



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

VYUŽITÍ SEPARAČNÍCH METOD PRO STUDIUM
VYBRANÝCH LÉČIV A PESTICIDŮ VE VODÁCH
THE USE OF SEPARATION METHODS FOR THE STUDY OF SELECTED DRUGS AND
PESTICIDES IN WATER

AUTOREFERÁT DOKTORSKÉ DIZERTAČNÍ PRÁCE
SUBSTANTIAL RESULTS OF DOCTORAL THESIS

Dizertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Chemie a technologie životního prostředí na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně.

Autor práce

Author

Ing. Jitka Burešová

Vedoucí práce

Supervisor

Prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

ABSTRAKT

Dizertační práce je zaměřena na získání poznatků o průniku pesticidů a léčiv do vodního prostředí. Cílem byl vývoj a ověření optimální metody vhodné pro dlouhodobé sledování výskytu vybraných pesticidů a léčiv v povrchových vodách.

Z léčiv byla pro sledování zvolena velmi často užívaná analgetika ibuprofen a diklofenak a antiepileptikum karbamazepin. Dále bylo pro sledování vybráno celkem 41 pesticidů; pozornost byla zaměřena na skupinu močovinových pesticidů a skupinu fenoxycarboxylových kyselin, dále na vybrané pesticidy patřící do skupiny prioritních látek, na vybrané pesticidy určené pro posouzení environmentální kvality a vybrané pesticidy, jejichž roční spotřeba v České republice převyšuje 30 tun.

Pro stanovení byla použita metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC/MS/MS). Vybrané analyty byly stanovovány ve dvou skupinách, 10 analytů při negativní ionizaci a 34 analytů při pozitivní ionizaci. Pro přečištění a zakoncentrování vzorků byla používána extrakce pevnou fází (SPE).

Vypracovaná metodika byla ověřena validací a použita pro sledování výskytu vybraných látek ve vzorcích povrchových vod z oblasti povodí řeky Moravy.

Vzorky byly odebírány jedenkrát měsíčně po dobu dvou let na řekách Moravě a Svratce. Po dobu jednoho roku byl sledován tok řeky Blaty a potoka Nivničky. Jednorázově byl také prozkoumán tok řeky Litavy, ze které byly odebrány v jeden den čtyři vzorky tak, aby pokryly celý její tok. Výběr menších toků pro sledování proběhl na základě pravděpodobnosti výskytu pesticidů, a to vzhledem k jejich průtoku hojně zemědělsky obdělávanými oblastmi.

Léčiva ibuprofen a diklofenak byla detekována ve všech odebraných vzorcích, karbamazepin v převážné většině. Mezi nejčastěji se vyskytující pesticidy patřily bentazon, diuron, isoproturon, karbendazim, MCPA, MCPP, propikonazol, tebukonazol a 2,4-D.

KLÍČOVÁ SLOVA

Pesticidy, léčiva, rezidua, separační metody, extrakce tuhrou fází, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie, tandemová hmotnostní spektrometrie, povrchová voda.

ABSTRACT

This work is focused on the study of penetration of pesticides and pharmaceuticals in the aquatic environment. The aim was to develop and verify the optimal method for long-term monitoring of the occurrence of selected pesticides and pharmaceuticals in surface waters.

Two frequently used analgesics ibuprofen and diclofenac, and carbamazepine that is used to treat epilepsy, were chosen from the group of drugs. A group of 41 pesticides were selected for monitoring too. The attention was focused on a group of urea pesticides and phenoxyacetic acids, as well as on selected pesticides falling to the group of priority substances or identified as environmental quality standards. Some of pesticides were selected because their consumption in the Czech Republic exceeds 30 tons a year.

Liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC / MS / MS) was used for the determination of selected analytes in surface waters. Two optimized analytical method were developed. 10 analytes were determined in negative ion mode and 34 analytes in positive ion mode. Solid phase extraction (SPE) was used for purification and concentration of the samples.

Developed methodology was validated and used for monitoring of selected compounds in samples of surface waters from the Morava River basin.

Samples were collected on the rivers Morava and Svatka monthly for two years. Samples from the river Blata and stream Nivnička were collected for one year. Surface water samples were also collected from the river Litava. Four samples were taken throughout the length of the flow during one day. Smaller streams were chosen for monitoring because of the probability of occurrence of pesticides. They flow abundantly agriculturally cultivated areas.

Drugs ibuprofen and diclofenac were detected in all taken samples, carbamazepine mostly. Among the most commonly occurring pesticides were bentazon, diuron, isoproturon, carbendazim, MCPA, MCPP, propiconazole, tebuconazole and 2,4-D.

KEY WORDS

Pesticides, pharmaceuticals, residues, separation methods, solid phase extraction, liquid chromatography, mass spectrometry, tandem mass spectrometry, surface water.

OBSAH

1	Úvod.....	6
2	Teoretická část.....	7
2.1	Stanovovaná léčiva	7
2.1.1	Analgetika.....	7
2.1.2	Antiepileptika	7
2.2	Zdroje a osud léčiv v životním prostředí	7
2.3	Pesticidy	8
2.3.1	Spotřeba pesticidů	9
2.3.2	Osud pesticidů v životním prostředí.....	9
2.4	Legislativa v oblasti ochrany vod.....	10
2.5	Metody stanovení pesticidů a léčiv.....	10
3	Experimentální část	11
3.1	Stanovované analyty	11
3.2	Pracovní postupy.....	12
3.2.1	Rozdělení analytů	12
3.2.2	Odběry vzorků	13
3.2.3	Úprava vzorků a izolace analytů	13
3.2.3.1	Pesticidy a léčiva (skupina č. 1).....	13
3.2.3.2	Pesticidy a léčiva (skupina č. 2).....	14
3.2.4	LC/MS/MS analýza.....	14
3.2.4.1	Chromatografické podmínky	14
3.2.4.2	Nastavení hmotnostního spektrometru	15
3.2.4.2.1	Pesticidy a léčiva (skupina 1).....	15
3.2.4.2.2	Pesticidy a léčiva (skupina 2).....	16
3.2.5	Kalibrace.....	17
3.2.6	Validační charakteristiky optimalizovaných metod.....	17
4	Vybrané výsledky a diskuze	19
4.1	Řeka Svratka	19
4.2	Řeka Litava	22
4.3	Porovnání získaných dat s publikovanými údaji	24
5	Závěr	26
6	Seznam použité literatury	28
7	Profil autora	32

1 ÚVOD

Pesticidy jsou látky určené k ničení rostlinných a živočišných škůdců. Používají se především v zemědělství, ale také v lesnictví, ve vodním hospodářství i k ochraně staveb, člověka a zvířat. Již delší dobu jsou sledovány jako kontaminanty životního prostředí. Znečištění povrchových vod těmito látkami se označuje jako plošné, tj. dochází k němu splachem aplikovaných pesticidů z polí (společně s půdou) přímo do řek. Tento typ znečištění není možné redukovat čistírnami odpadních vod. Jedinou možností je omezení aplikovaného množství pesticidů a výběr méně perzistentních zástupců. Používání některých pesticidů již bylo z důvodu perzistence a negativních vlivů na organismy zastaveno. Pesticidy aplikované v současnosti mají vesměs vyšší polaritu než „dříve používané“, jsou proto lépe odbouratelné a také jejich kumulace v potravním řetězci je tím omezena. Vzhledem k jejich aplikovanému množství a rozmanitosti používaných látek je problematika znečištění životního prostředí pesticidy, jejich vlivu na životní prostředí a studium jejich účinku na člověka a ostatní živé organismy, stále velice aktuální.

Jako nové kontaminanty životního prostředí jsou označována léčiva. Tyto látky jsou cíleně vyvíjeny tak, aby v co nejnižších dávkách měly co nejvyšší biologický účinek. Množství vyrobených a spotřebovaných léčiv celosvětově narůstá. S rostoucí spotřebou léčiv roste i jejich výskyt v životním prostředí, kam se dostávají prostřednictvím vypouštěných odpadních vod. Tyto vody jsou na čistírnách odpadních vod čištěny, avšak velká část léčiv je běžnými čistírenskými procesy velmi těžko odbouratelná. Protože léčiva mají významný pozitivní přínos ke zvyšování kvality života lidí i zvířat, nelze předpokládat regulaci jejich výroby. Je proto nezbytné tyto látky efektivněji z odpadních vod odstraňovat. Zároveň proto roste potřeba analýz, kterými by bylo možno ověřit jednak účinnost čistícího procesu a rovněž sledovat distribuci těchto látek v jednotlivých složkách životního prostředí. Tyto analýzy musí být schopné stanovit i velmi nízké koncentrace léčiv v odpadní, vyčištěné a povrchové vodě.

V současné době lze přítomnost pesticidů a léčiv ve vodách stanovit několika metodami, patřícími vesměs mezi separační metody. Nejčastěji používané postupy jsou založeny na extrakci pevnou fází (SPE) nebo na extrakci kapalina – kapalina, následovanou zakoncentrováním vzorku pod proudem dusíku a poté vlastní separací s využitím chromatografie s různými typy detektorů. Při analýze pesticidů je dominantní technikou plynová chromatografie. Její použití je však omezeno na látky těkavé při pracovních teplotách této techniky. Řada pesticidů a většina léčiv proto musí být pro separaci touto technikou nejdříve derivatizována. Rozvoj kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí umožnil citlivé a vysoce selektivní stanovení těchto látek bez předchozí derivatizace.

Pro potřeby sledování úrovně znečištění povrchových vod pesticidy i léčivy je nezbytný vývoj metod schopných kvalitativně i kvantitativně stanovit ve vzorku co nejširší spektrum látek s dostatečnou citlivostí a současně s co nejnižšími nároky na přípravu a obsluhu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 STANOVOVANÁ LÉČIVA

Z léčiv byl pro sledování vybrán ibuprofen a diklofenak, patřící do skupiny analgetik a karbamazepin patřící do skupiny antiepileptik. Tato léčiva patří mezi velmi často užívaná a byla vybrána na základě vysoké spotřeby a tedy i pravděpodobnosti pozitivních nálezů ve vzorcích povrchových vod.

2.1.1 Analgetika

Analgetika jsou látky, které snižují až potlačují pocit bolesti. Mnohá z nich vykazují také protizánětlivý a antipyretický účinek. Přestože neléčí samotnou příčinu onemocnění, jejich podávání může významně vlastnímu léčení napomáhat snižováním zátěže a stresu organismu, který je způsoben bolestí, zánětem nebo zvýšenou teplotou.

Analgetika se dále dělí na analgetika narkotická a na nesteroidní protizánětlivé látky (NSAIDs). Narkotická analgetika jsou používána ke zmírnění silné bolesti. NSAIDs jsou používána k potlačení mírnějších bolestí, horečky a zánětů [1].

