi 36 % celé indické populace), ale také duchovně a historicky. Řeka Ganga je totiž posvátná. Hinduisté věří, že dokáže očistit duši a má léčivé vlastnosti. Břehy této řeky jsou tedy některými chudšími obyvateli využívány při pohřbech. [6]

Mezi největší znečišťovatele řeky Gangy patří bezpochyby zemědělství, které je v této oblasti jedním z hlavních zdrojů obživy. To z řeky nejen čerpá vodu, ale také ji

znečišťuje hnojivy a pesticidy, hlavně insekticidy. Studie provedená mezi lety 2012 až 2017 dokonce uvádí, že bylo v tomto období v oblasti v okolí řeky Gangy použito množství pesticidů, které odpovídá 27 % celosvětové spotřeby těchto látek. [7] Kromě zemědělství přispívá ke znečištění také nezpracovaný průmyslový odpad, který je vypouštěn přímo do řeky například z koželužen, textilních továren, lihovarů, chemických podniků nebo jatek. Mimo pesticidy se tedy ve vodě mohou vyskytovat také těžké kovy jako chrom, železo, měď, arsen nebo olovo a spousta dalších polutantů, jejichž zdroji nemusí být pouze zemědělství nebo průmysl ale také vysoká urbanizace. [8]



Obr. 1: Znečištěná řeka Ganga [9]

Vysoké znečištění řek ovšem není problém pouze mimo Evropu. Například řeka Sarno, nacházející se v Itálii, je i dnes považována za jednu z nejvíce kontaminovaných řek nejen Evropy ale i celého světa. Tato řeka byla kdysi také uctívána, staří Římané ji dokonce považovali za boha, a stejně jako Ganga byla řeka Sarno kdysi zdrojem obživy pro místní obyvatele. S narůstajícím znečištěním už se ale pro ně stává spíše zdravotním rizikem. [10] Problémem je zde zejména nedodržování zákonů, které mají za cíl toto znečištění omezit, či nedostatečné čištění odpadních vod z průmyslu (výroba nábytku, keramiky, koželužství). Nedostatečně vyčištěné odpadní vody nejsou ovšem problémem jen průmyslu, ale i zemědělství. V této oblasti je totiž používáno nadměrné množství hnojiv a pesticidů, například k pěstování rajčat, na které je zaměřeno přes 100 podniků sídlících v okolí řeky. Ke zlepšení stavu znečištění řeky Sarno nepřispívá ani místní podloží, které je tvořeno hlavně jílem, na který se polutanty jako těžké kovy snadno naváží a poté se mohou šířit dále prostředím. Všechny tyto vlivy vedou ke zvýšenému zdravotnímu riziku pro místní obyvatele. Již nyní je zaznamenán vyšší výskyt rakoviny u lidí žijících v této oblasti. [11,12]

Vodní toky České republiky nepatří sice mezi nejvíce znečištěné vodní toky světa, ale i tak jsou známy případy výrazného znečištění. V posledních letech je asi nejznámější kauzou otravy říčních vod řeka Bečva. Tento únik toxických látek, které byly některými laboratořemi identifikovány jako kyanidy, se stal na podzim roku 2020. V důsledku této kontaminace asi na 40 kilometrech říčního toku zahynulo v řece Bečvě více než 30 tisíc ryb. [13]

2.1.1 Zdroje znečištění

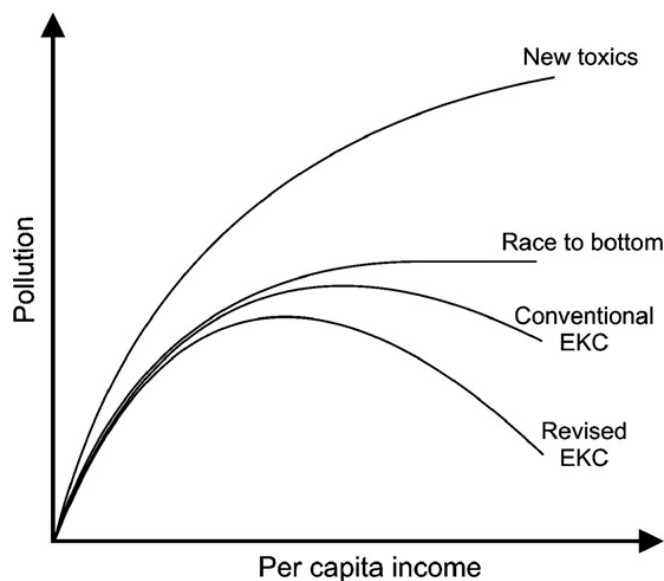
Z obecného hlediska se zdroje znečištění říčních toků dělí na plošné a bodové. Bodový zdroj znečištění je dle agentury EPA (Agentura pro ochranu životního prostředí, federální vládní agentura USA) jakýkoliv zřetelný, ohraničený a samostatný přenos, mimo jiné včetně potrubí, příkopu, kanálu, tunelu, potrubí, studny, samostatné trhliny, kontejneru, kolejových vozidel, soustředěného krmení zvířat nebo plavidla či jiného plovoucího plavidla, z něhož jsou nebo mohou být vypouštěny znečišťující látky. [14]

Naopak plošný zdroj není nijak ohraničen a nelze přesně určit. Toto znečištění je způsobeno jevy jako je odtok vody z půdy po srážkách či během tání sněhu, atmosférická depozice, průsak nebo drenáž. Plošné znečištění pochází tedy z mnoha rozptýlených zdrojů, jelikož voda při svém pohybu zachycuje a odnáší přírodní i člověkem vytvořené látky, které se nakonec ukládají do řek, jezer, mokřadů, pobřežních a podzemních vod. [14]

Mezi největší zdroje znečištění patří bez pochyby průmysl, ale také odpadní vody z domácností nebo pesticidy a hnojiva používaná v zemědělství. Velkým problémem je také rychlý nárůst populace a urbanizace, které díky nedostatečnému nakládání s odpady silně přispívají ke kontaminaci mnoha vodních toků po celém světě. [2,15] Kontaminanty, jako například těžké kovy, mikroplasty či nanočástice, se poté nasrádají a stojí za globálním problémem, který představuje kontaminovaná voda. Například průměrná koncentrace těžkých kovů jako je rtuť překračuje přípustné limity (0,001 mg/l [16]) stanovené pro pitnou vodu Světovou zdravotnickou organizací (WHO) v Africe, Americe, Asii i Evropě. [17]

Vzhledem k tomu, že na znečištění vod má z velké části vliv ekonomický růst, stojí za zmínku Kuznetsova křivka životního prostředí, která dává do vztahu znehodnocení životního prostředí a výši finančního příjmu na hlavu. Tato křivka má tvar obráceného písmene U a říká, že s růstem ekonomiky ekologické znečištění narůstá až do bodu zlomu. Od něj se se zvyšujícím finančním příjmem znečištění naopak snižuje, jelikož stát už má

dostatečně silnou ekonomiku na to, aby mohl investovat do řešení ekologických problémů. [18] Ukazuje se ovšem, že tato křivka příliš neodpovídá realitě. Bylo navrženo i několik modifikací Kuznetzovy enviromentální křivky, mezi něž patří i revidovaná Kuznetsova křivka (na Obr. 2 označena jako Revised EKC), která má dle empirických výzkumů bod zlomu na ose y (ekologické znečištění) i na ose x (ekonomický růst) posunut blíže k nule. Tuto změnu mají pravděpodobně za následek čistější technologie a nové přístupy k regulaci znečištění v rozvojových zemích. [19]



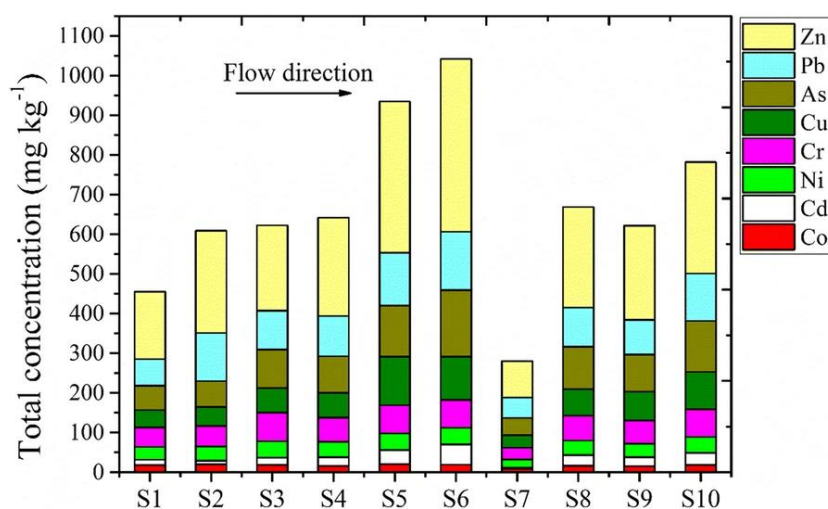
Obr. 2: Různé tvary Kuznetsových enviromentálních křivek [20]

2.1.2 Vliv znečištění na lidské zdraví

Přítomnost kontaminantů ve vodě je celosvětovým problémem nejen proto, že podzemní a povrchová voda jsou hlavními zdroji vody pro zemědělství, průmysl či chov hospodářských zvířat ale také proto, že voda je pro člověka samotného životně důležitá. Lidské tělo je tvořeno z asi 60 % vodou a průměrně by měl člověk denně vypít asi 3 litry vody. Přesto nemá spousta lidí po celém světě k takovému množství čisté vody denně přístup. [21] Dle organizace WHO je dokonce až 80 % nemocí přenášeno nedostatečně čistou vodou a celosvětově až za 3,1 % úmrtí může nekvalitní voda. [22]

Mezi jednu ze skupin kontaminantů patří těžké kovy. Těžké kovy jsou prvky s vyšší hustotou (jejich hustota je větší než 6 g/cm^3), např. olovo, železo, rtuť, kadmium, zinek, arsen, měď a chrom. Tyto prvky mohou být v menším množství lidskému tělu sice prospěšné (např. Zn), ale ve větších koncentracích jsou již pro zdraví škodlivé. Kromě samotného negativního vlivu na lidský organismus mají negativní dopad i na vodní ekosystém. Zde

omezují rozmanitost vodních organismů, ovlivňují ekologickou rovnováhu vodního prostředí a pro některé ryby jsou neurotoxické. Do biosféry se dostávají ve velkém hlavně prostřednictvím lidských činností, jako je například průmyslová výroba, těžba, spalování fosilních paliv, zemědělství nebo doprava. Jelikož těžké kovy nelze rozložit a odbourat, akumulují se následně v životním prostředí. [23] Jejich akumulace ve vodních tocích je navíc podpořena tam, kde je vyšší obsah organické hmoty. Toto dokazuje i Obr. 3, který pochází ze studie sedimentů řeky Xiangjiang, jelikož oblast S6 vykazovala nejvyšší koncentraci organické hmoty a zároveň největší koncentraci těžkých kovů. [24]



Obr. 3: Rozložení koncentrace těžkých kovů v sedimentech řeky Xiangjiang v oblasti Zhouzhou Reach [24]

Důsledkem pro člověka jsou potom zdravotní problémy způsobené právě expozicí těžkým kovům. Může docházet k narušení fungování mozku, plic, jater, ledvin, zhoršuje se složení krve. Toxicita těchto kovů také narušuje fyzické, neurologické a svalové funkce, což může vést až k roztroušené skleróze, Parkinsonově a Alzheimerově chorobě či svalové dystrofii. Pokud je navíc člověk těmito těžkým kovům vystaven dlouhodobě, zvyšuje se šance na rozvinutí rakoviny. [23] Například ve studii provedené v Indii byla zjištěna vysoká koncentrace těžkých kovů, konkrétně olova, chromu, mědi a zinku, v říčních sedimentech a byl zde vyzorován vztah mezi počtem lidí s rakovinou a oblastí, kde žili. Nejvíce lidí s rakovinou totiž bylo z oblastí s vysokou koncentrací olova a chromu. Vysoká koncentrace těžkých kovů v říčních tocích by se tedy rozhodně neměla brát na lehkou váhu. [25]

Nebezpečné je také mikrobiální znečištění, které je způsobeno hlavně vypouštěním nepřečištěných odpadních vod do povrchových vodních toků a ploch. Tyto pak lidé využívají jako koupaliště či sportoviště, či tuto vodu přímo konzumují. Mezi mikrobiologické

kontaminanty se řadí bakterie (*E. coli*, *C. perfringens*), viry (adenoviry) a patogenní prvoci (*G. Duodenalis*, *C. parvum*). Typickými příznaky napadení lidského organismu jsou průjem, nevolnost, či anémie. Už tyto příznaky mohou být smrtelné, jelikož jen v Bangladéši mají na svědomí průjemová onemocnění až sto tisíc úmrtí ročně. [26] Adenoviry ovšem mohou způsobovat dokonce infekce mnoha orgánů, jako jsou oči, gastrointestinální trakt, dýchací soustava, centrální nervová soustava nebo pohlavní orgány. [26,27]

Aktivní farmaceutické substance (API) jsou také jedny z možných polutantů vodních ekosystémů. Bývají označovány jako kontaminující látky vzbuzující obavu, protože přestože většina z nich v současné době nepodléhá regulaci, mají potenciální škodlivý vliv na životní prostředí i lidské zdraví. Velkým problémem je jejich biologická aktivita, která není v tomto prostředí příliš prozkoumána a která může následně vést k neznámým účinkům na zdraví a chování. Důležitá je taky stabilita léčiva, která může v některých případech způsobit pseudoperzistenci látky v prostředí. Příkladem takových látek mohou být například sulfametoxazol, diklofenak či klaritromycin, které jsou celosvětově hojně konzumovány. Navíc mají, kromě jejich perzistence ve vodním prostředí, také nízkou míru odstraňování v čistírnách odpadních vod, které používají pouze aktivní kal. [28]

Farmaka se tedy do vod dostávají právě jejich nedostatečným přečištěním v čistírkách odpadních vod ale i zemědělstvím, samozřejmě z farmaceutických firem a také z nemocnic. Obecně by se tedy dalo říct, že se farmaka do životního prostředí dostávají při svém vzniku, během používání, a i při své likvidaci. [29] Dle celosvětové studie, publikované v roce 2022, je tímto problémem ovlivněno přibližně 471,4 milionů lidí. Tato studie zkoumala 258 řek ve 104 státech na všech kontinentech (včetně Antarktidy) a zaměřila se na 61 aktivních farmaceutických substancí. Největší kumulativní koncentrace API byly nalezeny v subsaharské Africe, jižní Asii a jižní Americe. Čtyři API byly nalezené na všech kontinentech, tedy včetně Antarktidy, jednalo se o kofein, nikotin, paracetamol a kotinin. Pokud bychom ovšem vynechali Antarktidu, bylo nalezeno 16 API, které jsou evidentně hojně využívány na všech ostatních kontinentech. Nejvíce byla zastoupena antidepressiva (citalopram, desvenlafaxin, vanlafaxin), poté antihistaminika (cetirizin, fexofenadin) a antihyperglykemika (metformin, sitagliptin) a poté další látky jako lidokain nebo karbamazepin. [30]

Mezi běžné skupiny farmaceutických polutantů tedy patří například:

- nesteroidní protizánětlivé léky
- antibiotika, jejichž přítomnost ve vodě zvyšuje riziko rezistence vůči antibiotické léčbě
- hormony
- psychotropní léky, jako jsou právě výše zmíněná antidepresiva, β -blokátory či antiepileptika
- kontrastní látky využívané například při rentgenu [31]

Jelikož se s těmito látkami můžeme setkávat v běžném životě, není zcela jednoduché určit, jak velký dopad na nás má jejich výskyt ve vodních tocích. Jisté ale je, že na vodní živočichy mají tyto látky negativní vliv, jelikož jim ničí játra, ledviny i žábra. [31] Přítomnost léčiv ve vodách má také v některých případech za následek feminizaci samců ryb a může působit proti ovulaci, čímž ohrožuje rybí populaci. [32]

Dalšími velmi významnými kontaminanty vodních ekosystémů jsou polycyklické aromatické uhlovodíky a pesticidy. I tyto látky mají v mnoha případech závažný vliv na lidské zdraví. Poněvadž je však na tyto dvě skupiny látek zaměřena celá tato diplomová práce, budou detailněji popsány až v následujících kapitolách.

Vzhledem ke všem výše uvedeným informacím je zřejmé, že polutanty představují velké riziko. Je proto zcela jisté na místě se o ně zajímat a snažit se jejich koncentraci v životním prostředí redukovat. Tímto můžeme zajistit snížení negativních dopadů na lidský organismus i ekosystémy.

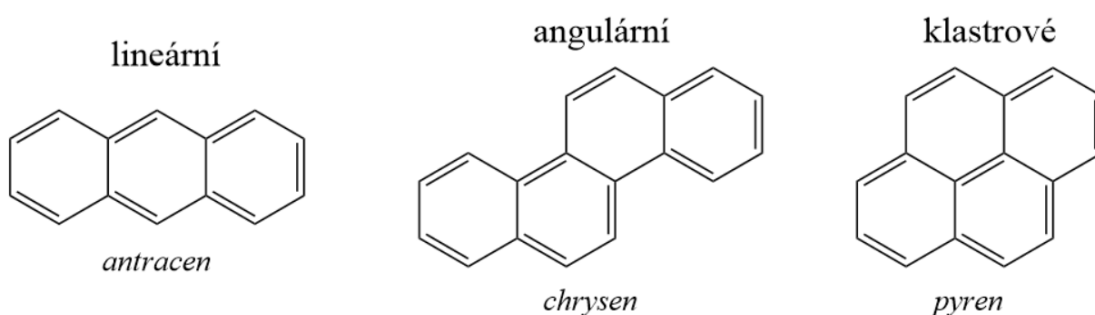
2.2 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH)

2.2.1 Obecná charakteristika

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) tvoří skupinu chemických látek, pod kterou spadají organické sloučeniny tvořené nejméně dvěma benzenovými jádry. Neobsahují žádné heteroatomy ani substituenty, jejich struktura je tvořena pouze uhlíkem a vodíkem. Podle počtu benzenových jader se dělí na lehké PAH (dvě až čtyři jádra) a těžké PAH (více jak čtyři benzenová jádra). [33]

Fyzikální a chemické vlastnosti

Vyskytují ve třech základních uspořádáních: lineární, angulární a klastrové (Obr. 4). Nejméně stabilní je uspořádání lineární, které můžeme pozorovat např. u antracenu. O něco více stabilnější je klastrové uspořádání, které představuje jedno z benzenových jader obklopeno alespoň třemi dalšími jádry, jako je tomu například u pyrenu. Nejvíce stabilní je uspořádání angulární, které reprezentuje např. chrysen. Většina polycyklických aromatických uhlovodíků ovšem nezaujímá přesně jedno z těchto tří uspořádání, ale vyskytuje se v jakýchsi hybridních formách vzniklých kombinací těchto tří základních. Mohou také vznikat deriváty těchto látek, kupříkladu aminoderiváty, ty se ale již neřadí mezi PAH, jelikož nejsou tvořeny pouze uhlíkem a vodíkem. [34]



Obr. 4: Strukturní uspořádání PAH [34]

Kromě uspořádání, které má vliv na jejich stabilitu, jsou jejich vlastnosti závislé také na molekulární hmotnosti. Se zvyšující se molekulární hmotností se totiž zvyšuje bod tání a bod varu. Zvyšuje se také odolnost vůči oxidaci nebo redukci, takže vyšší polycyklické aromatické uhlovodíky jsou více perzistentní. Naopak dochází k poklesu tenze par. Se zvyšující se molekulární hmotností klesá také rozpustnost ve vodě. V organických rozpouštědlech jsou ovšem rozpustné velmi dobře, jelikož jsou to látky lipofilního charakteru, který ještě roste s každým dalším přidaným benzenovým jádrem. [35]

Vzhledem k jejich bodům tání a varu se jedná za normálního stavu o látky pevné, které mohou být bezbarvé, bílé či světle žluté. Mají také velmi specifická UV absorpční spektra, která mohou usnadňovat jejich identifikaci. Většina PAH je rovněž schopna fluorescence. Kromě dalšího se tyto látky projevují i tepelnou vodivostí, citlivostí na světlo nebo odolností vůči korozi. [35]