2.1.2 Antiepileptika

Epilepsie je chronické neurologické onemocnění, které je charakterizované opakovanými záchvaty. Tyto záchvaty jsou způsobeny abnormálními výboji neuronů v šedé kůře mozkové. Antiepileptika jsou látky používané k potlačení epileptických záchvatů. Jedná se o poměrně široké spektrum léčiv, mnohá antiepileptika se vzhledem ke svým dalším účinkům řadí i do jiných lékových skupin. Některá antiepileptika jsou používána i k léčbě neuropatické bolesti, případně některých psychiatrických poruch.

2.2 ZDROJE A OSUD LÉČIV V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

Léčiva jsou označována jako nové kontaminanty životního prostředí. Tyto látky jsou cíleně vyvíjeny tak, aby v co nejnižších dávkách měly co nejvyšší biologický účinek. V nízkých koncentracích kontinuálně vstupují do životního prostředí a díky své biologické aktivitě a schopnosti kumulovat se v ekosystému jsou označována jako potenciálně nebezpečná pro vyšší organismy a pro člověka [2]. Během řady studií uskutečněných v několika zemích bylo ve vodních ekosystémech objeveno více než 80 léčiv a jejich metabolitů [3]. Expoziční cesta, kterou se léčiva do životního prostředí dostávají, souvisí s tím, zda se jedná o humánní nebo veterinární léčivo.

Humánní léčiva podléhají po podání v organismu metabolickým a biotransformačním reakcím. Metabolity i část původního léčiva v nezměněné formě je poté z organismu vyloučena ledvinami (močí) nebo játry (stolicí). Míra metabolizace

léčiva souvisí i se způsobem podání. Dermatologicky podávaná léčiva jsou obecně méně metabolizována než ta vnitřně podaná. Protože jsou absorbována do těla přes kůži, je rychlost této absorpce pomalejší a při mytí je podstatná část léčiva spláchnuta do odpadní vody. Metabolizovaná léčiva jsou vylučována jako relativně rozpustné a polární konjugáty, které se mohou postupně rozkládat zpět na původní látku. Koncentrace původní látky může na základě toho v odpadních vodách vzrůstat [4]. Vyloučená léčiva se společně s komunálními odpadními vodami dostávají do čistíren odpadních vod. Díky svým vlastnostem, jako je polarita, perzistence, rozpustnost ve vodě apod., jsou zde odstraněna pouze částečně. Většina léčiv je odstraněna pouze ze 60 až 90 % [5; 6]. Polární léčiva a metabolity přechází do vyčištěné vody. Nepolární lipofilní léčiva a jejich metabolity jsou sorpcí zadržovány v čistírenském kalu. Pokud je tento kal použit jako hnojivo na zemědělskou půdu, dostávají se léčiva do půdy, odkud mohou být vyluhována do spodních vod nebo spláchnuta při deštích do povrchových vod [7].

Léčiva jsou používána také ve veterinární medicíně, a to zejména při léčbě hospodářských zvířat. Farmaka podávaná hospodářským zvířatům se dostávají do prostředí společně s výkaly a močí, a to buď přímo nebo po aplikaci na pole jako hnojivo.

Dalším významným primárním zdrojem léčiv v životním prostředí je farmaceutický průmysl, jehož odpadní vody obsahují často vysoké koncentrace účinných látek.

V prostředí jsou polární léčiva obsažena především ve vodách, zatímco nepolární jsou zadržována v sedimentech, kalcích a půdě [3]. Zda a v jaké míře bude léčivo zadržováno v půdě nebo zda bude přecházet do vodního prostředí, je často neodhadnutelné vzhledem k množství funkčních skupin (karboxylové a aldehydové skupiny, aminoskupiny) obsažených v molekulách těchto látek. Díky funkčním skupinám závisí míra zadržování léčiva v půdě také na pH prostředí [5].

Protože léčiva mají významný pozitivní přínos ke zvyšování kvality života lidí i zvířat, nelze předpokládat regulaci jejich výroby. Je proto zapotřebí tyto látky efektivně odstraňovat z odpadních vod, které patří mezi významné zdroje tohoto typu znečištění. A stejně důležitý je i vývoj spolehlivého, ekonomicky a časově nenáročného analytického stanovení co nejširšího spektra těchto polutantů [2].

2.3 PESTICIDY

Pesticidy jsou látky určené k prevenci, ničení a kontrole škodlivých činitelů (mikroorganismů, rostlin a živočichů) během výroby, zpracování, skladování, transportu nebo prodeje potravin, zemědělských komodit, krmiv, dřeva a produktů z něj. Mezi pesticidy se dále zahrnují také regulátory růstu, desikanty a inhibitory klíčení [8; 9].

Pesticidy se používají nejen v zemědělství a lesnictví, ale také ve vodním hospodářství pro redukci zooplanktonu nebo likvidaci některých nežádoucích vodních rostlin. Jde o velmi širokou skupinu látek zahrnující jak látky organické,

tak i látky anorganické [10]. Jedna účinná látka může být aktivní složkou i několika výrobků s různým komerčním označením. Současný sortiment pesticidních přípravků registrovaných v České republice zahrnuje přípravky na bázi kolem 280 účinných látek [11; 12].

2.3.1 Spotřeba pesticidů

Používání pesticidů v posledních 50 letech značně zvýšilo zemědělskou produkci. Pesticidy jsou aplikovány na 95 % zemědělské půdy [13]. Pro porovnání spotřeby přípravků na ochranu rostlin slouží poměr aplikovaného množství přípravků v kilogramech nebo litrech na hektar zemědělské půdy. Spotřeba účinných látek na 1 ha zemědělské půdy se v posledních letech pohybuje na úrovni cca 1,3 kg/ha, zatímco v roce 1990 byla tato spotřeba cca 2 kg/ha. K výraznému snížení spotřeby přípravků na ochranu rostlin v první polovině 90. let přispělo výrazné zvýšení cen pesticidů, celková transformace zemědělství i snaha snížit negativní vlivy pesticidů na životní prostředí. Od roku 1993 lze pozorovat opět pozvolný nárůst spotřeby pesticidů. Celkové množství spotřebovaných účinných látek v České republice za rok 2013 činilo podle dat Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) 5 511 tun [12].

2.3.2 Osud pesticidů v životním prostředí

Bylo odhadnuto, že méně než 0,1 % aplikovaných pesticidů skutečně zasáhne cílového škůdce [14]. Zbytek pesticidů vstupuje do prostředí, kde kontaminuje půdu, vodu i ovzduší, a může zde nepříznivě ovlivňovat necílové organismy.

Existují dvě hlavní cesty vstupu pesticidů do půdy. Rozprašování tekutých pesticidů během ošetřování listů zemědělských plodin a uvolňování z granulovaných nebo práškovitých pesticidů aplikovaných přímo na půdu [14]. Hlavním vstupem pesticidů do životního prostředí je proto půda. Perzistence pesticidu v půdě je velmi závislá na jejím složení. Všeobecně platí, že pesticidy déle setrvávají v půdách s vysokým obsahem organického podílu a jílovitých částic. Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující dobu setrvání pesticidu v půdě patří adsorpce na půdní částice. Pesticidy, které jsou silně sorbované, jsou obvykle méně přístupné mikrobiální degradaci, příjmu rostlinami a vyplavování do nižších vrstev půdy [11].

Při rozkladu pesticidů hraje významnou roli hydrolýza, kterou ovlivňuje zejména pH a kvalita organické hmoty v půdě. Fotodegradace, tj. rozklad pesticidu světlem, může nastat pouze na povrchu půdy.

Dobře odbouratelné jsou zejména pesticidy dobře rozpustné ve vodě; degradační proces je tím rychlejší, čím jsou vody biologicky bohatší. Proto je rozklad rychlejší v povrchových vodách než ve vodách podzemních [11].

Znečištění povrchových vod pesticidy je označováno jako tzv. plošné znečištění. Tento typ znečištění není možné redukovat čistírnami odpadních vod. Jedinou možností je omezení aplikovaného množství a výběr méně perzistentních zástupců. Vhodné jsou také opatření ke snížení eroze půdy.

2.4 LEGISLATIVA V OBLASTI OCHRANY VOD

Legislativní ochrana vody na evropské úrovni vychází ze směrnice 2000/60/ES Evropského parlamentu a Rady, ustavující rámec pro činnost společenství v oblasti vodní politiky. Tato směrnice novelizovaná směrnicemi 2008/105/ES a 2013/39/EU stanovuje strategii proti znečišťování vod, která zahrnuje určení prioritních látek představujících významné riziko pro vodní prostředí nebo jeho prostřednictvím. Členské státy jsou podle uvedených směrnic povinny provádět nezbytná opatření k postupnému snížení znečišťování vod těmito látkami.

Směrnice 2008/105/ES stanovila 33 prioritních látek a 8 dalších znečišťujících, pro které určila normy environmentální kvality (NEK). Normou environmentální kvality se rozumí mezní koncentrace určité znečišťující látky ve vodě, sedimentu nebo živém organismu, která nemá být z důvodu ochrany lidského zdraví a životního prostředí překročena. Prostřednictvím směrnice 2013/39/EU byl dosavadní seznam prioritních látek rozšířen o dalších 12 látek.

Hlavním legislativním předpisem v oblasti ochrany vod v České republice je zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). Účelem tohoto zákona je chránit povrchové a podzemní vody, stanovit podmínky pro hospodárné využívání vodních zdrojů a pro zachování a zlepšení jakosti povrchových a podzemních vod [21]. Jednotlivé prioritní látky jsou v české legislativě uvedeny v nařízení vlády č. 61/2003 Sb., novelizovaném nařízeními č. 229/2007 Sb. a č. 23/2011 Sb. Nařízení vlády č. 23/2011 Sb. do české legislativy přenáší také normy environmentální kvality.

2.5 METODY STANOVENÍ PESTICIDŮ A LÉČIV

Nejčastěji používané metody pro stanovení pesticidů a léčiv ve vodách jsou založeny na extrakci pevnou fází (SPE) [16 – 20] nebo extrakci kapalina – kapalina [21] a následném zakoncentrování vzorku pod proudem dusíku. Vlastní separace je pak prováděna s využitím chromatografie s různými typy detektorů.

SPE může být provedena také v režimu on-line, kdy je SPE kolonka přímo propojena s analytickou kolonou [22; 23]. Nově, zvláště ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií, je rovněž používán přímý nástřik vzorku na analytickou kolonu, a to bez předchozí extrakce [24; 25]. V tomto případě je vzorek pouze filtrován nebo odstředěn.