PAH v životním prostředí

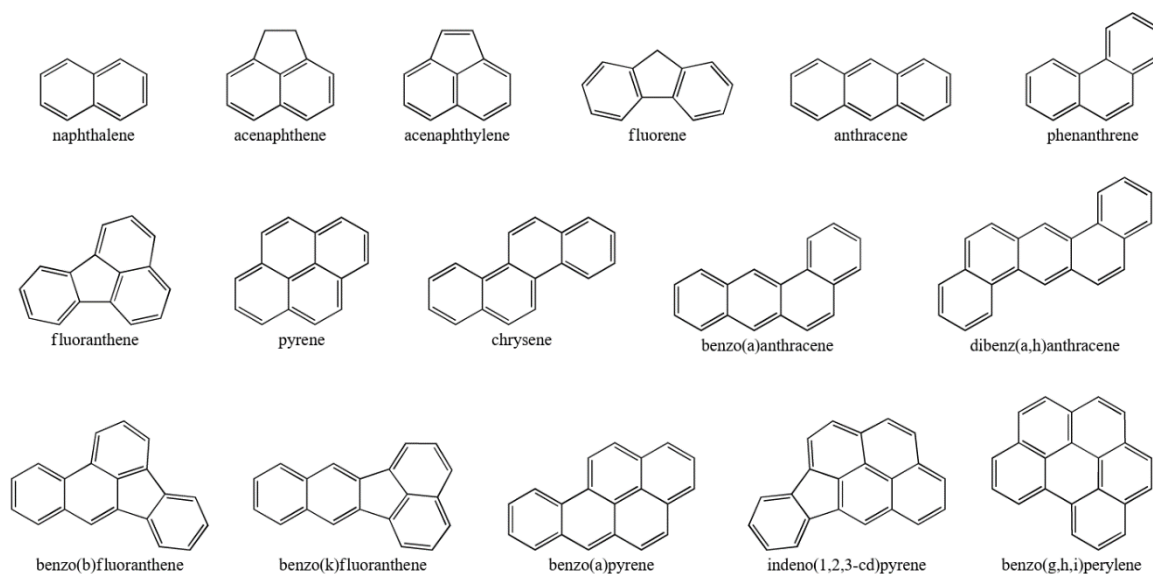
S molekulovou hmotností souvisí také jejich distribuce v půdě. Lehčí PAH jsou těkavější, mohou se proto z půdy vypařit a spíše se distribuovat do ovzduší, zatímco těžší PAH v půdě zůstávají sorbovány na pevné částice (nejčastěji na organické zbytky). [36] Šíření těchto látek prostředím je velmi účinné, takže se mohou dostat i na místa, kde by díky neexistujícím zdrojům znečištění ani nebyly očekávány. Jako příklad lze uvést studii, ve které byly polycyklické aromatické uhlovodíky nalezeny na Arktidě. [37]

PAH se tedy vyskytují v životním prostředí jak v ovzduší, tak v půdě a mohou se vyskytovat dokonce i ve vodě. Zde jsou ale většinou, z důvodu své vysoké lipofility, sorbovány na pevné částice. Zdroje polycyklických aromatických uhlovodíků mohou být přírodního i antropogenního charakteru. Mohou vznikat při nedokonalém spalování (za nízké nebo téměř žádné přítomnosti kyslíku) jak dřeva, plynu, ropy nebo uhlí, tak také odpadků, tabáku či masa. Některé z přírodních zdrojů tedy mohou být lesní požáry nebo sopečná činnost, antropogenně se mohou PAH dostat do životního prostředí ve výfukových plynech při spalování pohonných hmot, z průmyslu ale i z odpadních vod domácností. [38,39]

V životním prostředí jsou intenzivně sledovány. Jsou totiž typickými zástupci perzistentních organických látek (POPs), poněvadž vykazují vysokou toxicitu, perzistenci, bioakumulaci a migraci na velké vzdálenosti. [40] Představují také zdravotní rizika, a to jak karcinogenní, tak i nekarcinogenní povahy (v tomto případě mohou být mutagenní, teratogenní či imunotoxické). [41] Některé látky z této skupiny jsou ale přesto využívány, například pro výrobu barviv nebo plastů. Své uplatnění mohou také nalézt při výrobě pesticidů a některé bývají obsaženy i v asfaltu, který se používá při stavbě silnic. [38]

PAH a vliv na lidské zdraví

Kromě hrozby pro životní prostředí, jako například škodlivý vliv na růst rostlin či snižování propustnosti půdy a rozpustnosti kyslíku v ní, jsou polycyklické aromatické uhlovodíky hrozbou také pro lidské zdraví. [40] V životním prostředí lze sice najít více než 500 různých PAH, ovšem za rizikové pro lidské zdraví se pokládá hlavních 16 z nich, jejichž struktury jsou znázorněny na Obr. 5. Člověk tyto látky může dostat do těla mnoha způsoby, mezi něž patří například kouření cigaret, dýchání kouře z ohně, konzumace připálených potravin či potravin již znečištěných polycyklickými aromatickými uhlovodíky ale i přímým kontaktem s kůží. [38,42]



Obr. 5: Struktury 16 základních PAH kontrolovaných EPA [43]

Po expozici potom mohou nastat zdravotní komplikace, od těch méně závažných, jako může být třeba podráždění očí či nevolnost a zvracení, až po velmi závažné. Kromě podráždění očí mohou PAH způsobit také podráždění kůže, které může v některých případech vést až k riziku vzniku rakoviny kůže. Jak bylo totiž zmíněno už výše, některé z PAH jsou karcinogenní. Mimo rakovinu kůže mohou způsobovat i rakovinu hrtanu a hrdla. Vznik rakoviny byl pozorován i jako následek dlouhodobé expozice PAH u pracovníků, kteří jsou těmto látkám vystaveni. V uvedené studii se jednalo o vznik rakoviny plic, močového měchýře nebo gastrointestinálního traktu. PAH ovlivňují také reprodukční, endokrinní a nervový systém a způsobují patologické změny v dýchacích cestách, ledvinách či játrech. [44,45]

2.2.2 Metody extrakce PAH z půdy a sedimentů

Extrakce polycyklických aromatických uhlovodíků ze sedimentů je ztížena několika faktory. Jedním z nich je, jak již bylo zmíněno výše, hydrofobní povaha těchto látek, která má za následek jejich sorpci na pevné částice. Díky této sorpci se sice PAH stávají méně náchylnými k degradaci, ať už chemické či biologické, ztěžuje to ovšem celý extrakční proces. Dalším problémem bývá "stárí" materiálu, protože stárnutí podporuje uschovávání PAH do mikropórů částic půdy, čímž se jejich ochota extrahovat se ještě sníží. Mezi metody používané pro extrakci polycyklických aromatických uhlovodíků patří Soxhletova extrakce, extrakce za pomoci ultrazvuku, akceleroaná extrakce, superkritická a subkritická extrakce, mikrovlnná extrakce, extrakce na pevné fázi či termická desorpce. [46,47]

Tradiční metodou pro extrakci PAH z půd je extrakce s využitím Soxhletova extraktoru. Při ní dochází k opakované extrakci stále čistým rozpouštědlem, protože je vždy regenerováno pomocí refluxu. Nevýhodou tohoto typu extrakce jsou velmi dlouhé extrakční časy (až dny) a nutnost použití větších objemů rozpouštědel. Proto se od ní postupem času upouští a přechází se na jiné, rychlejší a často i ekologičtější varianty. Dalším problémem Soxhletovy extrakce jsou také vyšší pracovní teploty, které mohou ovlivňovat extrakci těkavějších nebo termolabilních analytů. Ty totiž mohou degradovat, pokud jsou vystaveny příliš dlouho vysokým teplotám. [47]

Jednou z metod rychlejších než Soxhlet je například extrakce asistovaná ultrazvukem (UAE). Tato metoda je časově, materiálově i přístrojově nenáročná, vzhledem k tomu, že je k ní zapotřebí pouze vzorek sedimentu či půdy, vybrané rozpouštědlo a ultrazvuková lázeň. Navíc vykazuje srovnatelné výsledky se zavedenou Soxhletovou metodou. [48]

Je také účinná pro extrakci menších množství vzorku. Pro dobrou reprodukovatelnost je ale nutno optimalizovat podmínky jako je složení a objem rozpouštědla, doba extrakce či počet opakování. Její nespornou výhodou, kromě časové, přístrojové a finanční nenáročnosti a také jednoduché předpřípravy vzorku, je její nízká extrakční teplota. Také je možno simultánně extrahovat několik vzorků v jedné ultrazvukové lázni oproti extrakci pouze jednoho vzorku v jednom Soxhletově extraktoru v jeden čas. [49]

Další metodou používanou pro extrakci PAH z půd a sedimentů je akcelerovaná extrakce rozpouštědlem. Jejím nesporným plusem je, jak již název napovídá, rychlost, která může výrazně zkrátit čas extrakce. Tohoto zrychlení je dosahováno zahřátím rozpouštědla nad jeho bod varu, díky vyššímu tlaku zůstává ale stále v kapalně fázi. Tímto je zvýšena kapacita rozpouštědla a zároveň vyšší tlaky napomáhají odstranění možných vzduchových bublinek ve vzorku, takže se větší část vzorku může efektivně dostávat do styku s rozpouštědlem. Některé studie uvádí, že použití této extrakční techniky výrazně zvyšuje výtěžnost polycyklických aromatických uhlovodíků z půd a sedimentů. Je zde také velmi jednoduchá příprava vzorku pro extrakci a oproti Soxhletově extrakci se využívá znatelně menších objemů rozpouštědel. [50]

Kromě akcelerované extrakce se využívá i superkritická fluidní extrakce, s oxidem uhličitým jako látkou v nadkritickém stavu a přídavkem modifikátoru, například methanolu, pro účinnější extrakci. I tato metoda výrazně šetří čas a může délku extrakce zkrátit až na půl hodiny. Další výhodou je bezpochyby její vysoká selektivita, díky které není zapotřebí

předčištění vzorků. Také je zde absence organických rozpouštědel (až na modifikátory používané v některých případech), které mohou být toxické. Důležité ale je optimalizovat teplotu extrakce, jelikož při vyšších teplotách může docházet ke ztrátám analytů. [51] Mimo superkritickou fluidní extrakci lze pro extrakci PAH využít i metodu extrakce subkritickou vodou, která se taktéž ukázala jako účinná. [52]

Poměrně novinkou v oblasti extrakce PAH z půd a sedimentů je metoda QuEChERS, při které dochází k vysolování látek z roztoku, nejčastěji v přítomnosti acetonitrilu a vody. Její proces se skládá ze dvou částí, nejprve dochází k rozdělování fází a tzv. vysolování za třepání a následné centrifugace. Po centrifugaci je potřeba odebrat svrchní vrstvu a provést s ní ještě disperzní extrakci pevnou fází. I tato metoda byla úspěšně využita pro zjišťování přítomnosti polycyklických aromatických uhlovodíků z půd. [53]

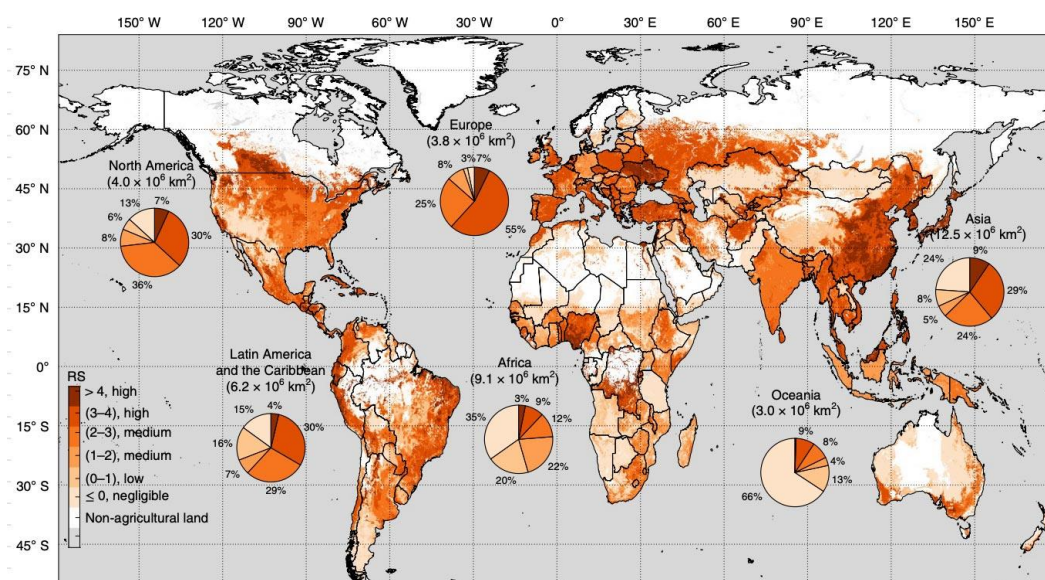
Kromě těchto metod extrakce, které vyžadují, aby byl vzorek v kontaktu s extrakčním činidlem, se ještě využívá těkavosti PAH. Vzorek se zahřeje a uniklé těkavé látky se zachytávají adsorpcí, nejčastěji na vlákno. Příkladem může být mikroextrakce na pevné fázi (SPME), která byla pro tyto účely využita například při analýze kontaminovaných sedimentů z norských přístavů. Výhodou této metody je, že lze provádět zcela bez rozpouštědla, stačí pouze vzorek lehce zahřát a těkavé PAH začnou ze sedimentů unikat a budou se adsorbovat na mikroextrakční vlákno. [54]

2.3 Pesticidy

2.3.1 Obecná charakteristika

Pesticidy jsou buď jednotlivé látky anebo směs takových látek, které slouží především k ochraně zemědělské produkce. Dle definice EPA jsou složeny z účinné látky a inertních složek. Účinná látka slouží k zabránění škůdcům způsobovat škody, ničí je, odpuzuje, případně omezuje jejich dopad. V některých případech může být účinná látka regulátorem růstu rostlin, defoliantem, desikantem nebo stabilizátorem dusíku. Všechny ostatní složky tvořící pesticid jsou nazývány inertní složky, které jsou důležité pro výkonnost a použitelnost výrobku. [55] V této práci je pod pojmem pesticid myšlena ve většině případů především ona účinná látka.

V dnešní době jsou pesticidy již nezbytnou součástí našich životů vzhledem ke stále vzrůstající populaci a tím pádem i zvyšující se spotřebě potravin. Bez používání pesticidů (správně naplánovaného a provedeného) by mohla být produkce některých zemědělských plodin až o 40 % nižší, než je nyní. Největší spotřeba pesticidů je v Asii, kde se v některých oblastech pohybuje až kolem 25 kg na hektar. Momentálně se na celém světě používá okolo 1200 různých pesticidů, některé z nich jsou ale v Evropě, například pro svou škodlivost, zakázány.[56] Mapa níže (Obr. 6) zobrazuje riziko znečištění zemědělské půdy pesticidy. Pochází ze studie, která tvrdí, že až 64 % půdy využívané v zemědělství je ohroženo znečištěním. To znamená, že v dané oblasti residua pesticidů překročila koncentraci, při které ještě nedochází k žádným nepříznivým účinkům na kvalitu vody, biologickou rozmanitost nebo lidské zdraví. [57]



Obr. 6: Mapa znázorňující oblasti ohrožené znečištěním pesticidy [58]

Hlavním zdrojem pesticidů je tedy logicky zemědělství, dalším ze zdrojů může být ale také lesnictví či textilní průmysl, konkrétně odpadní vody z textilních továren. Také komunální odpadní vody společně s průmyslovými odpady, které jsou v některých zemích vypouštěny přímo do vodních toků mohou za zvýšenou koncentraci těchto kontaminantů přírody. [56,59,60]

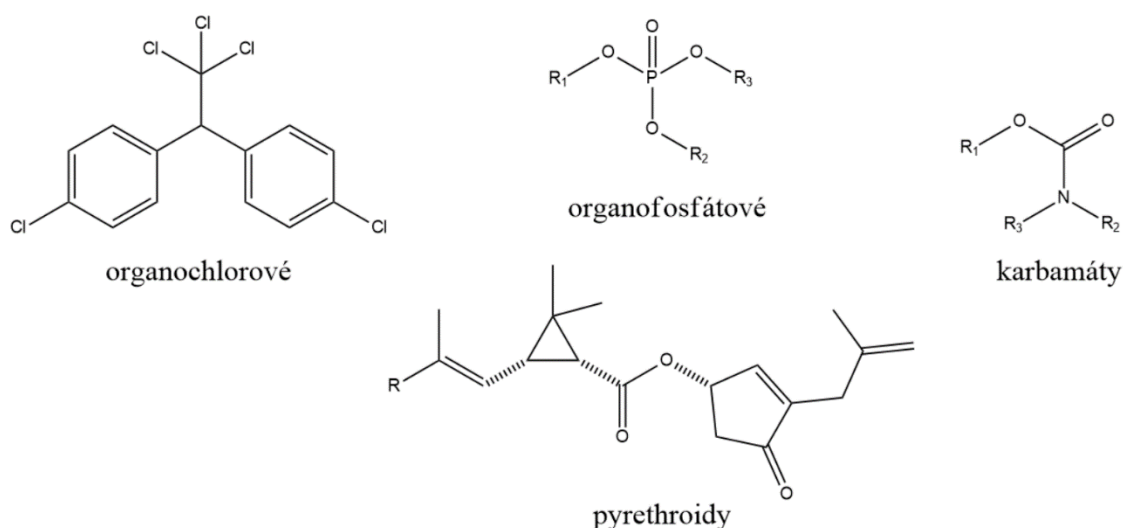
Nicméně problémem pesticidních přípravků není jen jejich ukládání ze zdrojů do půdy, jejich pohyb životním prostředím a ohrožení biologických systémů, které z toho plyne. Neblahý vliv mají také vysoké obsahy organických rozpouštědel, které se do těchto přípravků přidávají například pro jejich lepší aplikaci, která je ovšem také komplikací.

Nejčastější aplikace je totiž postřiky, během kterých může být velká část pesticidního přípravku odnesena větrem či spláchnuta vodou mimo cílenou oblast, takže až 95 % pesticidů se nemusí dostat k cílovým škůdcům. Při postřiku se pesticidy tedy kromě cíleného místa dostávají také do atmosféry, kde různými chemickými a fyzikálními interakcemi může docházet k vzniku nežádoucích meziproduktů. [56]

Pojem pesticidy zahrnuje širokou skupinu látek, která se může dále dělit. Kritéria dělení mohou být:

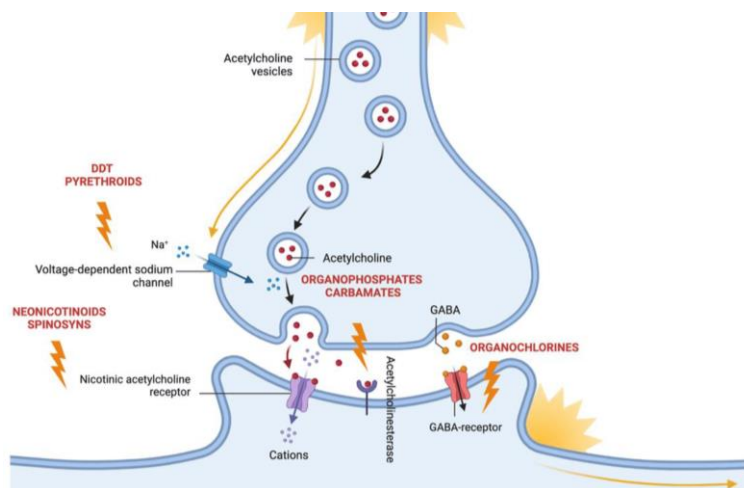
- způsob použití – postřiky, poprašovače, nátěry, pevné návnady, ...
- vznik
 - *biologické* – získávají se z přírodních zdrojů, např. pyrethrin z některých rostlin rodu *chrysanthemum* nebo azadirachtin z neemu (zederach indický)
 - *syntetické* – vyrábí se průmyslovými postupy
- selektivita
 - *širokospektrální* – regulace velkého množství druhů škůdců
 - *úzkospektrální* – regulace zaměřená pouze na malou skupinu škůdců
- cílený organismus
 - *insekticidy* – hmyz a další členovci
 - *herbicidy* – plevel a nechtěné rostliny
 - *rodenticidy* – myši, krysy, potkani a další hlodavci
 - *fungicidy* – houby, plísňe a hniloba
 - *akaricidy* – roztoči
 - *moluskocidy* – slimáci a hlemýždi
- chemická povaha
 - anorganická – sloučeniny na bázi kovů, například mědi
 - organická – sloučeniny na bázi uhlovodíků a jejich derivátů, například organofosfáty, karbamáty, pyrethroidy či organochlorové sloučeniny [61–64]

Mezi další typy pesticidů patří například defolianty rostlin, dezinfekční prostředky, regulátory růstu rostlin, nebo repelenty, které nezpůsobují smrt, ale mají za účel škůdce, ať už se jedná o hmyz nebo třeba ptáky, odpudit. [62]



Obr. 7: Příklady struktur některých skupin organických pesticidů [64]