Pro stanovení pesticidů i léčiv lze použít plynovou i kapalinovou chromatografii. Využití plynové chromatografie je omezeno těkavostí a teplotní stabilitou analytů. Mezi pesticidy dobře stanovitelné touto technikou patří organochlorované pesticidy [26] a triazinové herbicidy [27]. Naopak, mezi pesticidy, které nelze stanovit plynovou chromatografií přímo, bez derivatizace, patří karbamátové pesticidy, močovinové pesticidy a fenoxycarboxylové kyseliny. I většina léčiv musí být před GC analýzou derivatizována, jako například ibuprofen nebo kyselina salicylová [28]. Pro stanovení těchto analytů je vhodnější kapalinová chromatografie. Tu lze

kombinovat s detektorem diodového pole (DAD) [29], v převážné většině je však dnes využíváno účinnější spojení s hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS) [30 - 32] nebo tandemovým hmotnostním spektrometrem (HPLC/MS/MS) [33 - 35]. Toto spojení umožňuje univerzální a vysoce selektivní detekci s možností identifikace složek vzorku.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 STANOVOVANÉ ANALYTY

Stanovované pesticidy byly vybrány na základě potřeby zavedení stanovení pesticidů ze skupiny močovín a fenoxycarboxylových kyselin, některých často používaných pesticidů a dále podle požadavků směrnice 2008/105/ES a nařízení vlády 23/2011. Při výběru analytů bylo také přihlédnuto k předpokládaným požadavkům tehdy teprve vznikající směrnice 2013/39/EU.

Ze skupiny léčiv byl pro sledování vybrán ibuprofen, diklofenak a karbamazepin. Tato léčiva byla zvolena na základě vysoké spotřeby a perzistence v životním prostředí (diklofenak a karbamazepin).

Všechny pesticidy vybrané pro stanovení jsou shrnuty v tabulce 1. Je zde uveden důvod výběru a zda je daná účinná látka povolena k použití v ČR (k lednu 2015).

Tabulka 1: Pesticidy vybrané pro stanovení [36]

Název	Registrované POR	Důvod výběru
aklonifen	ano	prioritní látka (směrnice 2013/39/EU)
bentazon	ano	přezkoumáván jako možná prioritní látka (směrnice 2008/105/ES)
cybutryn	ne	prioritní látka (směrnice 2013/39/EU)
dikamba	ano	roční spotřeba v ČR
dichlorprop (2,4-DP)	ano	NEK (nařízení vlády 23/2011)
dichlorvos	ne	prioritní látka (směrnice 2013/39/EU)
dimethachlor	ano	NEK (nařízení vlády 23/2011), roční spotřeba v ČR
diuron	ne	prioritní látka (směrnice 2013/39/EU)
epoxykonazol	ano	NEK (nařízení vlády 23/2011), roční spotřeba v ČR
ethofumesát	ano	roční spotřeba v ČR
fenitrothion	ne	NEK (nařízení vlády 23/2011)
fenpropidin	ano	roční spotřeba v ČR
fenthion	ne	NEK (nařízení vlády 23/2011)
chinoxifen	ne	prioritní látka (směrnice 2013/39/EU)
chlorbromuron	ne	skupina močovinových herbicidů

Analyty stanovované při negativní chemické ionizaci (skupina 1):

bentazon, dikamba, diklofenak, ibuprofen, MCPA, MCPB, MCPP, 2,4-D, 2,4-DP, 2,4,5-T.

Analyty stanovované při pozitivní chemické ionizaci (skupina 2):

aklonifen, cybutryn, dichlorvos, dimethachlor, diuron, epoxykonazol, ethofumesát, fenitrothion, fenpropidin, fenthion, chinoxifen, chlorbromuron, chloridazon, chlortoluron, isoproturon, karbamazepin, karbendazim, lenacil, linuron, malathion, metabenzthiazuron, metamitron, metobromuron, metoxuron, monolinuron, nikosulfuron, parathion ethyl, parathion methyl, pendimethalin, prochloraz, propikonazol, tebukonazol, thifensulfuronmetyl, triflusulfuronmetyl.

3.2.2 Odběry vzorků

Zkoumanou matricí byla povrchová voda; její vzorky byly odebírány na vybraných profilech v oblasti povodí řeky Moravy v období let 2012 a 2013. Četnost odběrů byla zpravidla jedenkrát měsíčně.

3.2.3 Úprava vzorků a izolace analytů

Z důvodu odstranění hrubých nečistot, které by komplikovaly následnou přípravu, byly vzorky vždy nejprve zfiltrány přes filtry ze skleněných mikrovláken. Ihned po filtraci bylo také z důvodu konzervace u vzorků pro analýzu pesticidů a léčiv ze skupiny 1 upraveno pH na hodnotu 2. Takto připravené vzorky byly skladovány v lednici při teplotě $(3 \pm 2)^\circ\text{C}$ až do započetí extrakce.

Sledované analyty byly z matrice izolovány pomocí SPE s využitím kolonek Spe-ed, Octadecyl C18/18% (500 mg/3 ml) od firmy Applied Separations. Každá skupina analytů byla extrahována rozdílným postupem.

3.2.3.1 Pesticidy a léčiva (skupina 1)

- *příprava vzorku*
250 ml zfiltrovaného vzorku bylo okyseleno konc. HCl na pH 2 a obohaceno směsným zásobním roztokem vnitřních standardů
- *kondicionace*
stacionární fáze SPE kolonek byla postupně promyta samospádem a bez prodlev 1 ml acetonu, 1 ml methanolu a 3 ml okyselené vody o pH 2 tak, aby nevyschl smočený sorbent
- *aplikace vzorku*
250 ml okyseleného vzorku bylo aplikováno pod vakuem na nakondiciovanou SPE kolonkou
- *eluce analytů*
analyty byly z SPE kolonky eluovány samospádem 1 ml methanolu přímo do vialky [40]

3.2.3.2 Pesticidy a léčiva (skupina 2)

- *příprava vzorku*
500 ml zfiltrovaného vzorku bylo okyseleno konc. kyselinou octovou na pH 3 a obohaceno směsným zásobním roztokem vnitřních standardů
- *kondicionace stacionární fáze SPE kolonky*
stacionární fáze SPE kolonek byla postupně promyta samospádem a bez prodlev 2 x 3 ml methanolu a 3 ml okyselené vody o pH 3 tak, aby nevyschl smočený sorbent
- *aplikace vzorku*
500 ml okyseleného vzorku bylo aplikováno pod vakuem na nakondiciovanou SPE kolonkou
- *eluze analytů*
analyty byly z SPE kolonky eluovány samospádem 2 x 2 ml methanolu do kalibrovaných zkumavek. Eluát byl zahuštěn proudem dusíku na 1 ml a převeden do vialky [40]

3.2.4 LC/MS/MS analýza

3.2.4.1 Chromatografické podmínky

- Mobilní fáze: acetonitril, 0,04 % k. octová v millipore vodě
- Průtok: 0,5 ml.min⁻¹
- Gradient: viz. tabulka 2 a 3
- Teplota na koloně: 40 °C
- Nástřik: 10 µl
- Délka analýzy: 30 + 6 min (1) a 35 + 6 min (2) [40]

Tabulka 2: Gradient - skupina 1 [40]

čas (min)	obj. % 0,04 % k. octová v millipore	obj. % acetonitrilu
0	75	25
2	75	25
20	35	65
30	35	65

Tabulka 3: Gradient - skupina 2 [40]

čas (min)	obj. % 0,04 % k. octová v millipore	obj. % acetonitrilu
0	90	10
28	2	98
30	0	100
35	0	100

3.2.4.2 Nastavení hmotnostního spektrometru**3.2.4.2.1 Pesticidy a léčiva (skupina 1)**

mode	MRM, ESI Negative
sušící plyn	dusík 4.0
teplota sušícího plynu	300 °C
průtok sušícího plynu	9 l.min ⁻¹
kolizní plyn	dusík 6.0
nebulizer	40 psi
napětí na kapiláře	4000V [40]

Tabulka. 4: Parametry MRM [40]

Látka	RT (min)	MRM 1	MRM 2	FR (V)	CE (V)	ISTD
Dikamba D3 (ISTD 1)	4,6	222,0 → 177,9	222,0 → 145,8	60	0	
Dikamba	4,6	219,0 → 175,0	219,0 → 144,9	60	0	1
Bentazon	9,2	239,1 → 132,0	239,1 → 175,0	120	20	2
2,4-D	11,9	219,0 → 160,9	219,0 → 125,0	60	15	2
MCPA D6 (ISTD 2)	12,5	205,1 → 147,1		80	10	
MCPA	12,6	199,1 → 141,0	201,1 → 143,0	80	10	2
2,4,5-T	14,6	253,0 → 195,0	255,0 → 197,0	60	10	2
2,4-DP D6 (ISTD 3)	14,6	239,1 → 164,0		60	5	
2,4-DP	14,6	233,0 → 160,9	235,0 → 163,0	60	5	3
MCP	15,2	213,1 → 141,0	215,1 → 143,0	80	8	2
MCPB D6 (ISTD 4)	17,2	233,1 → 147,0		90	5	
MCPB	17,4	227,0 → 141,0	229,0 → 143,0	90	5	4
Diklofenak D4 (ISTD 5)	19,4	298,0 → 254,1		80	5	
Diklofenak	19,5	294,0 → 250,2		80	5	5
Ibuprofen D3 (ISTD 6)	20,1	208,2 → 164,2		70	0	
Ibuprofen	20,1	205,0 → 161,2		60	0	6

3.2.4.2.2 Pesticidy a léčiva (skupina 2)

mode	MRM, ESI Positive
sušící plyn	dusík 4.0
průtok sušícího plynu	9 l. min ⁻¹
teplota sušícího plynu	350 °C
kolizní plyn	dusík 6.0
nebulizer	40 psi
napětí na kapiláře	4000V [40]

Tabulka 5: Parametry MRM [40]