Pesticidy mají mnoho mechanismů účinků, které budou přiblíženy v následujících podkapitolách, shrnutí hlavních cílů jejich působení je znázorněno na Obr. 8. Obecně mohou být pesticidy z hlediska vlivu na zdraví genotoxické, neurotoxické i mít endokrinně disruptivní účinky. Běžné zdravotní problémy, které souvisí s expozicí pesticidy, jsou neplodnost, neurologická onemocnění, hematologická a hormonální abnormalita. Byl prokázán také vznik autoimunitních chorob, respirační onemocnění či různých druhů rakovin. Kromě toho byl také zjištěn častější výskyt Parkinsonovy choroby, leukémie nebo autismu v obydlených oblastech blízko zemědělských pozemků, kde se pesticidy trvale používaly. [56]

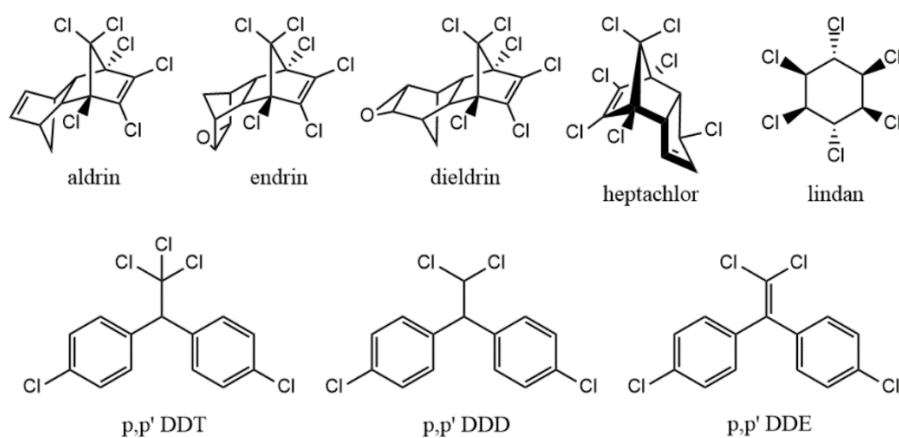


Obr. 8: Schéma hlavních cílů působení pesticidů v lidském organismu [65]

2.3.2 Organochlorové pesticidy

Organochlorové pesticidy jsou celosvětově používané, i přesto, že značná část látek patřící do této skupiny byla ve vyspělých zemích již zakázána. Jsou totiž vysoce toxické, lipofilní (ukládají se v tukách), velmi pomalu se rozkládají a v důsledku toho se mohou bioakumulovat. Jejich stabilita a těkavost jen přispívá k možnosti vysoké perzistence v prostředí, jelikož mohou ulpívat nejen v půdě ale také ve vzduchu. Do životního prostředí se dostávají samozřejmě z chemických postřiků plodin, ale dalšími možnými vstupy do přírody mohou také být odpady ze skládek nebo úniky z průmyslových továren, které organochlorové pesticidy vyrábí. [66]

Mezi typické zástupce těchto chlorovaných pesticidů patří: aldrin, endrin, dieldrin, heptachlor, lindan, p,p'-DDT (1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan), p,p'-DDD (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan), p,p'-DDE (1,1-dichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethylen). Většina výše uvedených látek se využívá hlavně jako insekticidy, třeba i v boji proti malárii a tyfu. Ovšem například lindan našel své využití i jako rodenticid a akaricid (pesticidy určené k hubení hlodavců a roztočů). [66]



Obr. 9: Struktury typických zástupců organochlorových pesticidů [66]

Mezi nejčastěji používané OCP (organochlorové pesticidy) patří zcela jistě DDT. S poločasem rozpadu 2 až 5 let má ovšem velmi vysokou perzistenci¹. Obecně je střední (až 60 dní) až vysoká (až 10-15 let) perzistence vlastnost, která je pro OCP typická. I z tohoto důvodu byla značná část organochlorových pesticidů klasifikována Stockholmskou úmluvou jako nebezpečná pro životní prostředí, a jejich používání by mělo být zakázáno. Bohužel,

¹ perzistence je definována s ohledem na prostředí jako poločas rozpadu delší než 2 měsíce ve vodě a 6 měsíců v půdě/sedimentu

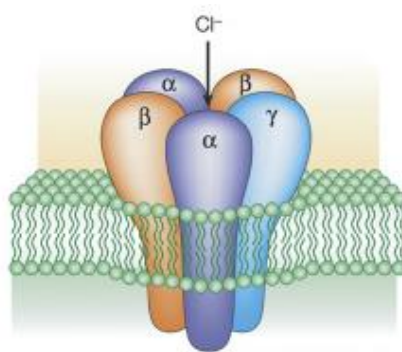
nejen DDT ale i další zakázané organochlorové pesticidy se v rozvojových zemích používají i přes tento zákaz. Například endosulfan je stále využíván při produkci kešu. Je to nejspíše způsobeno jejich nízkou cenou a také použitelností vůči široké škále škůdců, tedy jejich širokospektrálností. [66]

Toxicita OCP je způsobena zejména jejich působením na nervovou soustavu. Podle typu organochlorové sloučeniny se rozlišují dva známé mechanismy účinku těchto pesticidů. Jedná se o pesticidy typu DDT, tedy látky složené ze dvou p-substituovaných fenylových kruhů spojených uhlovodíkovým řetězcem monosubstituovaným methylenovým můstkem, a pesticidy cyklodienové, jako je například aldrin, endrin, dieldrin, heptachlor nebo endosulfan. U ostatních organochlorových pesticidů jiných struktur nejsou mechanismy účinku tolik prozkoumány. [67]

Toxicita pesticidů typu DDT souvisí především s působením na periferní nervový systém. Konkrétně se jedná o působení těchto látek na sodíkový kanál axonu. Tento typ látek zde zabraňuje deaktivaci a uzavření sodíkového kanálu po aktivaci a depolarizaci membrány. Takže sodíkové kationty mohou stále procházet iontovým kanálem a vytváří tím destabilizující záporný potenciál. Důsledkem je, že postižené nervy jsou zvýšeně drážděny (tzv. hyperexcitabilita), což má za následek řetězce opakujících se výbojů po jediném podnětu anebo se tyto výboje mohou v neuronu vyskytovat dokonce i spontánně, bez jakéhokoliv podnětu. [67]

Oproti tomu cyklodienové pesticidy působí na centrální nervový systém. Tyto pesticidy se váží na pikrotoxinové místo² v GABA_A receptoru. Toto navázání pesticidů následně inhibuje průchod chloridových aniontů. Dalším důsledkem navázání pesticidů na pikrotoxinové místo je také narušení inhibiční funkce neurotransmiteru GABA (kyseliny γ -aminomáselné), čímž opět dochází k hyperexcitaci neuronů. [67]

² pikrotoxin je sloučenina, která se na vazebná místa v GABA_A receptoru váže namísto neurotransmiteru GABA (γ -aminomáselná kyselina), čímž je pro neurotransmiter blokuje



Obr. 10: Schématické znázornění GABA_A receptoru [68]

Dalším možným mechanismem působení cyklodienových pesticidů se zdá být jejich vliv na vápenaté kanály a vápenato-hořečnatou pumpu. Inhibují totiž enzym Ca-Mg-ATPázu, který je zodpovědný za hydrolyzu ATP, což je hlavní hnací motor této pumpy. V důsledku této inhibice je poté inhibován influx vápenatých iontů, který je důležitý mimo jiné pro správný průběh akčního potenciálu. [66]

Vzhledem k toxicitě těchto organochlorových pesticidů je jistě na místě zmínit i jejich potenciální vlivy na lidské zdraví. Například aldrin nebo dieldrin mohou při dlouhodobé expozici způsobovat bolesti hlavy, závratě, chronické křeče, zvracení nebo nekontrolované pohyby svalů a při vysoké koncentraci i poškození ledvin a další účinky na nervový systém. Heptachlor je dokonce klasifikován jako potenciální lidský karcinogen třídy 2B a společně s chlordanem mají negativní vliv na reprodukci a novorozence. [69] Endosulfan má roli endokrinního disruptoru, čímž narušuje hormonální systém. [70]

Látky jako DDT a DDE jsou také spojovány s rizikem rakoviny prsu. Při expozici v raném věku dochází také ke snížení kognitivních a behaviorálních funkcí v následném vývoji a byla rovněž navržena spojitost mezi vyšší hladinou DDE a DDT v séru a zvýšeným výskytem diabetu. Alicyklické pesticidy jako hexachlorcyklohexan (HCH) mohou být zodpovědné za onemocnění jater, hematologické problémy (např. anémie), kožní léze a vypadávání vlasů. V raném věku mohou měnit hladinu hormonů štítné žlázy a všechny izomery HCH jsou považovány za rakovinotvorné. [69]

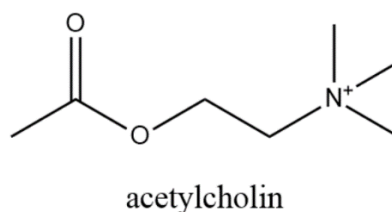
2.3.3 Organofosfáty

Organofosfáty mohou být základem herbicidních či insekticidních přípravků. Z chemického hlediska jsou organofosfáty estery kyseliny fosforečné a alkoholu, takže pokud dojde k jejich hydrolyze, může se z esterové vazby alkohol uvolňovat. Mezi typické zástupce využívané

v zemědělství pro regulování škůdců patří parathion, chlorpyrifos, diazon, malathion, fosmet nebo methylparathion. [71] Organofosfáty byly dlouhá léta používány v boji proti škůdcům v celosvětovém měřítku, nejspíše i kvůli jejich krátkodobému setrvání v životním prostředí. V posledních dvou desetiletích jsou ale postupně vytlačovány a nahrazovány karbamáty, které mají téměř totožný mechanismus účinku, ale kratší poločas rozpadu. [72]

Vedle využití organofosfátů (OP) v zemědělství, jsou tyto látky používány v průmyslu při výrobě plastů, rozpouštědel, zpomalovačů hoření, změkčovadel nebo maziv. Další možnosti uplatnění těchto látek mohou být ve veterinární medicíně a ve veřejné hygieně, kde se užívají ke kontrole cest šíření nemocí. Jako příklad lze uvést organofosfát malathion, který se využívá k léčbě svrabu, vši hlavových a vši krabích. Bohužel díky své toxicitě našly využití také ve válečných konfliktech. Už během druhé světové války byly organofosfáty jako nervově paralytické látky součástí nervového plynu. [71–73]

Cílem působení organofosfátů je enzym acetylcholinesteráza (AChE). Tento enzym rozkládá acetylcholin (ACh), který patří mezi neurotransmitery, na kyselinu octovou a cholin. Rozkladem acetylcholinu se tedy ukončuje synaptický přenos signálu v neuronech, hlavně v parasymptickém nervovém systému a mozku. Ovšem k tomuto rozkladu acetylcholinu díky organofosfátům nedojde, jelikož OP se váží na acetylcholinesterázu a fosforylují ji. Protože neproběhne hydrolýza, koncentrace acetylcholinu v neurosvalových synapsích se začne zvyšovat, což v případě hmyzu znamená okamžitou smrt. Centrální nervový systém hmyzu totiž využívá ACh jako hlavní excitační neurotransmitter a jeho zvýšená koncentrace má za následek mimo jiné zvýšenou stimulaci nikotinových cholinergních receptorů. [73]



Obr. 11: Struktura acetylcholinu

U savců nemusí nutně expozice organofosfátům znamenat usmrcení, ale může se projevit řada život ohrožujících účinků. Mezi jeden z nejzávažnějších patří bezpochyby útlum dýchacího centra, který může přejít až v dechové selhání. Zvýšená koncentrace ACh má totiž hyperstimulační účinky na centrální i periferní nervový systém. ACh může v tomto případě ovlivňovat dýchání skrz působení na nikotinové a muskarinové receptory, které jsou

součástí PreBötzingera komplexu, což je shluk neuronů považován za prvek vytvářející respirační rytmus. Dalším místem citlivým na zvýšené koncentrace ACh jsou nervové synapse v mozku, kde nadměrné zvýšení ACh může vyvolávat záchvaty až těžký status epilepticus čili epileptický záchvat trvající déle než 30 minut nebo řada epileptických záchvatů mezi kterými se pacient nevrátí do normálního mentálního stavu [74]. [73]

Mezi méně závažné příznaky intoxikace organofosfáty patří bolest hlavy, nevolnost nebo závratě. Může se objevovat také svalová slabost či třes, zvýšená sekrece slin, potu či slz a průjem nebo zvracení. Častým doprovodným jevem, který může pomoci s diagnózou otravy organofosfáty je mióza neboli zúžení očních zorniček. [75]

2.3.4 Karbamáty

Karbamáty se řadí mezi insekticidy a svým mechanismem účinku a strukturou jsou velmi podobné organofosfátům. Chemicky jsou karbamátové pesticidy N-methylkarbamáty odvozené od kyseliny karbamové. Mezi zástupce patří aldikarb, karbofuran, karbaryl, fenobukarb, oxamyl nebo pirimikarb. [76]

Mechanismus účinku se podobá organofosfátovým pesticidům. Taky se tedy váží na acetylcholinesterázu a v tomto případě způsobují její karbaminaci v synapsích neuronů a neurosvalových spojích. Na rozdíl od OP se ale váží reverzibilně. [76] Tato inhibice acetylcholinesterázy má stejně jako v případě organofosfátů za následek zvýšenou koncentraci acetylcholinu v synapsích a neurosvalových spojeních, a tedy zvýšení stimulace těchto nervových zakončení. [77]

Kromě inhibice acetylcholinesterázy jsou některé karbamáty také endokrinní disruptory a mohou způsobovat oxidativní stres. Při oxidativním stresu, vzniklém působením těchto pesticidů, se produkují metabolity a reaktivní formy kyslíku, které mají neblahé následky na organismus. Vzniklé toxické meziprodukty jsou schopny poškozovat složky buněk včetně lipidů, proteinů a DNA, což může vést až k úmrtí dané buňky. Tento oxidační stres je také schopen narušit určité části buněčné signalizace nebo může způsobit vyčerpání zásob antioxidantů. [78]

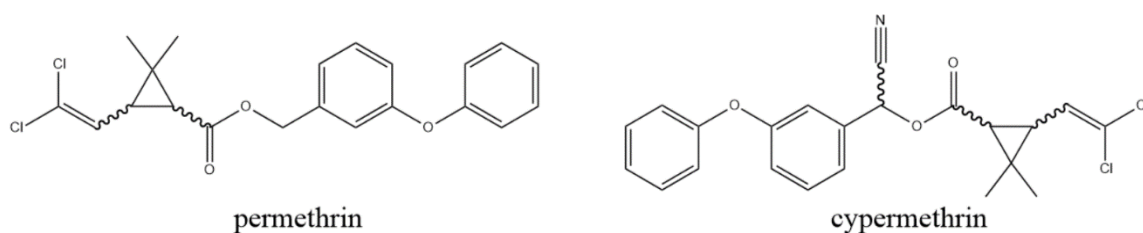
Vliv na lidské zdraví při expozici karbamáty tedy není zanedbatelný. Při nepříliš závažných otravách způsobují karbamáty nadměrné pocení, malátnost, závratě či rozmazané vidění. Může se také objevit bolest hlavy, zvracení, svalové záškuby a nekoordinovanost. Mezi závažné příznaky poté patří například kóma, záchvaty, hypotonie (snížené klidové

napětí svalu a snížená odolnost vůči pasivnímu pohybu [79]), hypertenze (zvýšený krevní tlak) až kardiální či respirační deprese. [80]

2.3.5 Pyrethroidy

Pyrethroidy se také řadí mezi insekticidy. V posledních desetiletích jejich používání proti škůdcům v zemědělství, na zahradách i v domácnostech rapidně vzrostlo a v současné době zaujímají pyrethroidy 25 % celosvětového trhu s insekticidy. Pyrethroidy mají být totiž náhradou za vysoce toxické organochlorové a organofosfátové pesticidy. [81] Světová zdravotnická organizace dokonce pyrethroidy doporučuje i k osobní ochraně proti malárii a viru Zika. [82] Pyrethroidy se využívají také v lesnictví, dřevařském a textilním průmyslu a ve veterinární medicíně. Mezi zástupce patří například cypermethrin, deltamethrin, permethrin, bifenthrin, cyfluthrin nebo fenpropathrin. [81,83]

Z chemického hlediska jsou pyrethroidy syntetické deriváty přírodních pyrethrinů, které patří mezi přírodní insekticidy. Pyrethriny, získatelné z rostliny *Chrysanthemum cinerariaefolium* (česky kopretina starčkolistá [84]), jsou ovšem na světle velmi nestabilní. Proto byly vytvořeny pyrethroidy, jejichž stabilita není světlem tolik ovlivněna. Pyrethroidy jsou také velmi chirální látky, mívají minimálně čtyři stereoizomery a každý z těchto stereoizomerů může mít jinou biologickou aktivitu. [81] Strukturně se pyrethroidy dělí na dvě skupiny. Látky patřící do skupiny I postrádají α -kyano skupinu, zde patří například permethrin nebo bifenthrin, naopak látky náležející do skupiny II α -kyano skupinu mají. [85]



Obr. 12: Struktura permethrinu, patřícího do skupiny I a cypermethrinu, patřícího do skupiny II [85]

Základem účinku těchto pesticidů je jejich narušování normální funkce nervů tím, že mění kinetiku pohybu iontů v napěťově řízených sodíkových kanálech. Tyto kanály zprostředkovávají přechodné zvýšení propustnosti sodíku, které je základem pro akční potenciál. Dochází tedy k prodloužené depolarizaci v neuronech, jelikož kanály jsou trvale otevřeny a sodíkové ionty mohou neomezeně přitékat do nervových buněk. Kromě

sodíkových kanálů, které jsou hlavním místem působení, mohou pyrethroidy ovlivňovat také vápníkové a chloridové kanály, GABA_A receptor a acetylcholinesterázu, jelikož modifikují vazebné místo pro substrát tohoto enzymu, čímž se sníží jeho enzymatická aktivita. [83,85]

Vzhledem k těmto účinkům je zcela jistě na místě zajímat se o jejich vliv na lidské zdraví. Pyrethroidy typu I, jejichž hlavním mechanismem je právě ovlivňování sodíkových kanálů, mohou mít za následek třes celého těla, agresivní chování nebo přecitlivělost. Pyrethroidy typu II, které navíc ovlivňují i chloridové kanály, způsobují zvýšenou produkci slin, hyperaktivitu a nekoordinovanost pohybů. [86] Pyrethroidy také vyvolávají oxidační stres, který může poškozovat DNA, bílkoviny nebo lipidy a mají negativní vliv na ledviny, játra a imunitní systém. [83]

2.3.6 Anorganické pesticidy

Anorganické pesticidy jsou ve srovnání s organickými podstatně jednodušší sloučeniny, většinou krystalické a snadno rozpustné ve vodě. Anorganické pesticidy byly také prvními chemickými pesticidy, zejména proto, že je lze získat z neživých přírodních zdrojů. Tyto pesticidy neobsahují sloučeniny uhlíku, část z nich však může obsahovat těžké kovy, které jsou bohužel velmi perzistentní a toxické. Velké množství těžkých kovů se nacházelo hlavně v dříve využívaných anorganických pesticidech, které jsou dnes používány pouze zřídka. Jednalo se například o arsen nebo rtuť. Celkově by se dalo říct, že až na některé výjimky nemají anorganické pesticidy v moderním zemědělství velké uplatnění a jsou zastíněny organickými pesticidy. Mezi výjimky patří například sloučeniny na bázi mědi a sloučeniny na bázi síry, které se využívají jako fungicidy. Například směs Bordeaux, důležitý fungicid používaný v ovocných sadech, obsahuje síru, měď a vápno. [87,88]

Vzhledem k rozdílnému chemickému složení mají tyto pesticidy i rozdílné využití a rozdílné mechanismy působení. Například pesticidy na bázi antimonu se využívají v jedech pro mravence, sloučeniny s arsenem se používají nejen jako insekticidy ale i jako herbicidy a sloučeniny obsahující síru jsou již dlouhá léta využívány proti roztočům. Některé z dříve používaných anorganických pesticidů se také opět začínají vracet zpátky do našich životů. Například kryolit, hexafluorohlinitan sodný, se znovu využívá jako insekticid na ovoce a zeleninu, stejně jako kyselina boritá, která je využívána v domácnostech proti švábům či jiným lezoucím škůdcům. [89]

Jak již bylo zmíněno, díky různorodosti této chemické skupiny mají také pesticidy různé mechanismy účinku na organismus. Například silikagely, které je taktéž možno využít v boji proti hmyzu, fungují tak, že absorbují vosky na povrchu hmyzu, což způsobí neustálou ztrátu vody z těla a hmyz následně umírá na dehydrataci. Podobně je tomu při použití kyseliny borité, která je ještě navíc žaludečním jedem. Pesticidy na bázi arsenu ovlivňují například oxidační fosforylaci a způsobují koagulaci bílkovin, zatímco pesticidy obsahující fluor inhibují enzymy důležité například k produkci energie v buňkách. [65,89]