Látka	RT (min)	MRM 1	MRM 2	FR (V)	CE (V)	ISTD
Karbendazim	7,0	192,2 → 160,1	192,2 → 132,0	110	25	2
Metamitron	8,9	203,2 → 175,1	203,2 → 104,0	90	15	2
Karbamazepin D8 (ISTD 1)	13,4	245,2 → 202,2	245,2 → 199,2	140	20	
Karbamazepin	13,5	237,2 → 194,2	237,2 → 192,2	150	20	1
Chloridazon	9,3	222,1 → 104,0	222,1 → 92,0	70	25	2
Metoxuron	12,0	229,1 → 72,0	229,1 → 46,1	90	15	2
Nikosulfuron	12,1	411,1 → 182,1	411,1 → 213,1	120	10	2
Thifensulfuronmethyl	13,3	388,0 → 167,1	388,0 → 141,1	110	15	2
Dichlorvos	13,3	221,0 → 109,0	221,0 → 145,0	100	12	5
Lenacil	13,7	235,2 → 153,0	235,2 → 136,0	90	25	3
Metabenzthiazuron	14,7	222,1 → 165,0	222,1 → 150,0	90	20	4
Chlortoluron D6 (ISTD 2)	14,7	219,2 → 78,0	219,2 → 52,1	110	15	
Chlortoluron	14,8	213,1 → 72,0	213,1 → 46,1	90	15	2
Monolinuron	15,6	215,1 → 126,0	215,1 → 148,0	70	10	5
Diuron D6 (ISTD 3)	15,6	239,1 → 78,1	239,1 → 52,1	80	15	
Diuron	15,7	233,1 → 72,0	233,1 → 46,1	100	15	3
Isoproturon D6 (ISTD 4)	15,6	213,2 → 78,1	213,2 → 52,1	110	15	
Isoproturon	15,7	207,2 → 72,0	207,2 → 46,1	110	15	4
Metobromuron	16,3	259,0 → 170,0	259,0 → 148,0	100	15	5
Dimethachlor	17,0	256,2 → 224,1	256,2 → 148,1	90	15	4
Linuron	18,2	249,1 → 160,0	249,1 → 182,0	110	15	5
Linuron D6 (ISTD 5)	18,1	255,1 → 160,0	255,1 → 185,1	90	15	
Chlorbromuron	18,6	295,0 → 205,9	295,0 → 182,0	110	15	5
Epoxykonazol	19,3	330,1 → 121,0	330,1 → 141,0	120	15	4
Triflusaluronmethyl	19,3	493,1 → 264,1	493,1 → 238,2	140	20	2

Látka	RT (min)	MRM 1	MRM 2	FR (V)	CE (V)	ISTD
Parathion methyl	19,4	264,0 → 125,0	264,0 → 231,9	100	15 / 12	3
Cybutryn	19,8	254,2 → 198,1	254,2 → 91,0	110	18	4
Tebukonazol	19,9	308,0 → 70,1	308,0 → 125,0	130	30	4
Ethofumesát	19,9	287,0 → 121,1	287,0 → 160,7	100	13	3
Aklonifen	20,5	265,0 → 248,1	265,0 → 193,1	100	12	3
Malathion	20,5	331,0 → 99,0	331,0 → 127,1	90	12	2
Fenitrothion	20,5	278,0 → 124,9	278,0 → 108,8	90	13	5
Propikonazol	21,3	342,1 → 159,0	342,1 → 69,1	130	20	4
Prochloraz	21,8	376,1 → 308,1	376,1 → 266,0	90	5	4
Parathion ethyl	22,1	292,0 → 236,0	292,0 → 264,0	90	12 / 5	2
Fenthion	22,3	297,0 → 247,0	297,0 → 169,1	120	10	3
Fenpropidin	23,1	274,3 → 147,1	274,3 → 86,1	130	30	4
Chinoxifen	25,1	308,0 → 197,0	308,0 → 272,1	160	32	4
Pendimethalin	25,9	282,2 → 212,0	282,2 → 194,0	80	5	5

3.2.5 Kalibrace

Díky předpokládanému koncentračnímu rozpětí analytů ve sledované matrici, které by se mělo pohybovat od několika jednotek ng.l^{-1} až po stovky až tisíce ng.l^{-1} , bylo nutno kalibrovat ve velmi širokém koncentračním rozpětí. Kalibrační křivky proto byly standardně připravovány jako jedenáctibodové, v koncentračním rozsahu od 3 do 1500 ng.l^{-1} . Kalibrace byla prováděna metodou s vnitřním standardem. Jako vnitřní standardy byly používány deuterované standardy.

3.2.6 Validační charakteristiky optimalizovaných metod

Validace metody je v praxi stopových chemických analýz důležitým požadavkem zejména proto, že slouží k ověření, zda je tato metoda vhodná pro daný účel.

Mezi validační parametry, které byly ověřovány, patří mez detekce a mez stanovitelnosti, pracovní rozsah a linearita, opakovatelnost, výtěžnost a nejistota. Vybrané výsledky pro jednotlivé analyty jsou shrnuty v tabulce 6.

Tabulka 6: Validační charakteristiky metod [41]

Analyt	LOD (ng.l ⁻¹)	LOQ (ng.l ⁻¹)	LOQ ¹ (ng.l ⁻¹)	VYT ² (%)	Opak. _{ST} ³ (%)	Nejistota (%)	Nejistota ⁴ (%)
bentazon	2,8	4,4	5	88	0,8	8,4	20
dikamba	2,0	6,7	20	103	2,5	15,3	20
diklofenak	1,4	4,6	5	104	1,1	18,4	20
ibuprofen	0,0	0,1	5	89	7,1	10,4	20
MCPA	0,9	3,0	5	101	0,8	14,0	20
MCPB	0,7	2,5	5	97	0,7	15,7	20
MCPD	0,4	1,4	5	105	0,7	10,3	20
24DP	0,5	1,8	5	105	2,4	16,9	20
245T	0,8	2,7	5	106	1,6	20,0	20
24D	1,4	4,5	5	105	1,4	11,6	20
aklonifen	2,4	4,4	5	100	1,7	10,8	20
cybutryn	3,3	6,0	10	105	3,7	15,1	20
dichlorvos	2,6	4,7	5	92	2,6	17,2	20
dimethachlor	0,8	1,5	5	105	2,4	12,3	20
diuron	2,6	4,8	5	104	3,0	10,7	20
epoxykonazol	0,3	0,5	5	93	2,8	16,6	20
ethofumesát	5,8	10,5	10	108	2,8	19,8	20
fenitrothion	3,0	5,4	10	96	6,8	16,7	20
fenpropidin	0,8	1,4	10	42	8,1	8,4	20
fenthion	1,5	2,7	5	94	3,3	16,2	20
chinoxyfen	2,5	4,4	5	102	2,4	13,4	20
chlorbromuron	0,3	0,5	5	110	4,4	15,6	20
chloridazon	1,8	2,8	30	14	13,2	17,4	20
chlortoluron	1,2	2,1	5	95	3,8	16,6	20
isoproturon	1,7	3,0	5	106	2,7	10,5	20
karbamazepin	2,0	3,6	5	100	1,9	9,1	20
karbendazim	0,5	0,9	10	48	13,8	16,8	20
lenacil	1,3	2,3	5	68	2,0	8,1	20
linuron	0,4	0,8	5	93	5,6	10,3	20
malathion	1,1	2,0	5	113	3,2	11,3	20
metabenzthiazuron	0,2	0,4	5	82	2,8	14,9	20
metamitron	0,6	1,1	30	22	12,1	23,2	20
metobromuron	0,7	1,3	5	79	3,8	19,4	20
metoxuron	0,9	1,6	5	85	6,8	17,4	20
monolinuron	0,6	1,0	5	95	2,1	16,6	20
nikosulfuron	2,0	3,6	5	160	3,8	18,0	20
parathion ethyl	4,2	7,5	10	113	3,2	15,2	20
parathion methyl	5,3	9,5	20	103	2,7	15,8	20
pendimethalin	0,9	1,7	5	107	5,7	18,5	20

Analyt	LOD (ng.l ⁻¹)	LOQ (ng.l ⁻¹)	LOQ ¹ (ng.l ⁻¹)	VYT ² (%)	Opak. _{ST} ³ (%)	Nejistota (%)	Nejistota ⁴ (%)
prochloraz	1,3	2,4	5	92	2,4	17,7	20
propikonazol	0,1	0,2	5	87	2,3	11,0	20
tebukonazol	0,8	1,4	5	82	2,4	13,6	20
thifensulfuronmethyl	1,6	2,9	5	109	4,1	13,3	20
triflusulfuronmethyl	1,7	3,1	5	98	4,1	17,6	20

- 1 konečná mez stanovitelnosti – určená na základě LOQ vypočítané a korigované na výtěžnost analytu
- 2 výtěžnost reálného vzorku obohaceného o 100 ng.l⁻¹ analytu
- 3 opakovatelnost reálného vzorku obohaceného o 100 ng.l⁻¹ analytu
- 4 konečná nejistota – odhadnutá na základě nejistoty vypočítané

4 VYBRANÉ VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 ŘEKA SVRATKA

Vzorky povrchové vody z řeky Svatky byly odebírány v průběhu let 2012 a 2013 s frekvencí jeden vzorek měsíčně. Odběrový profil byl umístěn na konci toku před vodní nádrží Nové mlýny. Odběry probíhaly ze silničního mostu mezi Vranovicemi a Pouzdřany.

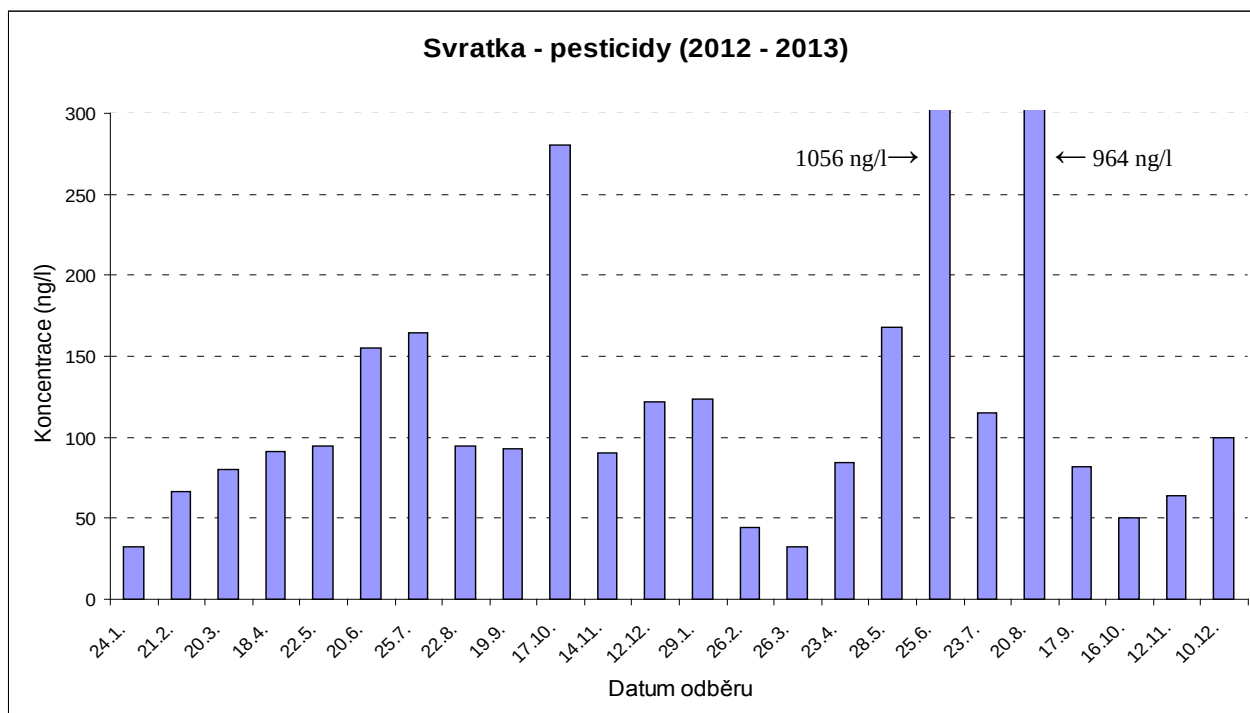
V převážné většině odebraných vzorků byly detekovány pesticidy bentazon, MCPA a tebukonazol, jejichž koncentrace nepřesahovaly 50 ng.l⁻¹. Pouze ve vzorku odebraném 20. 8. 2013 byla prokázána koncentrace MCPA 729 ng.l⁻¹; současně byl v tomto vzorku zjištěn i zvýšený obsah linuronu (191 ng.l⁻¹). Výrazný obsah pesticidů byl stanoven i ve vzorku odebraném 25. 6. 2013, kde koncentrace chloridazonu dosáhla 194 ng.l⁻¹ a lenacilu 480 ng.l⁻¹ [42]. Oba výše zmíněné vzorky byly odebrány uprostřed aplikačního období detekovaných pesticidů.