Některé z anorganických pesticidů nejsou pro lidi závažně škodlivé, jako například halidy, které mohou způsobit pouze podráždění očí a kůže. [90] Podobný vliv na lidské zdraví mají také pesticidy na bázi mědi. [91] Ovšem některé z anorganických pesticidů mohou mít nedozírné následky. Například při dlouhodobé expozici pesticidy s arsenem, který je pro člověka karcinogenní, může dojít k rozvoji rakoviny kůže, plic, jater či ledvin. Jeden z možných dopadů na lidské zdraví lze vidět i na obrázku níže (Obr. 13). Zásobárnou pitné vody pro rodinu, ze které osoba na obrázku pochází, byla studna, v jejíž blízkosti byly použity v průběhu let téměř 2 tuny pesticidů na bázi arsenu. [92]



Obr. 13: Kožní výrůstky způsobeny dlouhodobou expozicí pesticidům s arsenem [92]

2.3.2 Metody extrakce pesticidů z půdy a sedimentů

Jelikož jsou pesticidy rozsáhlá a různorodá skupina chemických látek, není zcela jednoduché stanovit jejich celkový obsah. Většinou se tedy studie zaměřují na extrakci a analýzu pouze určité skupiny pesticidů, například organochlorových nebo organofosfátových. Organofosfátové pesticidy se nebudou ve velké míře v sedimentech zadržovat, jelikož mají

poměrně vysokou rozpustnost, budou se tedy spíše vyskytovat ve vodě. Oproti tomu organochlorové pesticidy lze v sedimentech nalézt ve velkém množství, jelikož se zde sorbují na pevné částice. Je to z důvodu jejich nízké polaritě a rozpustnosti ve vodě, která je například pro DDT je udávána jako $1,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ až $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. [93,94]

Jak již bylo naznačeno, pro svou silnou afinitu k částicím půdy a sedimentů se organické pesticidy většinou neextrahují jednoduše. Problémem je, kromě složitosti matrice, také fakt, že zemědělci kvůli střídání plodin musí používat různé pesticidy proti různým škůdcům a výsledkem je tedy velmi různorodá směs. [93] Ovšem extrakce je samozřejmě možná a stejně jako tomu bylo u polycyklických aromatických uhlovodíků, i v případě pesticidů lze pro jejich extrakci z půdy a sedimentů využít velké množství extrakčních metod. Jako příklady lze uvést Soxhletovu extrakci, extrakci asistovanou ultrazvukem, mikrovlnnou extrakci, akcelerovanou extrakci, superkritickou fluidní extrakci, extrakci pevnou fází nebo extrakci metodou QuEChERS. [95–99]

Soxhletova metoda se jako tradiční metoda široce využívá pro extrakci organických polutantů z pevných vzorků, jelikož je považována za schopnou podávat spolehlivé výsledky. [99] Jak již bylo ovšem zmíněno výše, má několik nevýhod, mezi které patří časová náročnost, velké objemy rozpouštědel a poměrně vysoké teploty. [47] Byla ovšem využita například ve studii sedimentů z jezera Taihu [99] nebo z přírodního parku v Gironě ve Španělsku. [100]

Naproti tomu extrakce asistovaná ultrazvukem má pro extrakci pesticidů ze sedimentů poměrně velké využití. Její výhodou oproti obyčejnému vytřepávání je lepší a účinnější kontakt mezi vzorkem a rozpouštědlem, z čehož logicky vyplývají vyšší výtěžky, než by byly u extrakce vytřepáváním. [99] Ve studii z roku 2005 provedené pro analogy DDT byla extrakce ultrazvukem stejně účinná či dokonce lepší než Soxhletova extrakce. [101] Ultrazvuková extrakce se zdá být také vcelku univerzální metodou, jelikož byla použita nejen pro extrakci několika skupin pesticidů zároveň [93,102], což může být obtížné, ale také pro současnou extrakci pesticidů i léčivých látek ze sedimentů Dunaje a jeho srbských přítoků. [103]

Další metodou extrakce, která se ukazuje jako velmi vhodná pro extrahování pesticidů ze sedimentů je akcelerovaná extrakce. Tato metoda se ukázala jako nejvýhodnější například ve srovnání s ultrazvukovou a Soxhletovou extrakcí pro analogy DDT. Důvodem byla nejen malá spotřeba rozpouštědla a krátké trvání, ale také vysoká úroveň automatizace

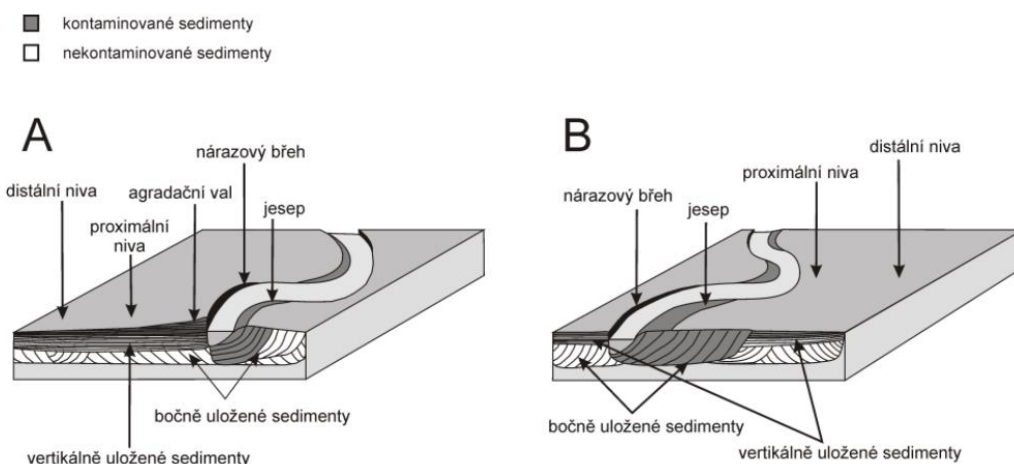
a nízké riziko pro životní prostředí. [101] Tento typ extrakce byl poprvé využit pro analýzu kontaminantů životního prostředí v roce 1995 a je také přijat EPA jako možná extrakční metoda pro organické látky z půdy, vody a biologických matric. [99] Akcelerované extrakce bylo využito například ve studii ohledně analýzy organochlorových pesticidů v sedimentech v Rumunsku. [104]

I metoda QuEChERS lze použít pro extrakci pesticidů ze sedimentů. Využita byla například ve studii znečištění sedimentů, kalů a půd v povodí řeky Turii ve Španělsku. [105] Tato extrakční metoda byla také použita na zjišťování výskytu některých pesticidů v řekách Čech a Moravy (součástí studie byla například řeka Berounka, Dyje, Labe, Ohře nebo Ostravice) v České republice, kde se prokázala jako použitelná pro tento typ vzorků. Navíc bylo možno ji realizovat rychle bez složité přípravy vzorků. [106]

Kromě těchto a výše zmíněných aktivních extrakčních metod lze pro pesticidy využít i techniky pasivního vzorkování. Sice se nejedná přímo o extrakční metodu, je to ale další z možností, jak zlepšit odhalení nízkých koncentrací analytů, a to díky kontinuálnímu odběru. Ve studii provedené v roce 2018 v Keni byly k tomuto pasivnímu vzorkování, a tedy vlastně zakoncentrovávání analytů, úspěšně využity vzorkovače ze silikonové pryže a vzorkovače Speedisk. [107]

2.4 Využití separačních metod pro analýzy sedimentů

Analýza sedimentů, ať už řek či jezer nebo vodních nádrží, je velmi důležitá pro dokreslení celkového obrazu znečištění daného vodního ekosystému. Díky analýze sedimentů je dokonce možno zjišťovat vývoj znečištění i v průběhu například uplynulých 50 let. Každoročně se totiž vytváří nová vrstva sedimentů o tloušťce několik milimetrů, která překrývá tu původní a jejím následným datováním (metoda ^{14}C) a chemickou analýzou můžeme takováto data získat. Obecně nejvýznamnější z hlediska znečištění jsou sedimenty do hloubky asi 30 cm, jelikož u této vrstvy dochází k rychlé výměně mezi vodou a jsou zde, většinou adsorpcí, zadržovány různé organické a anorganické látky (např. kovy, toxické organické látky nebo nutrienty obsahující dusík a fosfor). [94]



Obr. 14: Prostorové rozložení polutantů pro dva různé způsoby uložení sedimentů [108]

Sorpční schopnost sedimentů, díky které jsme poté schopni analyzovat naadsorbované polutanty, závisí na několika faktorech. Jedním z nich je chemické složení sedimentu, dalším je zrnitost frakce sedimentu a poslední jsou okolní podmínky, jako je pH či oxidačně redukční potenciál. Obecně platí, že významnou sorpční schopností disponují především jílové minerály, křemičitany a humáty. Také platí, že čím menší částice je, tím vyšší sorpční schopnosti má. Při podrobnějších analýzách se tedy kromě samotného složení a identifikace látek zjišťují i sorpční schopnosti předložených frakcí. [94]

Před samotnou analýzou je nutné vzorek získat. Vzorky sedimentů se odebírají buď náhodným vzorkováním anebo systémem šachovnice, záleží na oblasti, počtu vzorků a množství vzorku. Vždy se také vyplatí odebrat i nekontaminovaný vzorek z blízké oblasti pro porovnání. Při vzorkování sedimentů je také nutné, oproti třeba vzorkování půd, brát v úvahu i sezónní změny v průtoku nebo hloubku vodního toku a je důležité odebírat nekovovými materiály, aby nedošlo ke kontaminaci. Po odebrání by vzorky měly být řádně uzavřeny, například v polyethylenových nádobách a uschovány nejlépe ve tmě. Je samozřejmě možné je prosit, aby byly zbaveny větších částí, jako mohou být třeba kameny nebo kořeny, ale není příliš doporučováno je vysoušet při vyšších teplotách např. při 110°C, jelikož může dojít ke ztrátám obsažených těkavých látek. Takto připravené vzorky jsou poté nachystány na vlastní analýzu. [109]

V enviromentální analýze se pro zkoumání složení a identifikace látek využívá jak kapilární elektroforézy, tak chromatografie (plynová i kapalinová), která je pro analýzu sedimentů využívána nejčastěji. Pro analýzu těkavých látek ze sedimentů lze sice využít některé metody používané pro analýzy těkavých látek ve vodě, jinak je ovšem analýza

sedimentů velmi komplikovaná. Nejen z důvodu složité matrice a ale také, pokud se jedná o těkavé analyty, je předúprava vzorku velmi závislá např. na obsahu vody. Pro analýzu netěkavých látek ze sedimentů už tak velká omezení nejsou, je tedy mírně jednodušší na provedení. [109]

Plynová chromatografie (GC) má v analýze sedimentů široké využití. Může se jednat jak o běžnou plynovou chromatografii, tak lze pro tento typ analýz využít i pyrolyzní plynovou chromatografii. Ta může fungovat jako dobrý kompromis mezi vysoce informativní plynovou či kapalinovou chromatografií, která je ovšem náročná na chemickou „mokrou“ extrakci pomocí rozpouštědel, a rychlejšími NMR či FTIR, které nemusí poskytovat tolik informací. Mezi výhody pyrolyzní plynové chromatografie patří téměř neexistující předúprava vzorku, jelikož stačí pouze vzorek vysušit, a použitelnost i na vzorky o hmotnosti menší než mg. [110]

Kapalinová chromatografie (LC) má také své nezastupitelné místo v analýzách sedimentů a obecně životního prostředí. Na rozdíl od plynové chromatografie se ovšem zaměřuje spíše na analýzy netěkavých látek. Nejčastěji jsou analýzy za pomoci kapalinové chromatografie prováděny v systému reverzních fází, který je vhodný pro analyty až střední polarity. Typickými stacionárními fázemi jsou v tomto případě C8 a C18. Pokud jsou analyty vysoké polarity, je nutno přejít do systému normálních fází se silikagelem či podobnou látkou jako stacionární fází. [109] Mimo vlastní analýzu může být kapalinová chromatografie použita také jako forma předčištění nebo frakcionace pro následnou analýzu plynovou chromatografií. [111,112]

2.4.1 Analýza polycyklických aromatických uhlovodíků

Pro analýzu polycyklických aromatických uhlovodíků, které jsou jedním ze zaměření této diplomové práce, se využívá převážně plynové chromatografie. Je to z toho důvodu, že plynová chromatografie je velmi vhodná pro separaci látek, které jsou nepolární a těkavé, což polycyklické aromatické uhlovodíky splňují. Upřednostňováno je hlavně spojení plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem, zejména proto, že nabízí spolehlivou identifikaci analytů nejen podle retenčního času, ale také podle hmotnostního spektra. [113]

Při spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií se běžně využívá různých módů, například single ion monitoring (SIM) nebo multiple reaction monitoring (MRM). Pro

analýzy PAH se běžně MRM mód, při kterém je zvolen jak prekurzorový ion vstupující do kolizní cely, tak výsledný fragmentační ion vystupující z kolizní cely, příliš nepoužívá. Ovšem režim SIM, při kterém se sleduje většinou nejintenzivnější pík hmotnostního spektra, typický pro daný analyt, je pro PAH analýzy velmi běžný. Tato metoda je totiž mnohem selektivnější než pouhé skenování celého hmotnostního spektra. To je pro PAH analýzy velkou výhodou, jelikož se většinou vyskytují, i v extraktech, stále s velkou spoustou balastních látek. Metoda SIM byla využita například pro PAH analýzu sedimentů řeky Eufrat či v Argentině. [114,115]

Kapalinová chromatografie může být také využita pro tento typ analýz. [116] Oproti plynové chromatografii je dle agentury EPA dokonce schopna rozlišit všech 16 sledovaných polycyklických aromatických uhlovodíků. Plynová chromatografie, popsána v Metodě 601 agentury EPA totiž není schopna rozlišit čtyři páry PAH a jejich koncentrace je udána pouze jejich společnou sumou. Jedná se o páry: antracen a fenantren, chrysen a benzo(a)antracen, benzo(b)fluoranthén a benzo(k)fluoranthén, dibenzo(a,h)anthracen a indeno(1,2,3-cd)pyren. [117] LC či spíše HPLC (ultra účinná kapalinová chromatografie) mohou být v případě PAH analýz využity, jak již bylo zmíněno výše, i jako další způsob přečištění před samotnou GC analýzou. [118]

2.4.2 Analýza pesticidů

Analýza pesticidů může být, stejně jako analýza PAH, prováděna plynovou chromatografií. Kromě analýzy organochlorových pesticidů, což je skupina, která je v rámci pesticidů hlavním zaměřením této práce, lze pomocí GC analyzovat i pesticidy jiné chemické povahy či dokonce analyzovat několik odlišných chemických skupin pesticidů zároveň. [119] Jednou z výhod použití plynové chromatografie je také možnost užití termické desorpce pro zavedení analytů do chromatografu. Této metody bylo využito například pro rybniční sedimenty ve Francii. [120]

Nicméně kapalinová chromatografie má také mnohá využití v této oblasti analýz. Velmi časté je její použití pro společnou analýzu pesticidů a farmak ze vzorků sedimentů. Kromě společné analýzy těchto dvou skupin kontaminantů ze sedimentů je možno ji využít i pro analýzy vody či rostlinného materiálu. [103,121] Příkladem může být již zmíněná studie ze Srbska, ve které byly zjišťovány hladiny farmak a pesticidů z Dunaje a jeho přítoků právě pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. [103] Kapalinovou chromatografií, stejně jako v případě polycyklických

aromatických uhlovodíků, je také možno využít, společně s gelovou permeační chromatografií, pro předčištění vzorku před GC analýzou. [122]

Nejčastějším detektorem, ať už pro plynovou nebo kapalinovou chromatografii, je nepochybně hmotnostní spektrometr. Pro některé pesticidy je možno využít i detektoru elektronového záchytu (ECD), ten ovšem neposkytuje tolik možných módů detekce jako tandemový hmotnostní spektrometr. Pro analýzy pesticidů jsou tyto možnosti tandemové hmotnostní spektrometrie často využívány, ať už se jedná o režim SIM či MRM. MRM mód bývá používán i ve spojení s plynovou chromatografií, častěji je ale využíván pro LC a HPLC analýzy. [123] Monitorování pomocí SIM je pro analýzy pesticidů také využitelné, právě často ve spojení s plynovou chromatografií, jako tomu bylo například v analýze sedimentů jihokorejských jezer. [124]

2.4.3 Analýza ostatních polutantů

Kromě výše uvedených kontaminantů se v sedimentech nachází celá řada dalších polutantů, které ovšem nejsou hlavním zaměřením této práce, proto se o nich zmíníme jen krátce.

Plynová chromatografie je kromě analýzy PAH a pesticidů vhodná také pro analýzy polychlorovaných či polybromovaných bifenyků. Díky spojení s hmotnostním spektrometrem, který je schopen pracovat v režimu MRM, lze plynovou chromatografii využít také pro vícesložkovou analýzu organických kontaminantů, jelikož tyto typy analýz umožňují vysokou selektivitu [125].

Kapalinová chromatografie se naproti tomu ukázala jako velmi vhodná například pro analýzy farmak, které jsou také jedny z rizikových kontaminantů životního prostředí. Dokazuje to například studie, provedená ve švédském Stockholmu, kde bylo spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií úspěšně využito pro analýzu mořských sedimentů v přístavu. [126] Je možno ji využít také pro analýzu sterolů, například fekálních sterolů, které se do životního prostředí dostávají skrz nečištěné odpadní vody. Tyto fekální hormony poskytují spolehlivější doklad o znečištění vodních ekosystémů než mikrobiologické indikátory jako fekální koliformní bakterie, které mají malou životnost i odolnost vůči vyšším teplotám. [127]

Ve studii provedené v Srbsku byl pro kapalinovou chromatografii využit hmotnostní spektrometr, který je častým detektorem pro tyto druhy analýz, v MRM módu. Jednalo se

o analýzu vybraných hormonů a sterolů, která byla díky MRM mnohem selektivnější a citlivější. V této studii byla také popsána účinnost ionizačních technik, jelikož ionizace elektrosprejem (ESI) nebyla oproti chemické ionizaci za atmosférického tlaku (APCI) účinná na všechny předložené analyty. [128]

Kapalinovou chromatografií lze využít také pro analýzu těžkých kovů. Díky spojení kapalinové chromatografie s ionizací indukčně vázaným plazmatem a hmotnostní spektrometrií (LC-ICP-MS) lze kromě samotných těžkých kovů analyzovat dokonce i jejich specíe. Toto spojení bylo využito ve studii z roku 2015, kde bylo úspěšně použito pro analýzy specií rtuti. [129]

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

Aceton (p.a., mikroCHEM, Pezinok, Slovensko), n-hexan (99 %, p.a., PENTA, Praha, ČR), standard kalibrační mix polycyklických aromatických uhlovodíků (CRM47940, 10 µg/ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), standard mix organochlorových pesticidů (CRM46960, 2000 µg/ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), standardní půda obsahující organochlorové pesticidy (SQC0099-50G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), PSA bonded silica (ethylen diamin-N-propyl navázaný na silikagel) (SUPELCO, Bellefonte, USA)

3.2 Příprava vzorků

Reálné vzorky sedimentů řeky Bečvy odebrané týmem geologů Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci byly pouze prosévány přes síto. Z prosátých sedimentů bylo poté naváženo vždy 5 g do vialek o objemu 20 ml a po vyvinutí metody společné extrakce PAH a OCP se přistoupilo k samotné analýze.

Postup byl ovšem vyvíjen na standardních vzorcích. Ty v případě PAH sestávaly z 5 g půdy, která byla prosátá, a do které bylo přidáno takové množství standardu polycyklických aromatických uhlovodíků, které odpovídalo koncentraci 200 µg/kg. V případě OCP se jednalo buď o 5 g standardní půdy s obsahem organochlorových pesticidů, nebo, stejně jako v případě PAH, o 5 g půdy, která byla prosátá, a do které bylo přidáno takové množství standardu organochlorových pesticidů, které odpovídalo koncentraci 200 µg/kg. Takto připravené standardní vzorky byly poté extrahovány.