Přestože již není k ošetření rostlin používán, byl ve všech odebraných vzorcích v koncentracích od 5 do 130 ng.l⁻¹ identifikován diuron. Důvodem by mohlo být jeho použití v nátěrových hmotách k ochraně exteriérového dřeva a omítek. Možné jsou také jeho úniky ze stále kontaminovaných ploch, jako jsou bývalá skladiště agrochemikálií, skládky odpadů a kontaminovaných zemín.

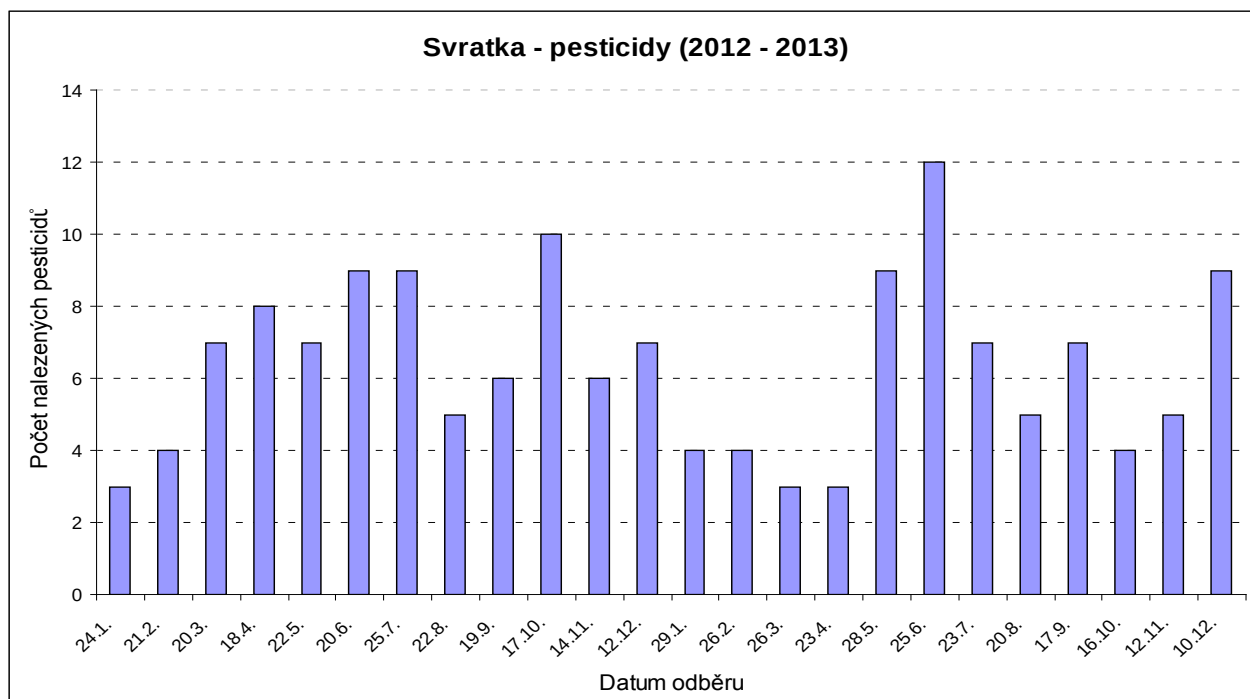
Mezi další často identifikované pesticidy patřily karbendazim, chlortoluron, isoproturon, linuron, MCPP, propikonazol a 2,4-D. Jsou to velmi často aplikované pesticidy, jejichž spotřeba v České republice převyšuje 30 tun ročně [12]. Výjimkou jsou pouze linuron a MCPP, kde spotřeba v posledních letech klesla pod 20 tun ročně [12]. Naměřené koncentrace uvedených pesticidů se pohybovaly do 50 ng.l⁻¹, pouze u linuronu byl nález 191 ng.l⁻¹, jak již bylo zmíněno výše.

Mezi výjimečně nalezené analyty patřila dikamba, dimethachlor, ethofumesát, chloridazon, MCPB, metamitron, nikosulfuron a prochloraz. Všechny tyto účinné látky jsou v České republice aktuálně schválené a používány k ochraně rostlin [36].

Pomocí obrázků 1 a 2 je shrnut celkový obsah sledovaných pesticidů v jednotlivých vzorcích a rovněž celkový počet pesticidů, které byly ve vzorcích zjištěny. Na obou grafech je patrné zvýšení nálezů v období od jara do podzimu a jejich snížení v zimním období. 1054 ng

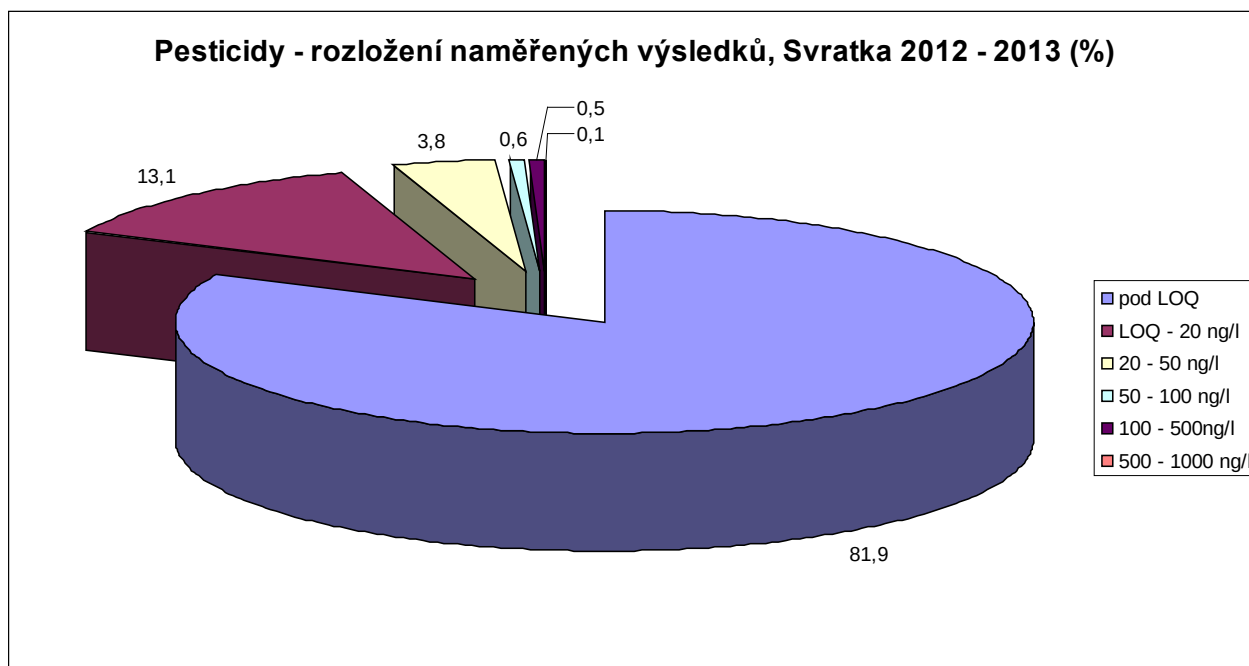


Obrázek 1: Celková koncentrace sledovaných pesticidů nalezených v povrchové vodě z řeky Svratky během období 2012 a 2013 [42]



Obrázek 2: Počet identifikovaných pesticidů ve vzorcích povrchové vody z řeky Svratky [42]

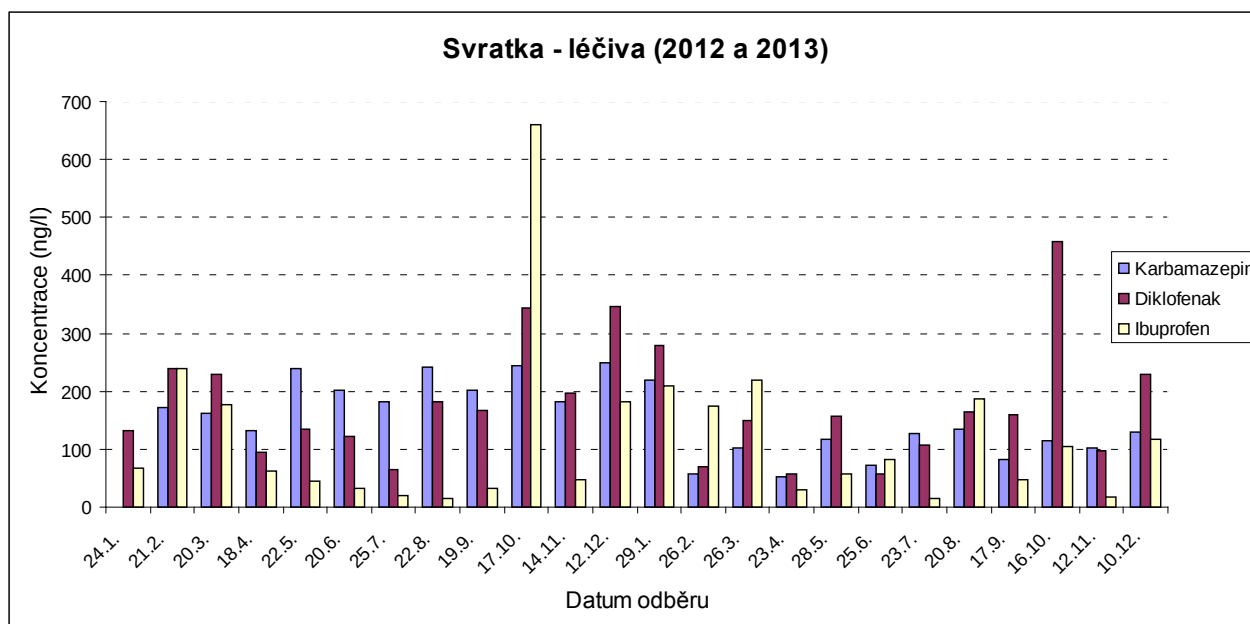
Koncentrační rozložení všech naměřených výsledků vzorků odebraných z řeky Svratky je znázorněno na obrázku 3.