3.3 Příprava vzorků na analýzu

Bylo testováno několik možných způsobů extrakce požadovaných analytů z půdy (Soxhlet, ASE, QuEChERS, SPME, UAE). Jako extrakční činidlo byla po provedené rešerši literatury zvolena směs n-hexan:aceton v poměru 50:50 (v/v). Srovnání extrakčních metod bylo provedeno na půdě „ospikované“ standardem PAH (výsledná koncentrace každého PAH 200 µg/kg). Po skončení extrakce byly extrakty ze všech extrakčních metod (kromě SPME) odfoukány pro zakoncentrování a následně rekonstituovány 100 µl směsí n-hexan:aceton (50:50; v/v). Takto byly přeneseny do insertu vialky o objemu 2 ml a připraveny na

chromatografickou analýzu. V případě SPME bylo extrakční vlákno vloženo přímo do plynového chromatografu a analyty z něj byly desorbovány při 280 °C v inletu.

3.3.1 Soxhlet extrakce

Do extrakční patrony určené pro Soxhletovu extrakci bylo naváženo 7 g hlíny „ospikované“ standardem a vrchní část patrony byl ucpán vatou. Patrona byla poté vložena do Soxhletova extraktoru. Do skleněné zábrusové baňky s kulatým dnem, která byla umístěna v topném hnízdu, bylo přidáno 60 ml extrakčního činidla. Na skleněnou zábrusovou baňku byl umístěn Soxhletův extraktor s extrakční patronou a něj navazoval chladič. Celá extrakce trvala přibližně 2 hodiny, dokud se extrakční činidlo čtyřikrát nevrátilo zpět do spodní baňky.

3.3.2 ASE

Přibližně 5 g „ospikované“ hlíny bylo umístěno do extrakční cely. Zbytek extrakční cely byl doplněn akvarijním pískem až po okraj, pro lepší průběh extrakce. Pro akcelerovanou extrakci rozpouštědlem byl použit přístroj one PSE (Applied Separations Inc., Allentown, PA, USA). Byl zvolen již přednastavený program, který měl po dobu extrakce (10 minut) udržovat teplotu na 100 °C a tlak na 100 bar.

3.3.3 QuEChERS

Pro extrakční metodu QuEChERS bylo do centrifugační zkumavky dáno 5 g „ospikované“ hlíny a doplněno 5 ml vody. Tato směs byla následně protřepána a bylo přidáno 10 ml extrakčního činidla. Po dalším protřepání bylo přidáno 4 g MgSO_4 a 1 g NaCl . Celá směs byla 5 min vortexována a následně 10 min centrifugována (3500 rpm). Poté byly odebrány dvě horní oddělené vrstvy, ty byly přemístěny do nové extrakční zkumavky a k nim bylo přidáno 150 mg MgSO_4 a 50 mg PSA. Tato směs byla opět 5 min vortexována a 10 min centrifugována, tentokrát ovšem při 4400 rpm, a poté byla odebrána svrchní vrstva pro zakoncentrování a následnou GC/MS analýzu.

3.3.4 SPME

Extrakce pomocí SPME byla provedena ve dvou uspořádáních. V obou byl vzorek „ospikované hlíny“ (5 g) umístěn do krimpovací vialky o objemu 20 ml. V prvním případě probíhala extrakce pouze z pevného vzorku teplotní desorpcí. V druhém případě bylo ke

vzorku přidáno 60 ml extrakčního činidla. Obě vialky byly zakrimpovány a skrz septum bylo zavedeno extrakční vlákno. SPME extrakce probíhala po dobu 60 minut při zahřívání vialky na 60 °C.

3.3.5 UAE

Extrakční postup pro extrakci asistovanou ultrazvukem byl třífázový. Pokud se jednalo o standardní vzorky, byl objem přidaného extrakčního činidla následující: pro 1. extrakční krok 3 ml, pro 2. 1,5 ml a pro 3. 1 ml.

Všechny tři kroky extrakce asistované ultrazvukem trvaly vždy 15 minut. Během extrakce byly vialky se vzorky zakrimpovány a ještě zajištěny parafilmem, aby se zabránilo možnému odtěkání analytů. Po 15 minutách extrakce byl extrakt odebrán do plastové mikrozskumavky, která byla umístěna na 2 minuty do centrifugy. Zde byl centrifugován po dobu 2 minut při 1400 rpm. Po centrifugaci byla kapalná fáze odebrána do vialky o objemu 2 ml a odfoukána pod jemným proudem dusíku. Tento postup byl zopakován ve všech třech krocích extrakce. Extrakt po centrifugaci byl vždy přidáván do stejné vialky, aby došlo k co největšímu zakoncentrování analytů.

V případě reálných vzorků bylo nutné objem extrakčního činidla pro první extrakci navýšit, objemy byly tedy následující: pro 1. extrakční krok 4,5 ml, pro 2. 1 ml a pro 3. 0,75 ml. Objem extrakčního činidla pro první extrakci se vždy odvíjí od pórovitosti a velikosti částic daného vzorku, může se tedy pro různé vzorky různit. Základem ovšem je, že musí být přidáno takové množství extrakčního činidla, aby jeho hladina byla nad vzorkem v takové výšce, aby bylo po 1. extrakčním kroku možno odebrat alespoň 1 ml extraktu.

3.4 Chromatografické a hmotnostně-spektrometrické podmínky

Veškeré analýzy, které byly v rámci této práce provedeny, byly realizovány pomocí plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem s trojitým kvadrupólem Agilent 7010 se softwarem Mass Hunter. Separace proběhly s využitím teplotního gradientu a dvou (5% fenyl)-methylopolysiloxanových kapilárních kolon, které byly zapojeny v sérii s konstantním průtokem 1,0 a 1,2 ml/min.

Teplotní program, použitý pro tyto analýzy, byl nastaven na počáteční teplotu 40 °C, která byla držena 5 minut. Následně byla teplota zvyšována až na 300 °C s rychlostí 15 °C/min. Tato teplota (300 °C) byla držena po dobu 10 minut, než začala opět vzrůstat

rychlostí 15 °C/min až na 320 °C. Teplota 320 °C byla konečnou teplotou, která byla udržována po dobu 5 minut, až do konce analýzy.

Nástřik vzorku byl prováděn metodou splitless, objem nástřiku byl 1 µl. Nosným plynem bylo helium a kolizním plynem pro hmotnostní spektrometrii byl dusík.

Každý analyzovaný vzorek byl v prvním kroku měřen v módu TIC (celkový iontový proud, Total Ion Current) Na základě identifikace sledovaných látek pomocí srovnání jejich fragmentačních spekter s knihovnou přístroje byly vytvořeny metody pro analýzu za pomoci SIM a MRM módů, jejichž parametry jsou uvedeny v tabulkách níže (Tab. I – Tab. III).

Tab. I: Parametry SIM pro měření PAH

název	čas (od) [min]	m/z
naftalen	0,0	128
acenaftylen	13,0	152
acenaften		154
fluoren	15,0	166
anthracen	16,5	178
fenanthren		
fluoranthren	18,0	202
pyren		
benzo[a]anthracen	20,5	228
chrysen		
benzo[b]fluoranthren	22,0	252
benzo[k]fluoranthren		
benzo[a]pyren		
indeno[1,2,3-CD]pyren	24,5	276
dibenz[a,h]anthracen		
benzo[g,h,i]perylene		278

Tab. II: Parametry SIM pro měření OCP

název	čas (od) [min]	m/z
α-hexachlorocyklohexan	15,40	181
β-hexachlorocyklohexan		

γ -hexachlorocyklohexan (lindan)	15,40	181
δ -hexachlorocyklohexan		
heptachlor	17,30	100
chlordan		375
aldrin	17,60	66
heptachlor epoxid	18,30	353
endosulfan I	18,80	195
dieldrin	19,10	79
p,p'-DDE		246
endrin	19,35	81
endosulfan II		195
endrin aldehyd	19,66	67
endrin keton		227
methoxychlor		
p,p'-DDT		235
p,p'-DDD		

Tab. III: Parametry MRM pro měření vybraných OCP

název	čas (od) [min]	m/z prekurzorového iontu	m/z produktového iontu	kolizní energie [eV]
α -hexachlorocyklohexan	15,40	181	145	25
β -hexachlorocyklohexan				
γ -hexachlorocyklohexan (lindan)				
δ -hexachlorocyklohexan				
heptachlor	17,30	274	237	20
aldrin	17,60	263	191	30
endosulfan I	18,80	241	206	10
p,p'-DDE	19,10	246	176	25
endosulfan II	19,35	241	206	10
p,p'-DDT	19,66	235	165	20
p,p'-DDD				
methoxychlor		227	141	35

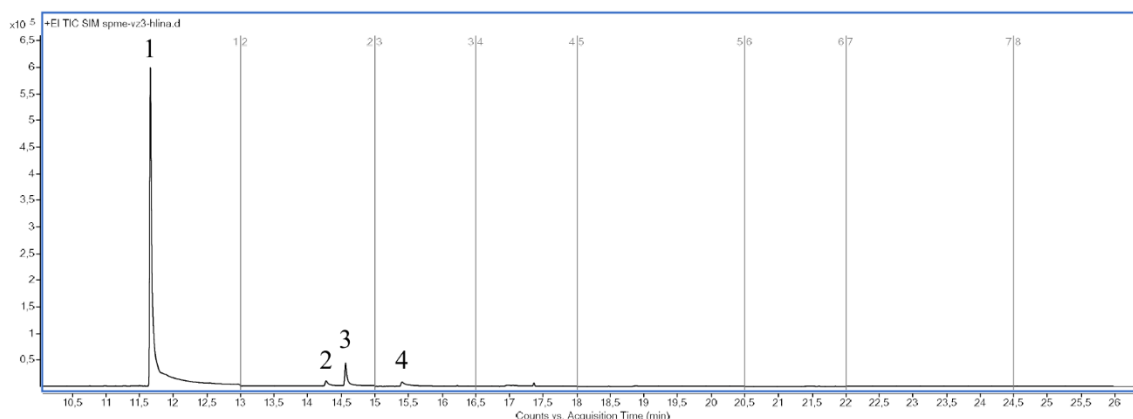
4 Diskuze a výsledky

V analýzách životního prostředí je přečištění a extrakce velmi důležitým a ve většině případů nutným a nepostradatelným krokem. Matrice, ve kterých se analyty nacházejí, jsou totiž velmi komplexní. Proto bylo cílem této diplomové práce vytvořit metodu, která by byla schopna vyextrahovat z říčních sedimentů souběžně polycyklické aromatické uhlovodíky i organochlorové pesticidy. Zároveň bylo potřeba vyvinout metodu pro plynovou chromatografii ve spojení s hmotnostní spektrometrií, pro detekci výše uvedených běžných kontaminantů i v nízkých koncentracích.

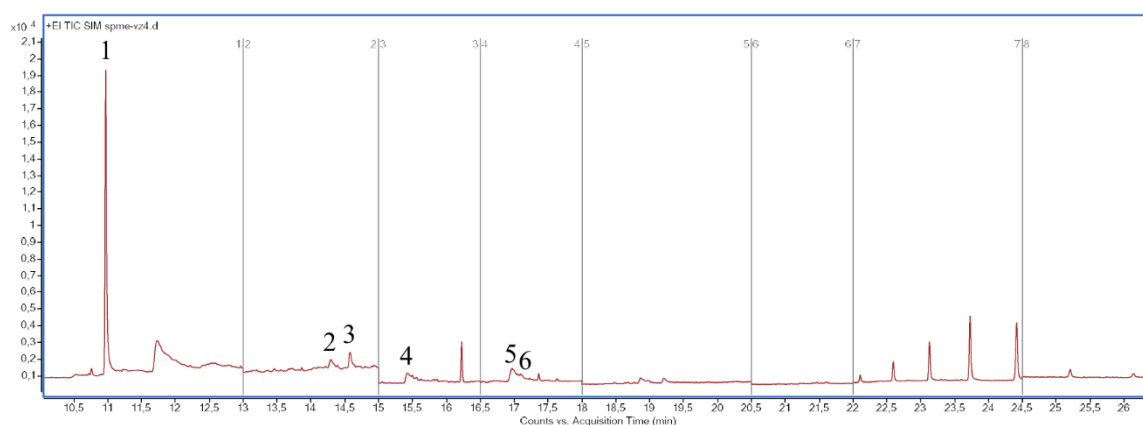
4.1 Srovnání extrakčních metod

V prvním kroku byly testovány extrakční metody pro účinnou extrakci chtěných analytů z dané matrice (v tomto případě z říčních sedimentů). Z provedené rešerše bylo vytipováno několik možných extrakčních postupů, mezi nimi ASE, Soxhlet, QuEChERS, UAE a SPME. Všechny výše uvedené metody extrakce byly poté testovány na standardním vzorku hlíny, „ospikovaném“ standardem směsi PAH tak, aby byla výsledná koncentrace 200 µg/kg každého polyaromatického uhlovodíku. Po extrakci byly rekonstituované vzorky změřeny na plynovém chromatografu s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Chromatogramy všech vzorků zanalyzovaných v režimu SIM, které byly získány pomocí zmíněných extrakčních metod, jsou zobrazeny níže (Obr. 15–21).

Z chromatografů lze vypožorovat, že každá z metod měla své výhody i nevýhody. Extrakce pomocí SPME byla velmi citlivá na naftalen (Obr. 15, Obr. 16) z důvodu jeho nízkého bodu varu, čímž došlo k výraznější adsorpci na SPME vlákne. Účinnou extrakci zbylých PAH ovšem neprokázala, takže na celkovou analýzu všech vybraných 16 PAH není tento postup příliš vhodný.

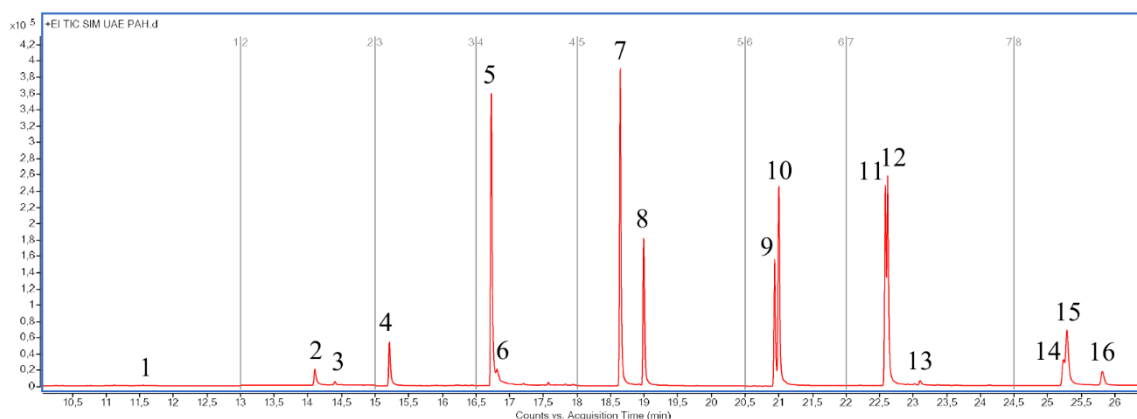


Obr. 15: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou SPME bez použití extrakčního činidla (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren)

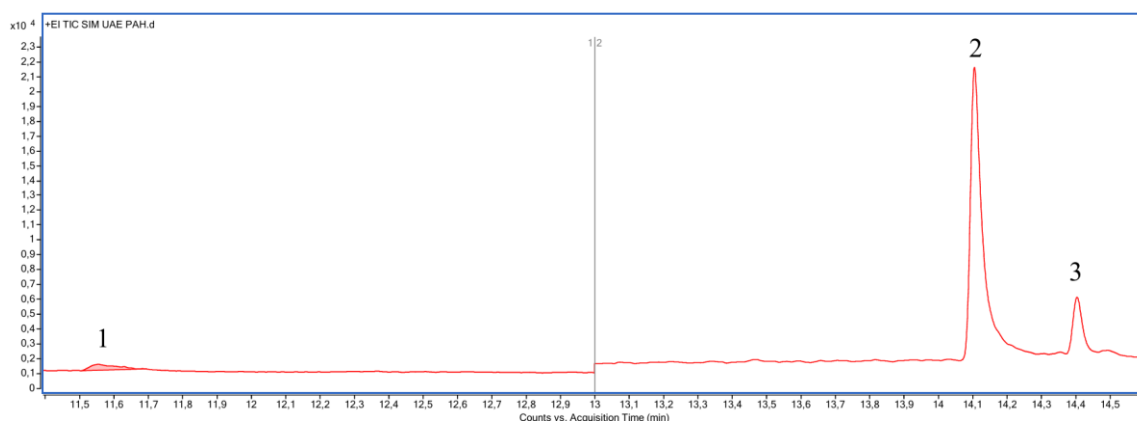


Obr. 16: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou SPME s použitím extrakčního činidla (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren,)

Pomocí UAE byly vyextrahovány všechny sledované PAH. Ve srovnání s SPME byl pozorován pokles intenzity píku naftalenu (Obr. 18), což bylo pravděpodobně způsobeno zvýšením teploty vodní lázně v průběhu ultrazvukové extrakce. Ke ztrátám naftalenu docházelo také při závěrečném kroku, při kterém byly všechny extrakty vysušeny, aby došlo k jejich zakoncentrování.

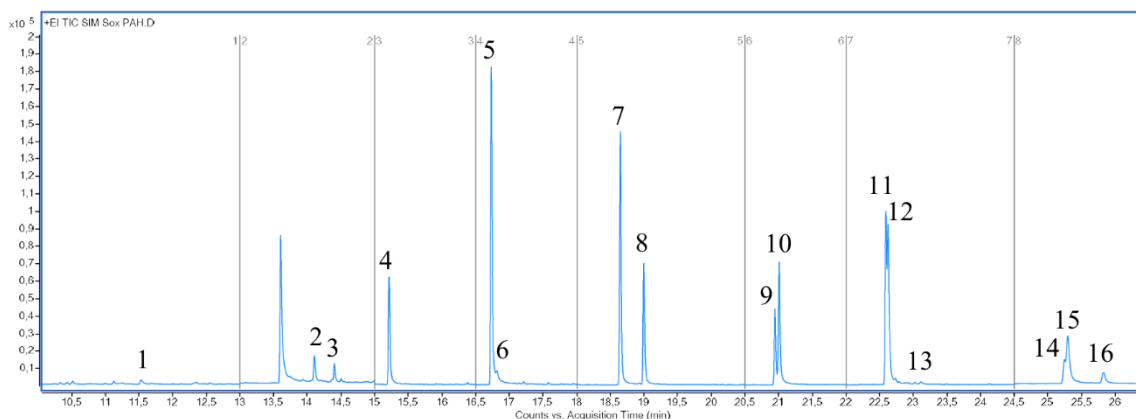


Obr. 17: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou UAE (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)



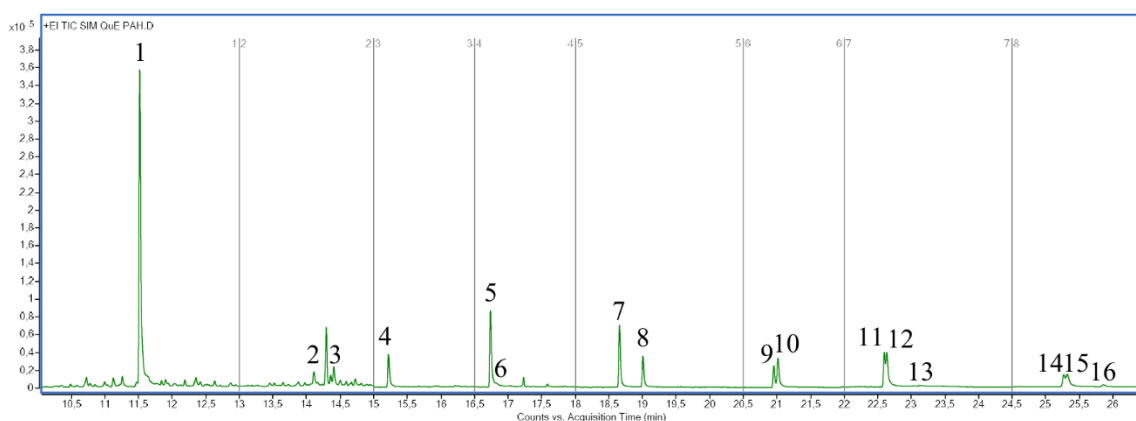
Obr. 18: Detail chromatogramu vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou UAE (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)

Soxhletova extrakce umožnila také vyextrahování všech 16 PAH. Podobně jako u UAE došlo k významnému snížení intenzity píku naftalenu (Obr. 19). Důvodem byla dlouhá extrakce při vysokých teplotách. Dlouhý extrakční čas je z jednou nevýhod tohoto postupu, společně s nutností použít velké objemy extrakčního činidla.