Obrázek 3: Procentuální rozložení naměřených koncentrací pesticidů v povrchové vodě z řeky Svratky [42]

Naměřené koncentrace tří sledovaných léčiv jsou znázorněny na obrázku 4. Pohybují se od několika desítek až po stovky ng.l^{-1} . Při porovnání naměřených výsledků ibuprofenu a diklofenaku s jejich průměrem bylo zjištěno, že v obou letech se v období od dubna do září vyskytují častěji výsledky nižší než průměrné, zatímco v období od října do března je častější výskyt výsledků vyšších než průměrných. Lze tedy usuzovat, že koncentraci těchto léčiv v povrchové vodě může ovlivňovat i probíhající roční období. Vlivem slunečního a teplého počasí je pravděpodobný jejich rychlejší rozklad. Je však také možné, že teplejší a slunnější počasí, stejně jako pracovní odpočinek probíhající v letním období, mohou mít pozitivní vliv na vnímání bolesti, což může vést i k nižší spotřebě uvedených léčiv v tomto období.

Koncentrace karbamazepinu v řece Svratce se od února 2012 do ledna 2013 pohybovaly okolo 200 ng.l^{-1} , v únoru 2013 naměřená koncentrace klesla na $56,4 \text{ ng.l}^{-1}$, dále se naměřené hodnoty pohybovaly kolem 100 ng.l^{-1} s mírně vzrůstající tendencí. Důvody tohoto poklesu mohou být různé. Hlavním zdrojem karbamazepinu v povrchových vodách jsou odpadní vody z domácností pacientů užívajících toto léčivo. Je možné, že část pacientů přešla na jiný druh antiepileptika. To však nepotvrzují data Státního ústavu pro kontrolu léčiv, podle kterých bylo v roce 2013 do lékáren a jiných zařízení dodáno pouze o 4,1 % méně léčiv s obsahem karbamazepinu než v roce 2012 [43].



Obrázek 4: Koncentrace sledovaných léčiv v povrchové vodě z řeky Svratky [42]

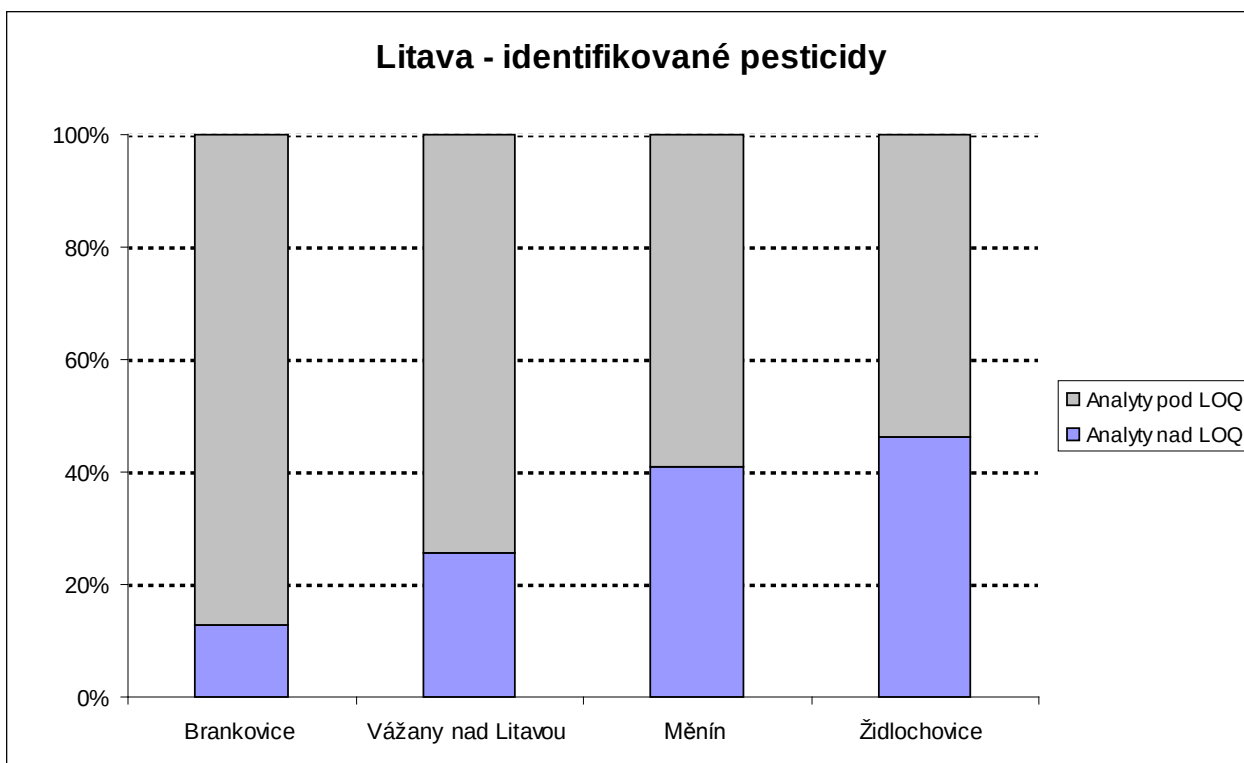
4.2 ŘEKA LITAVA

Řeka Litava pramení na úpatí Chřibů. Protéká otevřenou krajinou mezi loukami a poli, v Židlochovicích se vlévá do řeky Svratky.

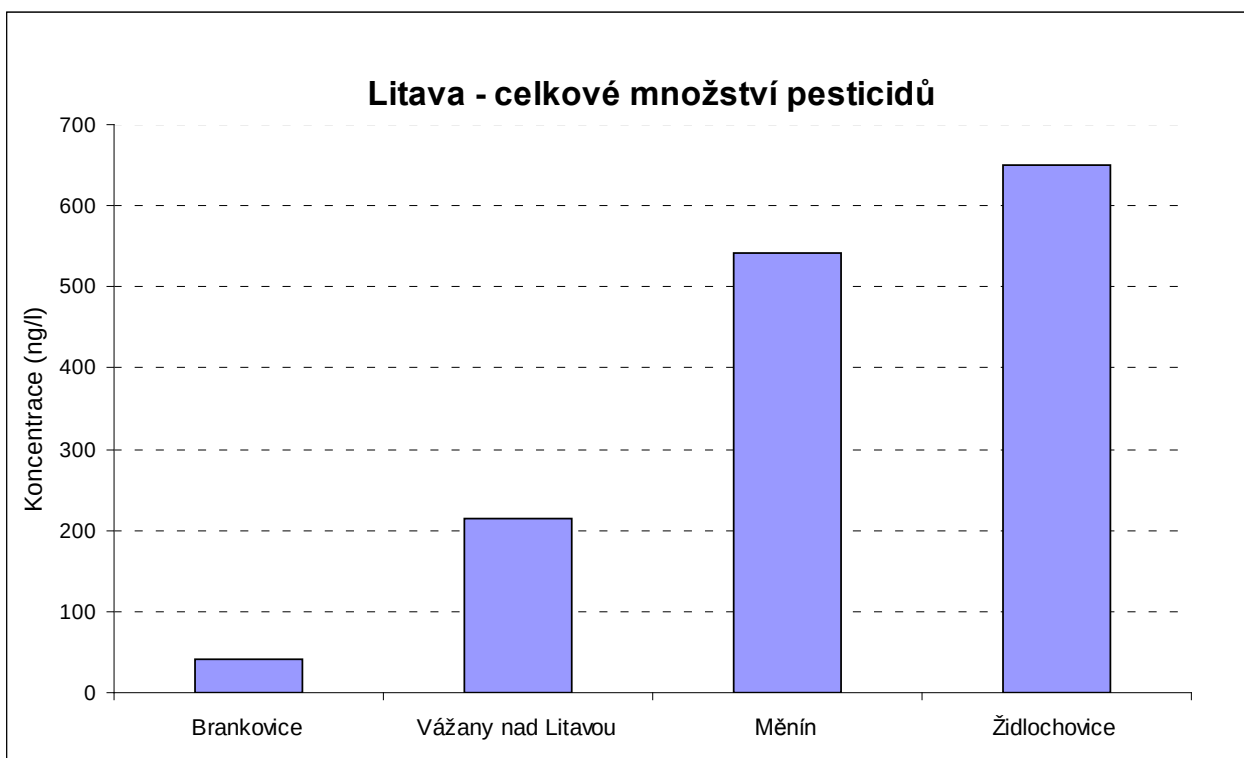
Na řece Litavě byly odebrány vzorky na čtyřech profilech (v Brankovicích, Vážanech nad Litavou, Měnině a Židlochovicích) pokrývajících celý její tok. Všechny vzorky byly odebrány 21.5.2013 během dvouhodinového intervalu.

Ze sledovaných pesticidů byly na všech profilech nalezeny 2,4-D, bentazon a karbendazim; je známo, že 2,4-D a bentazon patří mezi stále používané pesticidní látky. Karbendazim již v současnosti (leden 2015) nemá platnou registraci pro použití na ochranu rostlin. V roce 2013, kdy byla řeka Litava sledována, se dle dat Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského ještě používal, jeho spotřeba v roce 2013 dosáhla 31 tun [12].

Na obrázku č. 5 je znázorněn procentuální poměr pesticidů detekovaných nad mezí stanovitelnosti. Z výsledků je zřejmé jak v Litavě, posunujeme-li se dále po toku, pesticidů přibývá. Na horním toku v Brankovicích se z celkového počtu 41 sledovaných pesticidů 8 (19 %) pohybovalo nad mezí stanovitelnosti, ve vzorku odebraném ve Vážanech nad Litavou bylo již 13 analytů (31 %) nad mezí stanovitelnosti a na dolním toku v Měnině a v Židlochovicích bylo již 19 a 21 analytů (45 a 50 %) nad mezí stanovitelnosti. Na obrázku 6 je vyjádřena celková koncentrace identifikovaných pesticidů na jednotlivých profilech. Na horním toku byla celková koncentrace sledovaných pesticidů $41,4 \text{ ng.l}^{-1}$, ve Vážanech nad Litavou již byla tato hodnota 215 ng.l^{-1} , na dolním toku v Měnině se nálezy celkové koncentrace pesticidů zvýšily až na 542 ng.l^{-1} a v ústí byla již vypočtena celková koncentrace 650 ng.l^{-1} [42].

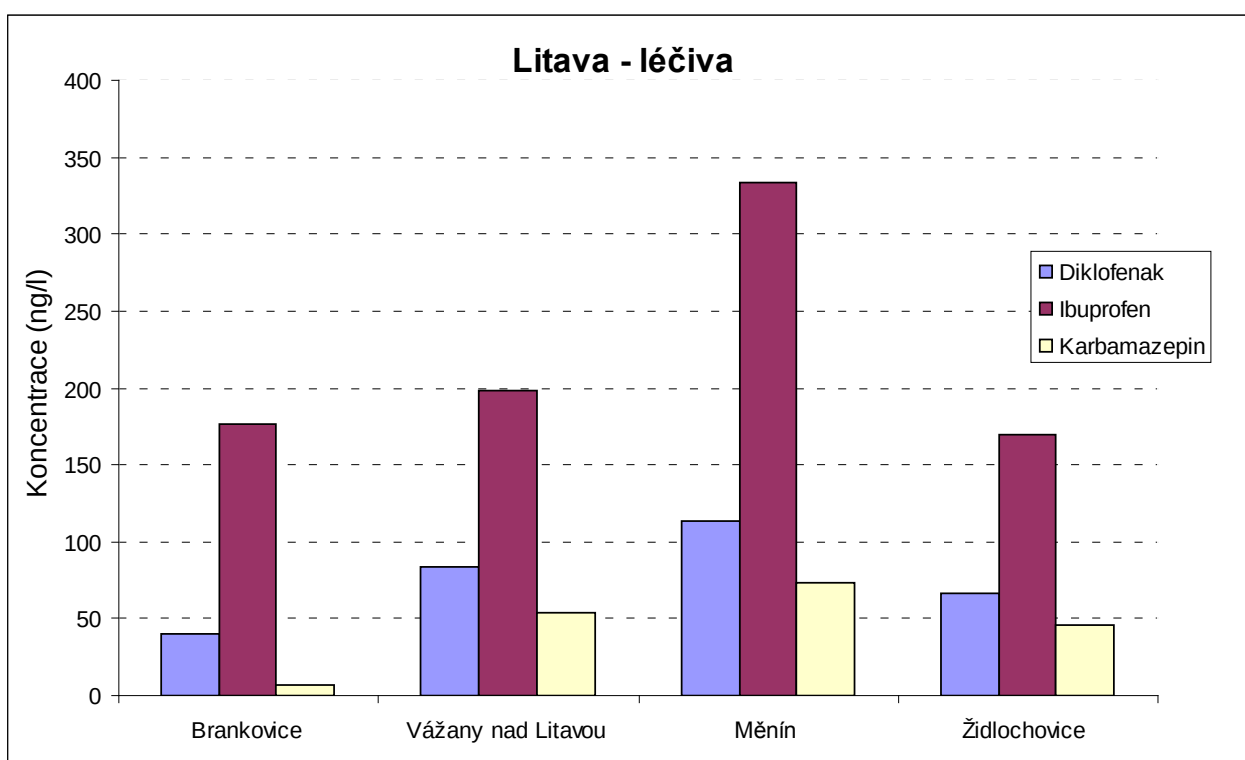


Obrázek 5: Množství nalezených pesticidů ve vorcích povrchové vody z řeky Litavy [42]



Obrázek 6: Celková koncentrace sledovaných pesticidů nalezených v povrchové vodě z řeky Litavy [42]

Na všech čtyřech odběrových lokalitách byla identifikována také sledovaná léčiva. Nejvyšší nálezy byly prokázány u ibuprofenu, jehož koncentrace dosahovaly hodnoty 200 ng.l^{-1} , a to v lokalitách Brankovice a Vážany nad Litavou, v Měnině již byla koncentrace ibuprofenu 334 ng.l^{-1} a v Židlochovicích již jeho koncentrace klesla až na 170 ng.l^{-1} . Pokles koncentrace v Židlochovicích je způsoben pravděpodobně naředěním z přítoků, které se v tomto úseku do Litavy vlévají. Na Říčce, která se do Litavy vlévá těsně za odběrovým profilem v Měnině, byla před ústím do Litavy ve stejnou dobu koncentrace ibuprofenu $36,9 \text{ ng.l}^{-1}$ [42]. Podobný trend na uvedených odběrových lokalitách mají i koncentrace dalších dvou sledovaných léčiv, přičemž maximální koncentrace byly rovněž zjištěny v Měnině.



Obrázek 64: Koncentrace léčiv ve vzorcích povrchové vody z toku řeky Litavy [42]

4.3 POROVNÁNÍ ZÍSKANÝCH DAT S PUBLIKOVANÝMI ÚDAJI

V rámci snahy o zlepšení a udržení kvality povrchových a podzemních vod proběhl v roce 2007 rozsáhlý monitoring zaměřený na sledování polárních perzistentních látek v povrchových vodách. Vzorky vod byly odebrány ze 100 toků ve 27 evropských zemích, sledováno bylo celkem 35 analytů ze skupiny léčiv, pesticidů, hormonů, perfluorovaných organických látek a dalších. Do sledování bylo zahrnuto i 5 českých řek. Naměřené koncentrace vybraných analytů v řece Svratce jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7: Koncentrace vybraných analytů v českých řekách (ng.l⁻¹)[44]

tok	lokalita	bentazon	2,4-D	MCP	ibuprofen	diklofenak	karbamazepin	isoproturon	diuron
Svratka	Židlochovice	7	7	0	25	18	214	6	50

Pro snadnější porovnání jsou v tabulce 8 shrnuty střední, průměrné a maximální koncentrace analytů naměřené v povrchové vodě odebrané z řeky Svratky. Výsledky pod mezí stanovitelnosti byly pro výpočet průměrných hodnot brány jako nulové.

Tabulka 8: Střední, průměrné a maximální koncentrace nalezené v řece Svatce (ng.l⁻¹) [42]

analyt	Koncentrace (ng/l)							
	bentazon	2,4-D	MCP	ibuprofen	diklofenak	karbamazepin	isoproturon	diuron
C _{med}	8,4	<5,0	<5,0	65,5	158	135	<5,0	23,5
C _{prům}	8,2	<5,0	5,8	118	177	153	6,1	38,8
C _{max}	18,5	16,3	42,6	659	459	248	48,8	132

Střední naměřené koncentrace porovnávaných pesticidů v povrchové vodě z řeky Svratky jsou srovnatelné s hodnotami naměřenými v roce 2007 v rámci evropského monitoringu. Z maximálních naměřených koncentrací je zřejmé, že koncentrace těchto pěti pesticidů se v řece Svatce celoročně pohybují na nízké úrovni, výjimkou je pouze diuron, jehož maximální koncentrace během dvouletého cyklu sledování dosáhla 132 ng.l⁻¹. Střední koncentrace je nižší v porovnání s měřením z roku 2007, avšak v celém spektru naměřených koncentrací (tabulka 17 a 18) se vyskytují i hodnoty srovnatelné s údaji z evropského monitoringu z roku 2007. Střední koncentrace posuzovaných léčiv ibuprofenu a diklofenaku jsou výrazně vyšší, než bylo zjištěno během evropského sledování. Koncentrace obou léčiv byla během sledovaného období značně proměnlivá, pro ibuprofen byly v některých měsících naměřeny hodnoty srovnatelné s evropským monitoringem (tabulka 17 a 18). Koncentrace diklofenaku se v řece Svatce po celou dobu sledování pohybovala výrazně výše, minimální naměřené koncentrace se pohybovaly okolo 60 ng.l⁻¹. Mezi oběma měřeními je však výrazný časový rozdíl, a proto může být pravděpodobné, že koncentrace diklofenaku se v povrchových vodách stále zvyšuje. Koncentrace karbamazepinu, zjištěná v rámci evropského monitoringu, je srovnatelná s vyššími naměřenými hodnotami v této práci.

5 ZÁVĚR

Dizertační práce byla zaměřena na získání poznatků o průniku pesticidů a léčiv do vodního prostředí a byla vypracována ve spolupráci se státním podnikem Povodí Moravy, s.p.

Z léčivých přípravků byla pro sledování vybrána často užívaná analgetika ibuprofen a diklofenak a anitiepileptikum karbamazepin. Z látek majících pesticidní účinek byla pozornost zaměřena na skupinu močovin a fenoxycarboxylových kyselin, dále na některé prioritní látky určené směrnicí 2013/39/EU (aklonifen, cybutryn, dichlorvos, chinoxifen, PFOA, PFOS), na vybrané analyty, určené nařízením vlády 23/2011 jako normy environmentální kvality (dimethachlor, epoxykonazol, fenitrothion, fenthion, malathion, parathion methyl, parathion ethyl) a vybrané pesticidy se spotřebou vyšší než 30 tun ročně (chloridazon, ethofumesát, fenpropidin, karbendazim, metamitron, pendimethalin, prochloraz, propikonazol). Celkově bylo pro sledování vybráno 41 pesticidů.

Pro stanovení uvedených analytů byla vybrána metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC/MS/MS). Vybrané pesticidy a léčiva byly stanovovány ve dvou skupinách, 10 analytů při negativní ionizaci a 34 analytů při pozitivní ionizaci. Vzorky pro stanovení obou skupin analytů byly připravovány zvlášť s využitím jednoho druhu SPE kolonek (s fází C_{18}), ale s různými podmínkami extrakce. Na kapalinovém chromatografu byly analyty obou stanovení separovány na koloně Zorbax SB-C18 s velikostí částic $3,5\ \mu\text{m}$ a rozměry $75\ \text{mm} \times 4,6\ \text{mm}$.

Obě používané metody byly validovány. Mezi ověřované validační charakteristiky patřily linearita, mez detekce a mez stanovitelnosti, výtěžnost, opakovatelnost a nejistota stanovení.

Sledované analyty byly zjišťovány ve vzorcích povrchových vod z oblasti povodí řeky Moravy. Konkrétně byly vzorky pro tuto dizertační práci odebírány z toku řeky Moravy, Svatky, Litavy, Blaty a potoka Nivničky. Na řece Moravě a Svatce byly vzorky odebírány na jednom místě s měsíční frekvencí během celého roku 2012 a 2013. Řeka Blata a potok Nivnička byly sledovány na jedné odběrové lokalitě během celého roku 2013, vzorky zde byly odebírány také s měsíční pravidelností. Na řece Litavě byly vzorky odebrány jednorázově ve stejný den na čtyřech různých lokalitách pokrývajících celý tok.