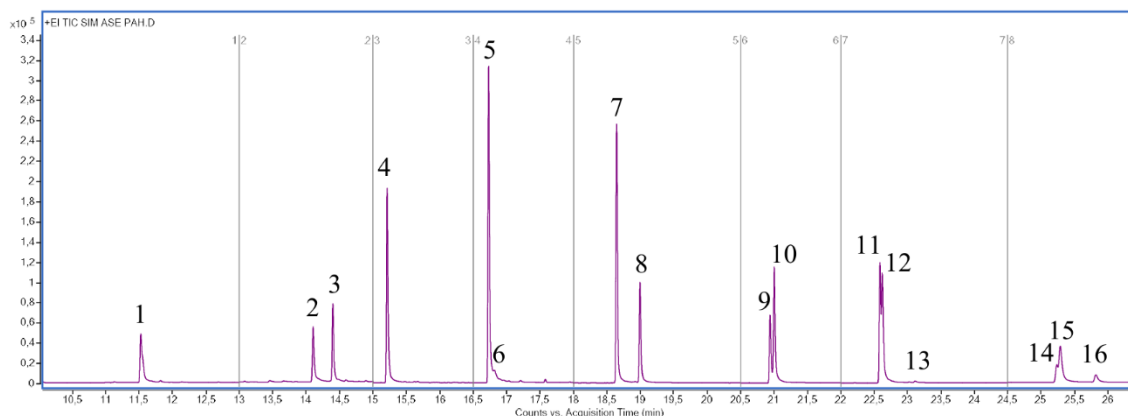
Obr. 19: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou Soxhlet (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)

Metoda QuEChERS rovněž vyextrahovala, stejně jako v případě Soxhlet extrakce, UAE a ASE, veškeré požadované analyty. Z chromatogramu (Obr. 20) však lze vidět, že zde byla neúměrně vysoká intenzita píku náležejícímu naftalenu oproti ostatním metodám (s výjimkou SPME). Důvodem by mohlo být vysolování, které se v rámci QuEChERS provádí, jelikož naftalen jako nejmenší molekula z požadovaných 16 PAH mohl do extrakčního činidla přecházet rychleji a snáze než zbylé PAH. K podobným závěrům došli i autoři studie zabývající se obsahem PAH v čaji yerba mate. Při extrakci acetonitrilem také docházelo k vyšší extrakci nízkomolekulárních látek. Nicméně při použití směsi aceton:hexan již tyto rozdíly nebyly statisticky významné. [130]



Obr. 20: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou QuEChERS (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)

Akcelerovaná extrakce poskytovala, vzhledem k zastoupení všech analytů i jejich intenzitám, asi nejlepší výsledky, co se extrakce týče (Obr. 21). Problémem však je, že pro její provedení je zapotřebí samostatného přístroje dedikovaného pouze na tyto typy extrakcí (ASE). Pořízení tohoto stroje se tedy nemusí laboratorům vyplatit, pokud by se jednalo pouze o jednorázovou záležitost, ve které by byla extrakce těchto látek nutná.



Obr. 21: Chromatogram vzorku hlíny s PAH extrahovaného metodou ASE (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthren, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthren, 12 – benzo[k]fluoranthren, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)

Na základě výsledků analýz byla zvolena jako nejvhodnější metoda UAE (extrakce asistovaná ultrazvukem), která byla v této práci využita i na společnou extrakci PAH a OCP z reálných vzorků. Důvodů pro toto rozhodnutí bylo několik.

- Byla schopna, i když třeba s menšími omezeními, vyextrahovat ze vzorků všech 16 PAH (na rozdíl od SPME)
- Není přístrojově náročná jako ASE
- Není nutné používat příliš velké objemy extrakčních činidel, jako je tomu v případě Soxhlet extrakce
- Pro její provedení není zapotřebí příliš materiálu, ať už laboratorního tak i chemikálií, jako u QuEChERS

Závěrem poznamenejme, že metoda QuEChERS ve srovnání s UAE požaduje již předem připravenou soupravu, která poté samotnou extrakci usnadňuje. Pokud si tedy nechceme soupravu pořídit, musíme si ji připravit, což opět prodlužuje celkovou dobu nutnou pro provedení extrakce.

4.2 Hmotnostně-spektrometrická analýza

Pro získání co největšího množství a co nejpresnějších informací, podle kterých se následně optimalizovala celá GC/MS analýza, byly nejprve měřeny přímo roztoky standardů PAH a OCP v módu TIC. Na základě naměřených dat byly následně vytvořeny metody pro analýzu za pomoci SIM a MRM módů, které zajistily zlepšení selektivity detekce. Prvotní TIC sken také sloužil k identifikaci látek. Po identifikaci všech požadovaných PAH a OCP a zjištění jejich retenčních časů probíhaly následující analýzy pouze v režimu SIM a MRM.

Hodnoty m/z použité pro SIM a MRM jsou uvedeny v tabulkách výše (Tab. I – III). Vycházely z naměřených fragmentačních spekter standardů a z literatury. [131,132] Pro zajištění dostatečné citlivosti měření bylo nutné vytvořit časová okna pro jednotlivé skeny na základě stanovených retenčních časů z předchozích analýz. Výsledkem bylo vytvoření jediné analýzy pro danou skupinu látek (ať už PAH či OCP), která by pokryla veškeré chtěné analyty.

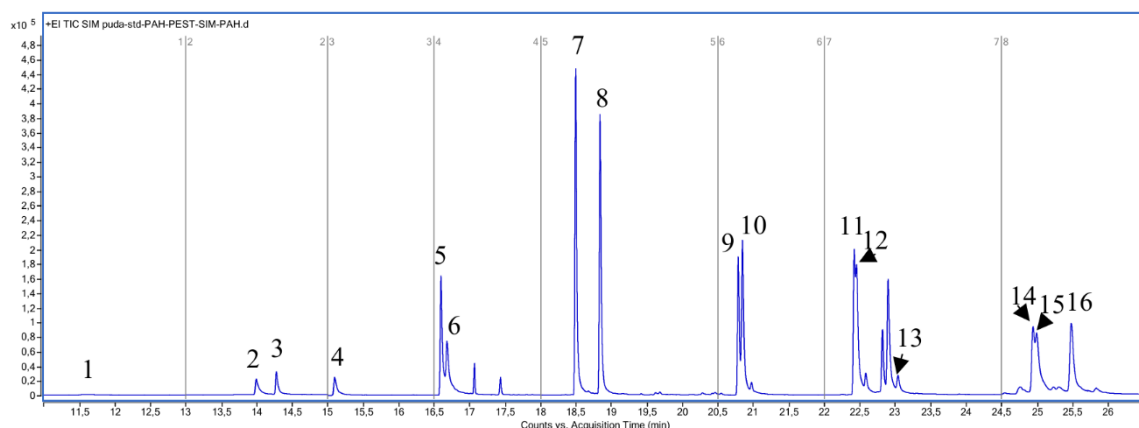
4.3 Identifikace organochlorových pesticidů a polycyklických aromatických uhlovodíků

Díky dostupnosti standardů pro polycyklické aromatické uhlovodíky i pro organochlorové pesticidy byla identifikace daných analytů výrazně ulehčena. Nejprve byla naměřena hmotnostní spektra pro standardy směsi PAH i směsi OCP v režimu TIC. Poté byla naměřená fragmentační spektra látek z tohoto skenu srovnávána s knihovnou NIST, čímž bylo ověřeno, že nalezené sloučeniny odpovídaly složení standardních směsí.

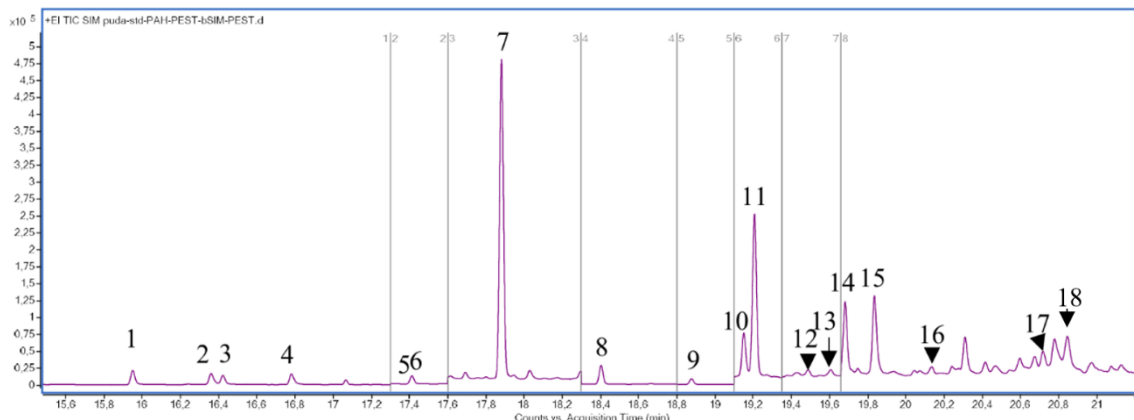
Následně byly identifikovány látky v extraktech, získaných pomocí UAE. V prvním kroku bylo provedeno měření v TIC módu pro ověření funkčnosti extrakční metody. Měření všech následných extraktů již probíhalo metodou SIM (případně MRM pro vybrané organochlorové pesticidy).

Pro analýzu polycyklických aromatických uhlovodíků byl SIM mód dostačující (viz Obr 22). I bez použití MRM byl totiž schopen nám potvrdit či vyvrátit přítomnost žádoucích 16 PAH. V otázce organochlorových pesticidů zastává SIM spíše roli „pre-screeningu“ (Obr. 23). Na jeho základě lze určit, jaké organochlorové pesticidy se s největší pravděpodobností ve vzorku vyskytují, jejich přítomnost však není stoprocentně potvrzená, jelikož SIM má pro tyto látky nižší citlivost, která je dána přítomností dalších látek v půdě (tyto „rušící“ látky obsahují sledovaný fragment). Proto je vhodné využít ještě

následného MRM režimu, do jehož parametrů by byly zahrnuty přechody všech pesticidů navrhnutých z výsledků SIM měření. Tyto přechody jsou již pro dané látky dostatečně charakteristické, takže na základě MRM lze už s jistotou tvrdit, zda se daný OCP ve vzorku opravdu vyskytuje či nikoliv.



Obr. 22: Chromatogram vzorku hlíny se standardy změřený v módu SIM pro PAH (1 – naftalen, 2 – acenaftýlen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)



Obr. 23: Chromatogram vzorku hlíny se standardy změřený v módu SIM pro OCP (1 – α -hexachlorocyklohexan, 2 – β -hexachlorocyklohexan, 3 – γ -hexachlorocyklohexan (lindan), 4 – δ -hexachlorocyklohexan, 5 – heptachlor, 6 – chlordan, 7 – aldrin, 8 – heptachlor epoxid, 9 – endosulfan I, 10 – p,p'-DDE, 11 – dieldrin, 12 – endrin, 13 – endosulfan II, 14 – p,p'-DDD, 15 – endrin aldehyd, 16 – p,p'-DDT, 17 – endrin keton, 18 – methoxychlor)

Pro vytvoření SIM metod bylo zapotřebí znát retenční časy analytů a hodnotu m/z jejich nejintenzivnějšího píku z fragmentačního spektra. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tabulkách IV a V (hodnota v závorce odpovídá m/z druhého nejintenzivnějšího píku). Na jejich základě byly poté sestaveny parametry SIM pro PAH a OCP. Pro správné nastavení

parametrů SIM pro PAH bylo vedle naměřených dat využito již publikovaných dat [131]. Parametry MRM pro organochlorové pesticidy byly všechny převzaty z literatury. [132]

Po zhotovení SIM a MRM nastavení a ověření jejich vhodnosti už stačila k identifikaci pouze znalost retenčního času analytu. Tyto módy byly využity i pro měření reálných vzorků a osvědčily se, jelikož byly schopny identifikovat velké množství předpokládaných kontaminantů předložených sedimentů.

Tab. IV: Retenční časy PAH a hodnoty m/z jejich nejintenzivnějších píků z fragmentačních spekter

Sloučenina	retenční čas [min]	hodnota m/z
naftalen	11,556	128
acenaftylen	14,105	152
acenaften	14,404	154
fluoren	15,213	166
anthracen	16,729	178
fenanthren	16,814	
fluoranthren	18,645	202
pyren	18,994	
benzo[a]anthracen	20,94	44,3 (228)
chrysen	21,001	
benzo[b]fluoranthren	22,585	44,3 (252)
benzo[k]fluoranthren	22,621	
benzo[a]pyren	23,103	
indeno[1,2,3-CD]pyren	25,236	44,3
dibenz[a,h]anthracen	25,285	44,3
benzo[g,h,i]perylene	25,811	44,3

Tab. V: Retenční časy OCP a hodnoty m/z jejich nejintenzivnějších píků z fragmentačních spekter

sloučenina	retenční čas [min]	hodnota m/z
α -hexachlorocyklohexan	15,998	181
β -hexachlorocyklohexan	16,398	

γ -hexachlorocyklohexan (lindan)	16,477	181
δ -hexachlorocyklohexan	16,806	
heptachlor	17,461	100
chlordan	17,464	375
aldrin	17,938	66
heptachlor epoxid	18,46	353
endosulfan I	18,937	195
p,p'-DDE	19,218	246
dieldrin	19,27	79
endrin	19,545	81
endosulfan II	19,671	195
p,p'-DDD	19,745	235
endrin aldehyd	19,916	67
p,p'-DDT	20,2	235
endrin keton	20,765	67
methoxychlor	20,886	227

4.4 Výsledky analýz reálných vzorků

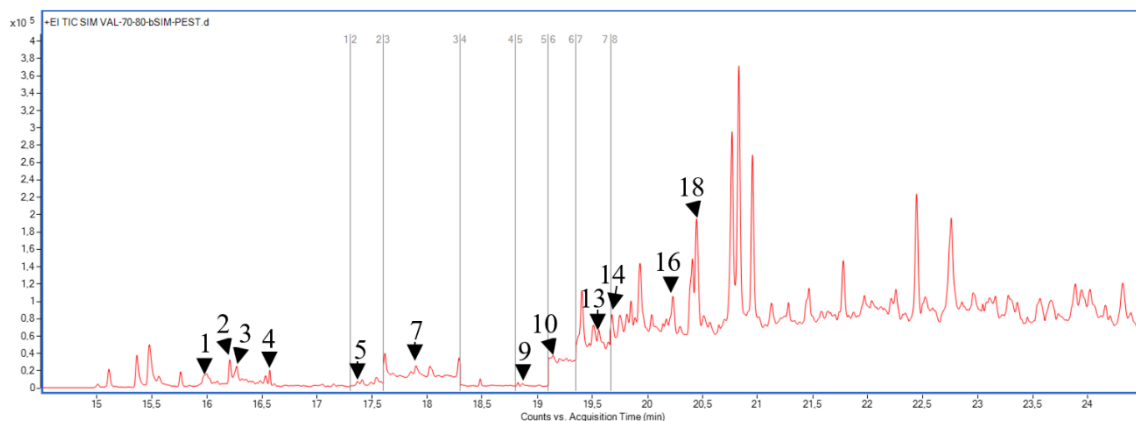
Metoda vyvinutá v této diplomové práci byla v rámci experimentální části aplikována na reálné vzorky sedimentů. Vzorky pocházely z řeky Bečvy, konkrétně z okolí obcí Valašské Meziříčí a Střítež nad Bečvou, a byly odebrány týmem geologů z Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Celkem byly analyzovány 4 vzorky, dva z okolí Valašského Meziříčí a dva z okolí Stříteže nad Bečvou.

Ve všech analyzovaných vzorcích sedimentů byly nalezeny jak polycyklické aromatické uhlovodíky, tak organochlorové pesticidy. V každém reálném vzorku bylo detekováno všech 16 sledovaných polycyklických aromatických uhlovodíků, výskyt sledovaných organochlorových pesticidů v jednotlivých vzorcích je shrnut v tabulce Tab. VI. Určení přítomnosti polycyklických aromatických uhlovodíků v reálných vzorcích probíhalo za pomoci SIM módu. Pro zjištění, jaké organochlorové pesticidy se nacházejí v daných říčních sedimentech, byl nejprve proveden „prescreeningový“ SIM a následně potvrzující měření v režimu MRM.

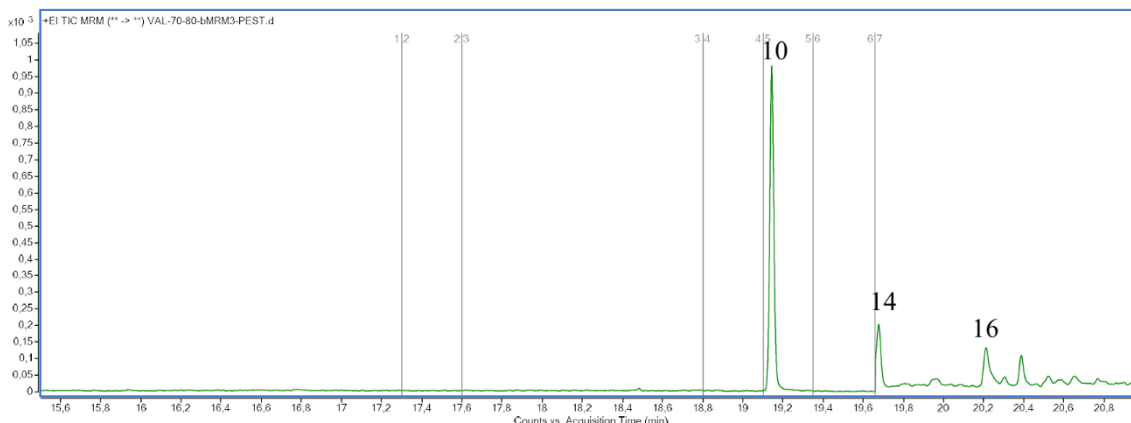
Tab. VI: OCP nalezené v reálných vzorcích sedimentů

OCP \ vzorek	STR 10-20	STR 40-50	VAL 50-60	VAL 70-80
α -hexachlorocyklohexan	×	×	×	×
β -hexachlorocyklohexan	×	×	×	×
γ -hexachlorocyklohexan (lindan)	×	×	×	×
δ -hexachlorocyklohexan	×	×	×	×
heptachlor	×	×	×	×
chlordan	×	×	×	×
aldrin	×	×	×	×
heptachlor epoxid	×	×	×	×
endosulfan I	×	×	×	×
p,p'-DDE	✓	✓	✓	✓
dieldrin	×	×	×	×
endrin	×	×	×	×
endosulfan II	×	×	×	×
p,p'-DDD	✓	✓	✓	✓
endrin aldehyd	×	×	×	×
p,p'-DDT	×	×	✓	✓
endrin keton	×	×	×	×
methoxychlor	×	×	×	×

Z výsledků provedených analýz lze konstatovat, že i přes dlouhotrvající zákaz používání organochlorových pesticidů (v bývalém Československu od roku 1974) jsou v životním prostředí i nadále přítomny. [133] To jen dokazuje, o jak perzistentní látky se jedná. Konkrétně bylo nalezeno DDT, známé pro svou vysokou perzistenci, společně s jeho degradačními produkty DDD a DDE. [66]. Je samozřejmě možné, že se v předložených reálných vzorcích nacházely také jiné organochlorové pesticidy. Bohužel je naše metoda limitována složením standardního roztoku organochlorových pesticidů, na který byla „nakalibrována“. Z toho důvodu není možné přítomnost jiných než výše uvedených 18 OCP vyvrátit ani potvrdit.

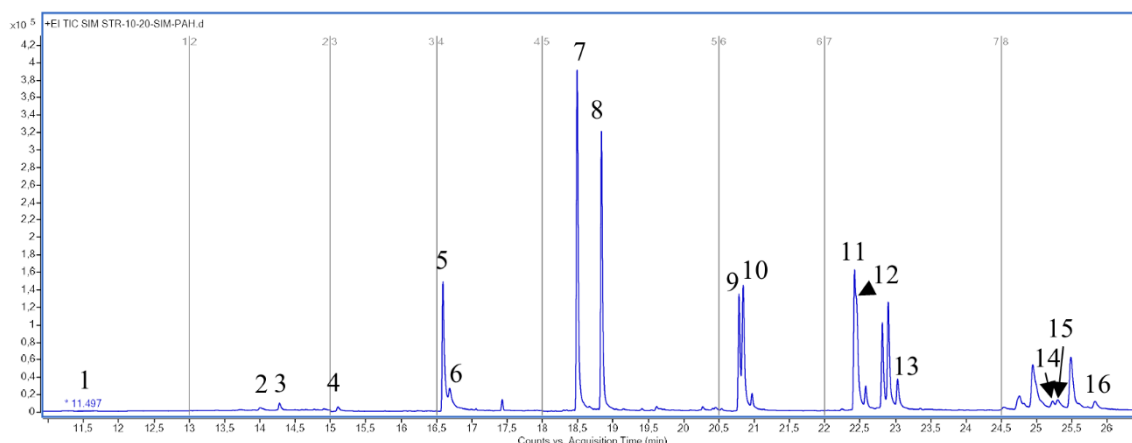


Obr. 24: Chromatogram reálného vzorku VAL 70-80 z „prescreeningového“ SIM módu pro OCP, vyznačeny možné OCP (1 – α -hexachlorocyklohexan, 2 – β -hexachlorocyklohexan, 3 – γ -hexachlorocyklohexan (lindan), 4 – δ -hexachlorocyklohexan, 5 – heptachlor, 7 – aldrin, 9 – endosulfan I, 10 – p,p'-DDE, 13 – endosulfan II, 14 – p,p'-DDD, 16 – p,p'-DDT, 18 – methoxychlor)

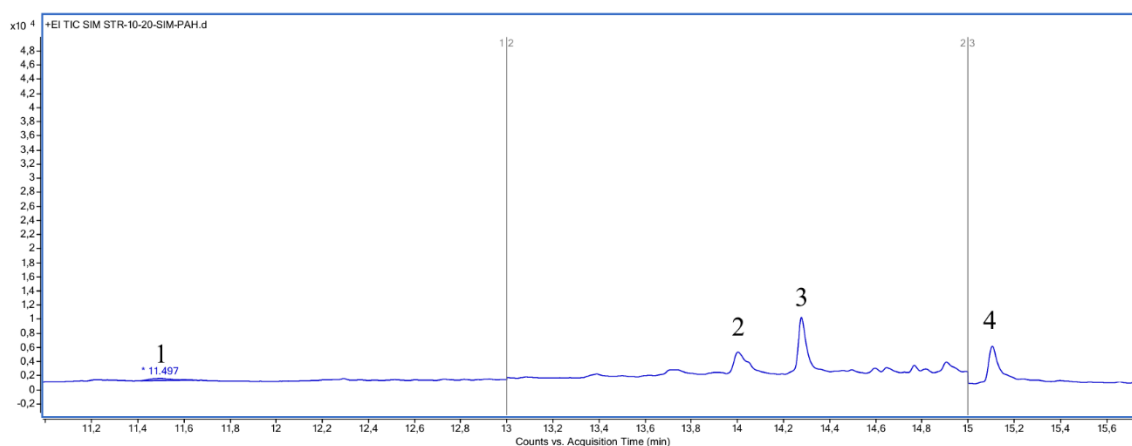


Obr. 25: Chromatogram reálného vzorku VAL 70-80 z MRM módu pro OCP (10 – p,p'-DDE, 14 – p,p'-DDD, 16 – p,p'-DDT)

Z hlediska polycyklických aromatických uhlovodíků bylo touto metodou detekováno všech 16 PAH monitorovaných EPA. Nejnižší intenzity ve všech zanalyzovaných vzorcích náležely píku naftalenu. Tato skutečnost odpovídá jeho těkavému charakteru, na základě kterého je mnohem méně pravděpodobné, že by byl ve velkých množstvích zadržován v sedimentech. Podobné chování, i když v menším měřítku, vykazoval i acenaftýlen a acenaften (také velmi těkavé sloučeniny). Naopak PAH o vyšší molekulové hmotnosti, například fluoranthen či pyren, příliš těkavé nejsou, a proto mají spíše tendenci se ukládat. Výsledky těchto analýz tedy potvrzují trend distribuce PAH v životním prostředí, podle kterého mají s rostoucí molekulovou hmotností PAH větší tendenci zůstat v půdě a sedimentech než se uvolňovat do ovzduší. [36]



Obr. 26: Chromatogram reálného vzorku STR 10-20 ze SIM módu pro PAH (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthren, 12 – benzo[k]fluoranthren, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)



Obr. 27: Detail chromatogramu reálného vzorku STR 10-20 ze SIM módu pro PAH (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren)

5 Závěr

Tato diplomová práce se věnuje problému znečištění říčních toků. Konkrétně se zabývá polutanty uloženými v říčních sedimentech (v rámci této práce se jednalo o polycyklické aromatické uhlovodíky a organochlorové pesticidy), jejich extrakcí a následnou analýzou pomocí GC/MS. V rámci teoretické části práce je popsán problém znečištění řek i s příklady a zdroji kontaminace a vliv tohoto znečištění na lidské zdraví. Teoretická část dále rozebírá již konkrétní skupiny polutantů, které byly cílovým zaměřením této práce, jejich vlastnosti, výskyt a vliv na zdraví člověka i ostatních organismů. V neposlední řadě jsou popsány způsoby extrakce a analýzy těchto látek z matric životního prostředí, v tomto případě z půdy a sedimentů společně se stručným shrnutím analýz i dalších případných kontaminantů.

Předmětem zájmu experimentální části práce je extrakce a následná analýza výše zmíněných vybraných polutantů. Na základě rešerše bylo vybráno extrakční činidlo a možné extrakční metody použitelné pro tyto analyty. V rámci experimentální části byla testována jejich vhodnost. Cílem bylo vybrat metodu, která by s ohledem na jednoduchost provedení, materiálovou a ekonomickou nenáročnost poskytovala nejlepší výsledky čili byla by schopna vyextrahovat všechny požadované sloučeniny. Jako nejvhodnější byla nakonec zvolena extrakce asistovaná ultrazvukem (UAE). Kromě zvolení vyhovující metody extrakce bylo záměrem optimalizovat samotnou GC/MS analýzu, aby byla na dané analyty co nejselektivnější. Toho bylo docíleno vytvořením SIM a MRM módů pro tandemovou hmotnostní spektrometrii, pomocí kterých byly polutanty detekovány.

Vyvinutá metoda extrakce a analýzy byla následně aplikována na reálných vzorcích, konkrétně se jednalo o čtyři vzorky říčních sedimentů řeky Bečvy, dva pocházely z okolí Valašského Meziříčí a dva z okolí Stříteže nad Bečvou. Ve všech 4 předložených sedimentech bylo detekováno 16 polycyklických aromatických uhlovodíků monitorovaných EPA. V případě organochlorových pesticidů už ovšem nevykazovaly všechny vzorky stejné znečištění. Ve vzorcích z okolí Valašského Meziříčí se podařilo nalézt pouze p,p'-DDE a p,p'-DDD. Jelikož DDE a DDD jsou metabolity degradace DDT, lze usuzovat, že v případě vzorků VAL 50-60 a VAL 70-80 pochází znečištění pesticidy s DDT z dřívějších let. To by také mohlo být důvodem, proč nebylo detekováno přímo samotné DDT, ale pouze produkty jeho degradace. Vzorky z okolí Stříteže (STR 10-20 a STR 40-50) obsahovaly kromě p,p'-DDE a p,p'-DDD také p,p'-DDT, což by mohlo ukazovat na relativně novější kontaminaci pesticidy s obsahem DDT.

6 Seznam literatury

- [1] Znečištění povrchových vod v ČR - iForum, (n.d.). <https://iforum.cuni.cz/iforum-1130.html>, staženo 19. února 2024.
- [2] D.K. Banerjee, Water pollution and human health, Water and Sanitation at Mid-Decade: Proceedings of the 12th WEDC Conference (1986) 47–50.
- [3] A. Lamagna, S. Reich, D. Rodríguez, et al., The use of an electronic nose to characterize emissions from a highly polluted river, Sens Actuators B Chem 131 (2008) 121–124.
- [4] L.E. Paz, M. Rodríguez, B. Gullo, et al., Impacts of urban and industrial pollution on functional traits of benthic macroinvertebrates: Are some traits advantageous for survival?, Science of The Total Environment 807 (2022) 150650.
- [5] L.F. Magni, L.N. Castro, A.E. Rendina, Evaluation of heavy metal contamination levels in river sediments and their risk to human health in urban areas: A case study in the Matanza-Riachuelo Basin, Argentina, Environ Res 197 (2021) 110979.
- [6] M. Chaudhary, T.R. Walker, River Ganga pollution: Causes and failed management plans (correspondence on Dwivedi et al. 2018. Ganga water pollution: A potential health threat to inhabitants of Ganga basin. Environment International 117, 327–338), Environ Int 126 (2019) 202–206.
- [7] Z.U. Shah, S. Parveen, Pesticides pollution and risk assessment of river Ganga: A review, Heliyon 7 (2021) e07726.
- [8] V. Singh, N.K. Nagpoore, Jaichand, et al., Monitoring and assessment of pollution load in surface water of River Ganga around Kanpur, India: A study for suitability of this water for different uses, Environ Technol Innov 18 (2020) 100676.
- [9] S.K. Singh, A.M. Aenab, Evaluating Water Quality of Ganga River Within Uttar Pradesh State by Water Quality Index Analysis Using C++ Program, Civil and Environmental Research 3 (2013) 1–10.
- [10] G. Lofrano, G. Libralato, F.G. Acanfora, et al., Which lesson can be learnt from a historical contamination analysis of the most polluted river in Europe?, Science of The Total Environment 524–525 (2015) 246–259.
- [11] A. Basile, S. Sorbo, M. Cardì, et al., Effects of heavy metals on ultrastructure and Hsp70 induction in *Lemna minor* L. exposed to water along the Sarno River, Italy, Ecotoxicol Environ Saf 114 (2015) 93–101.
- [12] D. Baldantoni, A. Bellino, G. Lofrano, et al., Biomonitoring of nutrient and toxic element concentrations in the Sarno River through aquatic plants, Ecotoxicol Environ Saf 148 (2018) 520–527.
- [13] Masivní úhyn ryb v řece Bečvě způsobil kyanid, inspektoři ČIŽP a policie šetří možného původce | ČIŽP, (n.d.). <https://www.cizp.cz/havarie-na-becve/masivni-uhyn-ryb-v-rece-becve-zpusobil-kyanid-inspektori-cizp-a-policie-setri>, staženo 16. března 2024.
- [14] US EPA | Basic Information about Nonpoint Source (NPS) Pollution, (n.d.). <https://www.epa.gov/nps/basic-information-about-nonpoint-source-nps-pollution>, staženo 19. února 2024.

- [15] R. Somma, V. Kumar, J. Barco, Surface water, groundwater, and soil pollution: Sustainable water and soils resources management and human health risk assessment and ecology, *Chemosphere* 337 (2023) 139295.
- [16] J.J. Musa, H.I. MUSATAPHA, J.D. BALA, et al., Heavy Metals in Agricultural Soils in Nigeria: A Review., *Arid Zone Journal of Engineering, Technology and Environment* 13 (2017) 593–603.
- [17] A. Kumar, V. Kumar, S. Pandita, et al., A global meta-analysis of toxic metals in continental surface water bodies, *J Environ Chem Eng* 11 (2023) 109964.
- [18] P.H. Leal, A.C. Marques, The evolution of the environmental Kuznets curve hypothesis assessment: A literature review under a critical analysis perspective, *Heliyon* 8 (2022) e11521.
- [19] S. Dasgupta, B. Laplante, H. Wang, et al., Confronting the Environmental Kuznets Curve, *Journal of Economic Perspectives* 16 (2002) 147–168.
- [20] X. Liu, G.K. Heilig, J. Chen, et al., Interactions between economic growth and environmental quality in Shenzhen, China's first special economic zone, *Ecological Economics* 62 (2007) 559–570.
- [21] L.E. Armstrong, E.C. Johnson, Water intake, water balance, and the elusive daily water requirement, *Nutrients* 10 (2018) 1928.
- [22] P. Sagar Gawande, Ground Water Pollution & Its Consequences, *International Journal of Engineering Research and General Science* 3 (2015) 773–776.
- [23] A. Singh, A. Sharma, R.K. Verma, et al., Heavy Metal Contamination of Water and Their Toxic Effect on Living Organisms, v knize: Junqueira Dorta D, Palma de Oliveira D (ed.), *The Toxicity of Environmental Pollutants*, IntechOpen, Londýn 2022.
- [24] Z. Huang, C. Liu, X. Zhao, et al., Risk assessment of heavy metals in the surface sediment at the drinking water source of the Xiangjiang River in South China, *Environ Sci Eur* 32 (2020) 1–9.
- [25] B.P. Panda, Y.K. Mohanta, R. Paul, et al., Assessment of environmental and carcinogenic health hazards from heavy metal contamination in sediments of wetlands, *Scientific Reports* 2023 13:1 13 (2023) 1–15.
- [26] M.M. Majedul Islam, M. Atikul Islam, Quantifying public health risks from exposure to waterborne pathogens during river bathing as a basis for reduction of disease burden, *J Water Health* 18 (2020) 292–305.
- [27] P. Jacob, A. Henry, G. Meheut, et al., Health Risk Assessment Related to Waterborne Pathogens from the River to the Tap, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12 (2015) 2967–2983.
- [28] D. O'Flynn, J. Lawler, A. Yusuf, et al., A review of pharmaceutical occurrence and pathways in the aquatic environment in the context of a changing climate and the COVID-19 pandemic, *Analytical Methods* 13 (2021) 575–594.

- [29] R.B. González-González, P. Sharma, S.P. Singh, et al., Persistence, environmental hazards, and mitigation of pharmaceutically active residual contaminants from water matrices, *Science of The Total Environment* 821 (2022) 153329.
- [30] J.L. Wilkinson, A.B.A. Boxall, D.W. Kolpin, et al., Pharmaceutical pollution of the world's rivers, *Proc Natl Acad Sci U S A* 119 (2022) e2113947119.
- [31] A. Rita, L. Ribeiro, M. Santos, et al., The Pharmaceutical Pollution of Water Resources Using the Example of the Kura River (Tbilisi, Georgia), *Water (Basel)* 15 (2023) 2574.
- [32] A. Sengar, A. Vijayanandan, Human health and ecological risk assessment of 98 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) detected in Indian surface and wastewaters, *Science of The Total Environment* 807 (2022) 150677.
- [33] US EPA, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Fact Sheet, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. (2013). https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-03/documents/pahs_factsheet_cdc_2013.pdf, staženo 19. února 2024.
- [34] I. Holoubek, Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) v prostředí, 1. vyd., Český geologický ústav, Praha 1996.
- [35] H.I. Abdel-Shafy, M.S.M. Mansour, A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation, *Egyptian Journal of Petroleum* 25 (2016) 107–123.
- [36] C. WANG, S. WU, S. ZHOU, et al., Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Urban Soils: A Review, *Pedosphere* 27 (2017) 17–26.
- [37] X. Ding, X.M. Wang, Z.Q. Xie, et al., Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons observed over the North Pacific Ocean and the Arctic area: Spatial distribution and source identification, *Atmos Environ* 41 (2007) 2061–2072.
- [38] V. Kumar, N.C. Kothiyal, Saruchi, et al., Sources, distribution, and health effect of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) – current knowledge and future directions, *Journal of the Chinese Advanced Materials Society* 4 (2016) 302–321.
- [39] B. Ambade, S.S. Sethi, S. Kurwadkar, et al., Toxicity and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water, sediments and groundwater vulnerability in Damodar River Basin, *Groundw Sustain Dev* 13 (2021) 100553.
- [40] Z. Cui, Y. Wang, L. Du, et al., Contamination level, sources, and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in suburban vegetable field soils of Changchun, Northeast China, *Sci Rep* 12 (2022) 11301.
- [41] U.C. Ugochukwu, N. Andegbe Chukwuone, C. Jidere, et al., Legacy PAHs in effluent receiving river sediments near a large petroleum products depot in Enugu, Nigeria: Human health risks and economic cost of pollution, *Environmental Pollution* 309 (2022) 119731.
- [42] G. Venkatraman, N. Giribabu, P.S. Mohan, et al., Environmental impact and human health effects of polycyclic aromatic hydrocarbons and remedial strategies: A detailed review, *Chemosphere* 351 (2024) 141227.

- [43] K. Hussain, R.R. Hoque, S. Balachandran, et al., Monitoring and Risk Analysis of PAHs in the Environment, v knize: C. Hussain (ed.), Handbook of Environmental Materials Management, Springer International Publishing, Cham 2018, str. 1–35.
- [44] R.A. Grmasha, C. Stenger-Kovács, B.A.H. Bedewy, et al., Ecological and human health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Tigris river near the oil refineries in Iraq, *Environ Res* 227 (2023) 115791.
- [45] A.T. Lawal, Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review, *Cogent Environ Sci* 3 (2017) 1339841.
- [46] T. Kariyawasam, G.S. Doran, J.A. Howitt, et al., Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in soils and sediments: Sustainable approaches for extraction and remediation, *Chemosphere* 291 (2022) 132981.
- [47] E. V. Lau, S. Gan, H.K. Ng, Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils, *Int J Anal Chem* 2010 (2010) 1–9.
- [48] C.H. Marvin, L. Allan, B.E. McCarry, et al., A Comparison of Ultrasonic Extraction and Soxhlet Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Sediments and Air Particulate Material, *Int J Environ Anal Chem* 49 (1992) 221–230.
- [49] D.R. Banjoo, P.K. Nelson, Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments, *J Chromatogr A* 1066 (2005) 9–18.
- [50] E. V. Lau, S. Gan, H.K. Ng, Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils, *Int J Anal Chem* 2010 (2010) 1–9.
- [51] V. Librando, Hutzinger, G. Tringali, et al., Supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from marine sediments and soil samples, *Chemosphere* 54 (2004) 1189–1197.
- [52] M.N. Islam, Y.T. Jo, J.H. Park, Remediation of PAHs contaminated soil by extraction using subcritical water, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 18 (2012) 1689–1693.
- [53] J.S. Nikolić, V.D. Mitić, V.P. Stankov Jovanović, et al., Novel Sorbent and Solvent Combination for QuEChERS Soil Sample Preparation for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Gas Chromatography–Mass Spectrometry, *Anal Lett* 51 (2018) 1087–1107.
- [54] I.J. Allan, V. Raffard, A. Kringstad, et al., Assessment of marine sediment remediation efficiency with SPME-based passive sampling measurement, *Science of The Total Environment* 756 (2021) 143854.
- [55] US EPA | Basic Information about Pesticide Ingredients, (n.d.).
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>, staženo 19. února 2024.
- [56] S.M. Rad, A.K. Ray, S. Barghi, Water Pollution and Agriculture Pesticide, *Clean Technologies* 2022, Vol. 4, Pages 1088-1102 4 (2022) 1088–1102.
- [57] F.H.M. Tang, M. Lenzen, A. McBratney, et al., Risk of pesticide pollution at the global scale, *Nat Geosci* 14 (2021) 206–210.

- [58] 64% of Farmland at Risk of Pesticide Pollution – Revealed in Global Map of Agricultural Land Across 168 Countries, <https://scitechdaily.com/64-of-farmland-at-risk-of-pesticide-pollution-revealed-in-global-map-of-agricultural-land-across-168-countries/>, staženo 29. března 2024.
- [59] Markandeya, D. Mohan, S.P. Shukla, Hazardous consequences of textile mill effluents on soil and their remediation approaches, *Clean Eng Technol* 7 (2022) 100434.
- [60] K.S. Rajmohan, R. Chandrasekaran, • Sunita Varjani, A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management, *Indian J Microbio* 60 (2020) 125–138.
- [61] Shefali, R. Kumar, M.S. Sankhla, et al., Impact of pesticide toxicity in aquatic environment, *Biointerface Res Appl Chem* 11 (2021) 10131–10140.
- [62] US EPA | Types of Pesticide Ingredients, (n.d.). <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/types-pesticide-ingredients>, staženo 23. února 2024.
- [63] A. Hassan, Inorganic-Based Pesticides: A Review Article, *Egyptian Scientific Journal of Pesticides* 5 (2019) 39–52.
- [64] E.C. Mollocana Lara, F.A. Gonzales-Zubiate, Control of pesticides in Ecuador: An underrated problem?, *Bionatura* 5 (2020) 1257–1263.
- [65] M.F. Araújo, E.M.S. Castanheira, S.F. Sousa, The Buzz on Insecticides: A Review of Uses, Molecular Structures, Targets, Adverse Effects, and Alternatives, *Molecules* 28 (2023) 3641.
- [66] R. Jayaraj, P. Megha, P. Sreedev, Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment, *Interdiscip Toxicol* 9 (2016) 90.
- [67] J.R. Coats, Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides., *Environ Health Perspect* 87 (1990) 255.
- [68] H.U. Zeilhofer, E. Neumann, G. Munro, Spinal GABAA receptors for pain control: back to the future?, *Br J Anaesth* 123 (2019) e176–e179.
- [69] A.M. Taiwo, A review of environmental and health effects of organochlorine pesticide residues in Africa, *Chemosphere* 220 (2019) 1126–1140.
- [70] S. Matsui, Endocrine Disruptors, *Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set* 1–5 (2008) 1259–1260.
- [71] A. Adeyinka, E. Muco, A.C. Regina, et al., Organophosphates, *Hazardous Chemicals: Agents of Risk and Change, 1800-2000* (2023) 267–293.
- [72] N.L. Mdeni, A.O. Adeniji, A.I. Okoh, et al., Analytical Evaluation of Carbamate and Organophosphate Pesticides in Human and Environmental Matrices: A Review, *Molecules* 27 (2022) 618.
- [73] V. Aroniadou-Anderjaska, T.H. Figueiredo, M. de Araujo Furtado, et al., Mechanisms of Organophosphate Toxicity and the Role of Acetylcholinesterase Inhibition, *Toxics* 11 (2023) 866.

- [74] T. Wylie, D.S. Sandhu, N. Murr, Status Epilepticus, v knize: StatPearls[Internet], StatPearls Publishing, Treasure Island 2023.
- [75] US EPA: Recognition and Management of Pesticide Poisonings, Pesticide Poisoning Handbook - Chapter 5 - Organophosphate Insecticides, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
https://www.epa.gov/sites/default/files/documents/rmpp_6thed_ch5_organophosphates.pdf, staženo 9. března 2024.
- [76] J. Silberman, A. Taylor, Carbamate Toxicity, v knize: StatPearls[Internet], StatPearls Publishing, Treasure Island 2023.
- [77] E. Dias, F.G. e Costa, S. Morais, et al., A Review on the Assessment of the Potential Adverse Health Impacts of Carbamate Pesticides, v knize: Claborn D. (ed.), Topics in Public Health, IntechOpen, Londýn 2015.
- [78] I. Bini Dhouib, A. Annabi, M. Jallouli, et al., Carbamates pesticides induced immunotoxicity and carcinogenicity in human: A review, J Appl Biomed 14 (2016) 85–90.
- [79] E. Finanger, T.K. Koch, Hypotonic Infant, Encyclopedia of the Neurological Sciences (2014) 661–665.
- [80] US EPA: Recognition and Management of Pesticide Poisonings, Pesticide Poisoning Handbook - Chapter 6 - N-Methyl Carbamate Insecticides, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
https://www.epa.gov/sites/default/files/documents/rmpp_6thed_ch6_carbamates.pdf, staženo 8. března 2024.
- [81] A. Gajendiran, J. Abraham, An overview of pyrethroid insecticides, Front. Biol 13 (2018) 79–90.
- [82] World Health Organization, Guidelines for malaria vector control, World Health Organization, Ženeva <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/310862/9789241550499-eng.pdf>, staženo 1. dubna 2024.
- [83] I. Hołyńska-Iwan, K. Szewczyk-Golec, Pyrethroids: How They Affect Human and Animal Health?, Medicina (B Aires) 56 (2020) 1–5.
- [84] Chrysanthemum cinerariifolium (kopretina starčkolistá) | BioLib.cz, (n.d.).
<https://www.biolib.cz/cz/taxon/id213408/>, staženo 20. března 2024.
- [85] A. Ahamad, J. Kumar, Pyrethroid pesticides: An overview on classification, toxicological assessment and monitoring, Journal of Hazardous Materials Advances 10 (2023) 100284.
- [86] A. Chrustek, I. Hołyńska-Iwan, I. Dziembowska, et al., Current Research on the Safety of Pyrethroids Used as Insecticides, Medicina (B Aires) 54 (2018) 61.
- [87] R. Urkude, V. Dhurvey, S. Kochhar, Pesticide Residues in Beverages, in: Quality Control in the Beverage Industry: Volume 17: The Science of Beverages, Academic Press, 2019: pp. 529–560.
- [88] P. Karuppuchamy, S. Venugopal, Integrated Pest Management, v knize: Ecofriendly Pest Management for Food Security, Academic Press 2016, str. 651–684.

- [89] M. Sarwar, Inorganic Insecticides used in Landscape Settings and Insect Pests, *Chemistry Research Journal* 1 (2016) 50–57.
- [90] US EPA: Office of Pesticide Programs, Pesticides - Fact Sheet for Inorganic Halides, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_G-48_1-Sep-93.pdf, staženo 17. března 2024.
- [91] US EPA: Office of Pesticide Programs, Pesticides - Coppers Fact Sheet, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_G-26_1-Jun-08.pdf, staženo 17. března 2024.
- [92] Y. Li, F. Ye, A. Wang, et al., Chronic Arsenic Poisoning Probably Caused by Arsenic-Based Pesticides: Findings from an Investigation Study of a Household, *Int J Environ Res Public Health* 13 (2016) 133.
- [93] R. Harrison, I. Bull, K. Michaelides, A method for the simultaneous extraction of seven pesticides from soil and sediment, *Analytical Methods* 5 (2013) 2053–2058.
- [94] P. Pitter, *Hydrochemie*, 4. aktualiz. vyd., Vydavatelství VŠCHT, Praha 2009.
- [95] L.C. Mmualefe, N. Torto, P. Huntsman-Mapila, et al., Supercritical fluid extraction of pesticides in sediment from the Okavango Delta, Botswana, and determination by gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD) and mass spectrometry (GC-MS), *Water SA* 34 (2008) 405–410.
- [96] I. Silgoner, R. Krska, E. Lombas, et al., Microwave assisted extraction of organochlorine pesticides from sediments and its application to contaminated sediment samples, *Fresenius J Anal Chem* 362 (1998) 120–124.
- [97] A. Masiá, K. Vásquez, J. Campo, et al., Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túria River Basin, *J Chromatogr A* 1378 (2015) 19–31.
- [98] E.G. Mateus, N.O. Vargas, J.P.G. Rodriguez, Determination of multiclass pesticides in river sediments via matrix solid-phase dispersion extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Electrophoresis* 43 (2022) 1577–1586.
- [99] Y. Lang, Z. Cao, X. Nie, Extraction of organochlorine pesticides in sediments using soxhlet, ultrasonic and accelerated solvent extraction techniques, *Journal of Ocean University of China* 2005 4:2 4 (2005) 173–176.
- [100] V. Salvado, A. Alcaide, N. Carandell, et al., Evaluation of Extraction Procedures of Organochlorine Pesticides from Natural Waters and Sediments, *Int J Environ Anal Chem* 81 (2001) 243–256.
- [101] Lang Yin Hai, Jiang Xin, Martens Dieter, et al., Comparison of extraction techniques with different solvents for DDT analogues in sediments, *Pedosphere* 15 (2005) 628–633.
- [102] K. Kawata, T. Asada, K. Okawa, et al., Multiresidue Determination of Pesticides in Sediment by Ultrasonically Assisted Extraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *J AOAC Int* 88 (2005) 1440–1451.

- [103] T. Radović, S. Grujić, A. Petković, et al., Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia, *Environ Monit Assess* 187 (2015) 4092.
- [104] Drăgan Doina, Cucu-Man Simona, Mocanu Raluca, et al., Accelerated solvent extraction method for the determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in soil, *Revue Roumaine de Chimie* 52 (2007) 597–601.
- [105] A. Masiá, K. Vásquez, J. Campo, et al., Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túrria River Basin, *J Chromatogr A* 1378 (2015) 19–31.
- [106] M. Kvíčalová, P. Doubravová, R. Jobánek, et al., Application of different extraction methods for the determination of selected pesticide residues in sediments, *Bull Environ Contam Toxicol* 89 (2012) 21–26.
- [107] Y. Abbasi, C.M. Mannaerts, Evaluating organochlorine pesticide residues in the aquatic environment of the Lake Naivasha River basin using passive sampling techniques, *Environ Monit Assess* 190 (2018) 349.
- [108] T. Nováková, *Geochemické a izotopové datování povodňových sedimentů*, disertační práce, Univerzita Karlova, Praha 2014.
- [109] F.W. Fifield, P.J. Haines, *Environmental analytical chemistry*, 2nd ed., Blackwell Science, Oxford 2000.
- [110] J. Tolu, L. Gerber, J.F. Boily, et al., High-throughput characterization of sediment organic matter by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry and multivariate curve resolution: A promising analytical tool in (paleo)limnology, *Anal Chim Acta* 880 (2015) 93–102.
- [111] L. Nondek, M. Kužilek, S. Krupička, LC clean-up and GC/MS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediment, *Chromatographia* 37 (1993) 381–386.
- [112] S.D. Killops, J.W. Readman, HPLC fractionation and GC-MS determination of aromatic hydrocarbons from oils and sediments, *Org Geochem* 8 (1985) 247–257.
- [113] A.O. Adeniji, O.O. Okoh, A.I. Okoh, et al., Analytical Methods for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and their Global Trend of Distribution in Water and Sediment: A Review, v knize: Zoveidavianpoor M (ed.), *Recent Insights in Petroleum Science and Engineering*, IntechOpen, Londýn 2017.
- [114] A.H. Arias, A. Vazquez-Botello, N. Tombesi, et al., Presence, distribution, and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Bahía Blanca estuary, Argentina, *Environ Monit Assess* 160 (2010) 301–314.
- [115] R.A. Grmasha, M.H. Abdulameer, C. Stenger-Kovács, et al., Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface water and sediment along Euphrates River system: Occurrence, sources, ecological and health risk assessment, *Mar Pollut Bull* 187 (2023) 114568.
- [116] Y. Dong, Z. Yan, H. Wu, et al., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments from Typical Algae, Macrophyte Lake Bay and Adjoining River of Taihu Lake, China: Distribution, Sources, and Risk Assessment, *Water (Basel)* 13 (2021) 470.

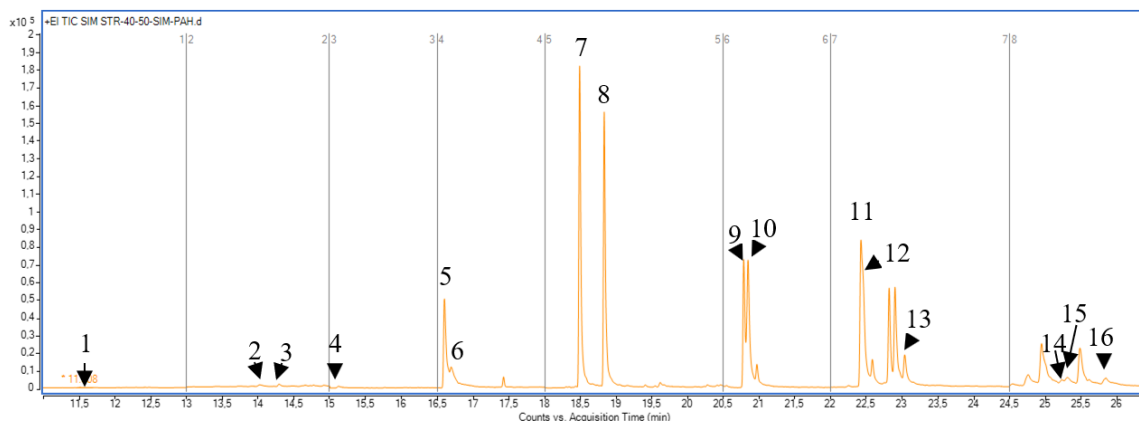
- [117] US EPA, Method 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. (2015). https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/method_610_1984.pdf, staženo 1. dubna 2024.
- [118] A. Nikolaou, M. Kostopoulou, G. Lofrano, et al., Determination of PAHs in marine sediments: analytical methods and environmental concerns, *Global NEST Journal* 11 (2009) 391–405.
- [119] M. Lyytikäinen, J.V.K. Kukkonen, M.J. Lydy, Analysis of pesticides in water and sediment under different storage conditions using gas chromatography, *Arch Environ Contam Toxicol* 44 (2003) 437–444.
- [120] B. Chaumet, J.-L. Probst, P. Eon, et al., Pesticide distribution in pond sediments from an agricultural catchment (Auradé, SW France), *Sciences Proceedings* 7 (2020) 13.
- [121] P.N. Carvalho, Y. Zhang, T. Lyu, et al., Methodologies for the analysis of pesticides and pharmaceuticals in sediments and plant tissue, *Analytical Methods* 10 (2018) 3791–3803.
- [122] M.L. Hladik, M.M. Mcwayne, Techniques and Methods 5–C3: Methods of analysis–Determination of pesticides in sediment using gas chromatography/mass spectrometry, United States Geological Survey (USGS), Reston. <https://pubs.usgs.gov/tm/tm5c3/pdf/tm5-C3.pdf>, staženo 1. dubna 2024.
- [123] C. Campanale, C. Massarelli, D. Losacco, et al., The monitoring of pesticides in water matrices and the analytical criticalities: A review, *Trends in Analytical Chemistry* 144 (2021) 116423.
- [124] M.S. Kim, T.W. Kang, H. Pyo, et al., Determination of organochlorine pesticides in sediment using graphitized carbon black solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry, *J Chromatogr A* 1208 (2008) 25–33.
- [125] L. Gripp, R. da Silva Carreira, D. Moreira, et al., Method development and application to sediments for multi-residue analysis of organic contaminants using gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem* 414 (2022) 5845–5855.
- [126] J. Minten, M. Adolfsson-Erici, T. Alsberg, Extraction and analysis of pharmaceuticals in polluted sediment using liquid chromatography mass spectrometry, *Int J Environ Anal Chem* 91 (2011) 553–566.
- [127] M.F. Resende, M.D.R. Santos, R.C. Matos, et al., The analysis of faecal sterols in sediment samples by HPLC-UV using ultrasound-assisted treatment, *Analytical Methods* 6 (2014) 9581–9587.
- [128] I. Matić, S. Grujić, Z. Jauković, et al., Trace analysis of selected hormones and sterols in river sediments by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–tandem mass spectrometry, *J Chromatogr A* 1364 (2014) 117–127.
- [129] R. Jagtap, W. Maher, Measurement of mercury species in sediments and soils by HPLC–ICPMS, *Microchemical Journal* 121 (2015) 65–98.
- [130] Kowalski J, Rigdon A, Cochran J, Foods Safety Applications: Analytical Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Yerba Mate Tea Using Modified QuEChERS, Solid Phase Extraction and GC-TOFMS and GC-MS/MS, Restek Corporation, Bellefonte. <https://www.restek.com/global/en/articles/analytical-method-for-polycyclic-aromatic->

hydrocarbons-PAHS-in-herb-mate-tea-using-modified-quechers-solid-phase-extraction-and-GC-TOFMS-and-GC-MS-MS, staženo 9. dubna 2024.

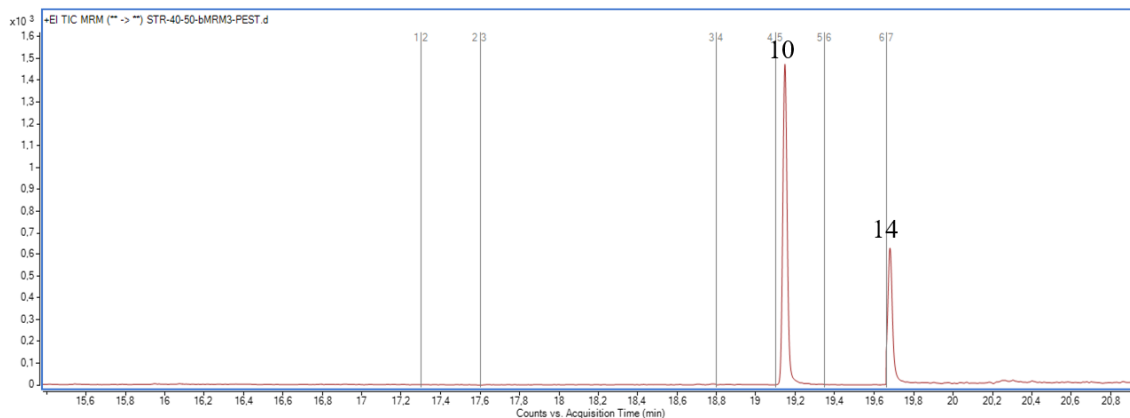
- [131] N. Marjanovic, S. Kravic, Z. Suturovic, et al., Determination of sensitivity limit in quantative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by Gc-ms, *Acta Periodica Technologica* (2004) 111–119.
- [132] R. Cholewa, D. Beutling, J. Budzyk, et al., Persistent organochlorine pesticides in internal organs of coypu, *Myocastor coypus*, *J Environ Sci Health B* 50 (2015) 590–594.
- [133] K. Bláha a kol., Aktualizovaný Národní implementační plán Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech v České republice na léta 2018-2023, Ministerstvo životního prostředí ČR, Praha.
[https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/strategicke_dokumenty_stockholmska_umluva/\\$FILE/OMV-Narodni_implementacni_plan\(2018-2023\)-20171004.pdf](https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/strategicke_dokumenty_stockholmska_umluva/$FILE/OMV-Narodni_implementacni_plan(2018-2023)-20171004.pdf), staženo 8. dubna 2024.

Přílohy

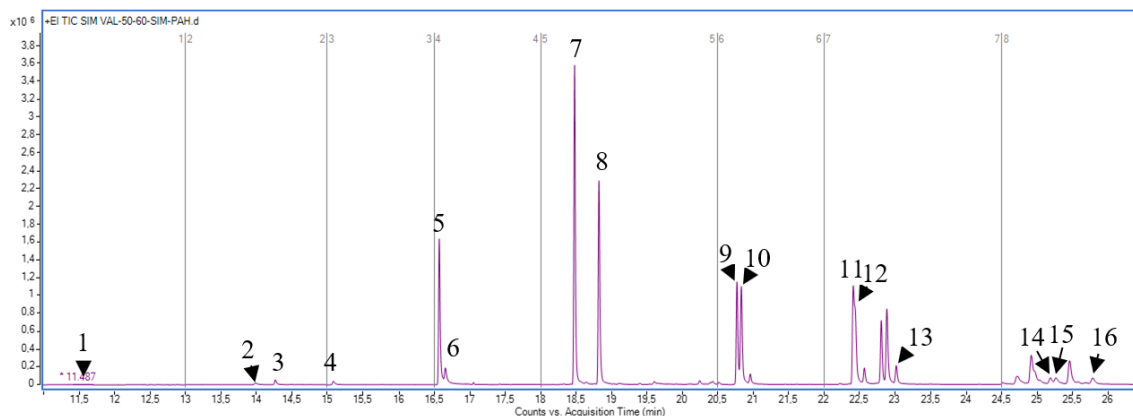
Příloha 1: Chromatogramy z analýz reálných vzorků sedimentů pro vzorky STR 40-50 a VAL 50-60



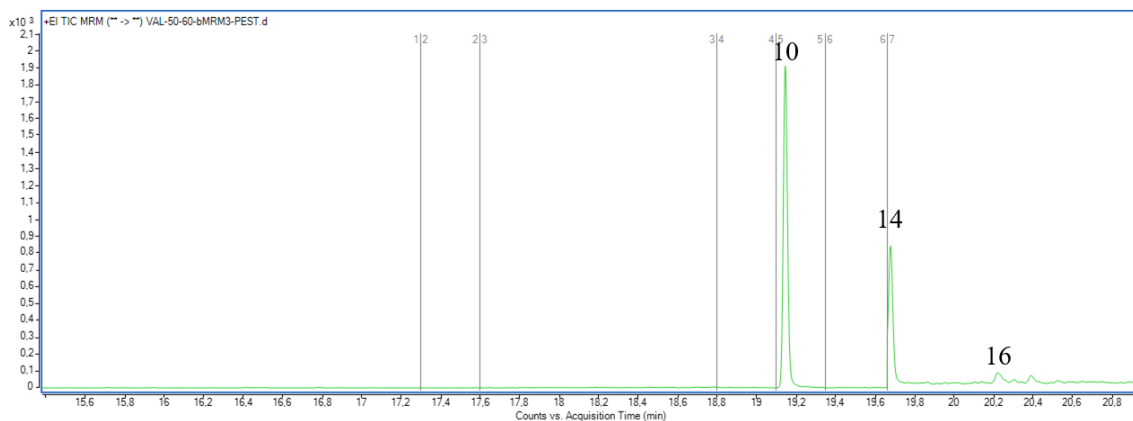
Obr. 1: Chromatogram reálného vzorku STR 40-50 ze SIM módu pro PAH (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthren, 12 – benzo[k]fluoranthren, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)



Obr. 2: Chromatogram reálného vzorku STR 40-50 z MRM módu pro OCP (10 – p,p'-DDE, 14 – p,p'-DDD)



Obr. 3: Chromatogram reálného vzorku VAL 50-60 ze SIM módu pro PAH (1 – naftalen, 2 – acenaftylen, 3 – acenaften, 4 – fluoren, 5 – anthracen, 6 – fenanthren, 7 – fluoranthen, 8 – pyren, 9 – benzo[a]anthracen, 10 – chrysen, 11 – benzo[b]fluoranthén, 12 – benzo[k]fluoranthén, 13 – benzo[a]pyren, 14 – indeno[1,2,3-CD]pyren, 15 – dibenz[a,h]anthracen, 16 – benzo[g,h,i]perylene)



Obr. 4: Chromatogram reálného vzorku VAL 50-60 z MRM módu pro OCP (10 – p,p'-DDE, 14 – p,p'-DDD, 16 – p,p'-DDT)