Ve všech vzorcích odebraných z toku řeky Svatky byly prokázány pozitivní nálezy léčiv. Během sledovaného období byla jejich koncentrace značně proměnlivá, a to od jednotek až po stovky ng.l^{-1} . Nejčastěji se vyskytujícími pesticidy byly bentazon, isoproturon, karbendazim, MCPA, MCPP, propikonazol, tebukonazol a 2,4-D. Všechny tyto pesticidy patří mezi v České republice velmi často používané. Naproti tomu diuron již u nás není jako přípravek na ochranu rostlin používán, přesto byl ve všech vzorcích z řeky Svatky identifikován. Důvodem by mohlo být jeho použití v exteriérových nátěrových hmotách k ochraně dřeva a omítek.

Celkem 14 ze sledovaných pesticidů nebylo v žádném z odebraných vzorků stanoveno, jsou to převážně látky, které u nás nejsou na ochranu rostlin používány.

Výjimkou jsou pouze fenpropidin a chinoxifen, které byly podle dat Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského v roce 2013 aplikovány v množství 50 tun (fenpropidin) a 7,5 tuny (chinoxifen).

Na řece Litavě byly v jeden den odebrány postupně po toku čtyři vzorky povrchové vody. Z výsledků jednoznačně vyplývá, jak postupně ve vodě, posunujeme-li se dále po toku, narůstá počet identifikovaných pesticidů. Sledovaná léčiva byla prokázána na všech čtyřech lokalitách.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Hampl, F., Paleček, J.: *Farmakochemie*. 2. vyd. rozšířené. Praha : VŠCHT Praha, 2007. 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [2] Smrčková, Š. a kol. : Humánní léčiva jako polutanty životního prostředí. *Listy CzWA (The Czech Water Association)*. 2010, č. 2, s. I-IV.
- [3] Heberer, T.: Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment : a review of recent research data. *Toxicology Letters*. 2002, vol. 131, is. 1-2, s. 5-17.
- [4] Fuksa, J. K., Svoboda, J., Svobodová, A. : Bolí vás něco? Kolik léčiv od nás přeteče do ČOV? *Vodní hospodářství*. 2010, č. 1, s. 16-19.
- [5] Jørgensen, S. E. , Halling-Sørensen, B.: Drugs in the environment. *Chemosphere*. 2000, vol. 40, is. 7, s. 691-699.
- [6] Ternes, T. A.: Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*. 1998, vol. 32, is. 11, s. 3245-3260.
- [7] Halling-Sørensen, B., et al.: Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment : A Review. *Chemosphere*. 1998, vol. 36, is. 2, s. 357-393
- [8] Glossary of terms relating to pesticides [online]. [cit. 28. 3. 2015]. *Pure Applied Chemistry*. 2006, vol. 78, s. 2075-2154. Dostupný z WWW: <<http://www.iupac.org/publications/pac/2006/pdf/7811x2075.pdf>>.
- [9] International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides [online]. [cit. 21. 6. 2015]. Dostupný z WWW: < <http://www.fao.org/docrep/018/a0220e/a0220e00.pdf> >.
- [10] Nábělková, J., Nekovářová, J.: *Chemie, chemie životního prostředí*. 1. vyd. Praha: Česká technika – nakladatelství ČVUT, 2010. 197 s. IBSN 978-80-01-04534-3.
- [11] Dvořák, J., Smutný, V.: *Herbologie, Integrovaná ochrana proti polním plevelům*. 1.vyd. – dotisk, Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. 186 s. IBSN 978-80-7157-732-4

- [12] Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský [online]. [cit. 21. 6. 2015]. Dostupný z WWW: < <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech/>>.
- [13] Omezení negativních vlivů pesticidů na povrchové a podzemní vody [online]. [cit. 28. 3. 2015]. Dostupný z WWW: < http://eagri.cz/public/web/file/37021/_18_pesticidy.pdf>.
- [14] Arias-Estevéz, M., et al.. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources . *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2008, vol. 123, is. 4, s. 247-260.
- [15] Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon) [cit. 8. 4. 2015]. Dostupný z WWW:< <https://portal.gov.cz/app/zakony/zakon.jsp?page=0&nr=254~2F2001&rpp=15#seznam> >.
- [16] BelmonteVega, A., Garrido Frenich A., Martínez Vidal, J. L.:Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2005, vol. 538, is. 1 - 2. s. 117-127.
- [17] Nogueira, J. M. F., Sandra, T., Sandra, P.:Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography – electrospray mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2004, vol. 505, is. 2, s. 209 – 215.
- [18] Calamari, D., et al.: Strategic survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy. *Environmental Science & Technology*. 2003, vol 37, s. 1241 – 1248.
- [19] Ferrer, I., Zweigenbaum, A. J., Thurman, E. M.: Analysis of 70 Environmental Protection Agency priority pharmaceuticals in water by EPA Method 1694. *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, is. 36, s. 5674 – 5686.
- [20] Marín, J. M., et al.: Quantification and confirmation of anionic, cationic and neutral pesticides and transformation products in water by on-line solid phase extraction – liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2006, vol. 1133, is. 1-2, s. 204 – 214.
- [21] Sinha, S. N., et al.: Quantification of organophosphate insecticides in drinking water in urban areas using lyophilization and high – performance liquid chromatography – electrospray ionization – mass spectrometry techniques. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2011, vol. 300, is.1, s. 12 – 20.

- [22] Sacher, F., et al.: Pharmaceuticals in groundwaters Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany . *Journal of Chromatography A*. 2001, vol. 938, is. 1 - 2, s. 199 - 210.
- [23] Trenholm, R. A., Vanderford, B. J., Snyder, S. A.: On-line solid phase extraction LC-MS/MS analysis of pharmaceutical indicators in water: A green alternative to conventional methods. *Talanta*. 2009, vol. 76, is. 5, s. 1425 – 1432.
- [24] Seitz, W., Schulz, W., Weber, W. H.: Novel applications of highly sensitive liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry for the direct detection of ultra-trace levels of contaminants in water. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2006, vol. 20, is.15, s. 2281 – 2285.
- [25] Díaz, L., Liorca-Pórcel, j., Valor, I.: Ultra trace determination of 31 pesticides in water samples by direct injection – rapid resolution liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2008, vol. 624, is. 1, s. 90 – 96.
- [26] Geerdink, R. b., Niessen, W. M. A., Brinkman, U. A. Th.: Trace – level determination of pesticides in water by means of liquid and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2002, vol. 970, is. 1 - 2, s. 65 – 93.
- [27] Liška, I., Slobodník, j.: Comparison of gas and liquid chromatography for analysing polar pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A*. 1996, vol. 733, is. 1-2, s. 235 – 258.
- [28] Ternes, T. A.: Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples . *Trends in Analytical Chemistry*. 2001, vol. 20, is. 8, s. 419 - 434.
- [29] Janků, J., Čermák, J. jr.: *Vzorkování odpadů : Učební texty* [online]. Praha : [cit. 22. 3. 2015] [cit. 2007-12-05]. Dostupný z WWW:<http://www.vscht.cz/uchop/udalosti/skripta/vzorkovani/Vzorkovani_070104_4.pdf>.
- [30] Malý, J., Hlavínek, P.: *Čištění průmyslových odpadních vod*. 1. vyd. Brno: Noel 2000, 1996. 255 s. ISBN 80-86020-05-3.
- [31] Spížek, J.: Rezistence na antibiotika : Je třeba hledat nové látky a nové postupy. *Vesmír*. 1999, roč. 27, č. 1
- [32] *Extrakce* [online]. [cit. 8. 3. 2015]. Dostupný z WWW: <natur.cuni.cz/~pcoufal/extrakce.pdf>.

- [33] Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J.: *Biologické čištění odpadních vod*. 1. vyd. Praha : SNTL, Nakladatelství technické literatury, 1991. 468 s. ISBN 80-03-00611-2.
- [34] Joss, A., et al.: Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research*. 2005, vol. 39, is. 14, s. 3139-3152.
- [35] Carballa, M., et al.: Influence of ozone pre-treatment on sludge anaerobic digestion: Removal of pharmaceutical and personal care products. *Chemosphere*. 2007, vol. 67, is. 7, s. 1444-1452.
- [36] *Registr přípravků na ochranu rostlin* [online] [cit. 25. 2. 2015]. Dostupný z WWW: < <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1439462547801>>.
- [37] Determination of Pesticides in Water by SPE and LC/MS/MS in Both positive and Negative Ion Modes. Agilent Technologies, Application Note 5989-5320EN, 2006.
- [38] Determination of Pharmaceuticals in Water by SPE and LC/MS/MS in Both Positive and Negative Ion Modes. Agilent Technologies, Application Note 5989-5319EN, 2006.
- [39] Multiresidue Analysis of 301 Pesticides in Food Samples by LC/Triple Quadrupole Mass Spectrometry. Agilent Technologies, Application Note 5989-8614EN, 2008.
- [40] Povodí Moravy, s.p. – Standartní operační postupy k metodám 331 a 332 [cit. 11.2. 2014]
- [41] Povodí Moravy, s.p. – Validační dokumenty k metodám 331 a 332 [cit. 22. 4. 2014]
- [42] Povodí Moravy, s.p. – Provozní monitoring tekoucích vod 2012 a 2013 [cit. 10.3. 2015]
- [43] *Dodávky léčiv v ČR* [online]. [cit. 30. 1. 2015]. Dostupný z WWW: <<http://www.sukl.cz/dodavky-leciv-v-ceske-republice-v-jednotlivych-letech>>.
- [44] *EU wide monitoring survey of polar persistent pollutants in european river waters* [online] [cit. 8. 8. 2015]. Dostupný z WWW: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC48459/48459%20%20new%20correct%20version__eumore_eur_report_loos_28_11_08%20errata%20corrige.pdf>.

7 PROFIL AUTORA

Osobní údaje

Jméno a příjmení, titul: Jitka Burešová, Ing.
Rozená: Trtílková
Datum narození: 5.4.1984
Email: buresova.jit@email.cz

Vzdělání

Od roku 2008 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Typ studia: doktorský
Obor: Chemie životního prostředí
Téma dizertační práce: Využití separačních metod pro studium vybraných léčiv a pesticidů ve vodách

2006 – 2008 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Typ studia: navazující magisterský
Obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Téma diplomové práce: Využití separačních metod pro stanovení vybraných léčiv ve vodách

2003 – 2006 Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
Typ studia: bakalářský
Obor: Technická chemie
Téma bakalářské práce: Stanovení dusičnanů v povrchových vodách

1999 – 2003 SPŠ chemická Brno
Obor: Aplikovaná a analytická chemie

Odborná zkušenost

2011 – 2014 Povodí Moravy, s. p.: Vodohospodářské laboratoře
Vedoucí oddělení stopové organické analýzy
Prováděná stanovení: pesticidy a léčiva, metabolity chloracetanilidů, glyfofát a AMPA

2008 – 2010 Povodí Moravy, s. p.: Vodohospodářské laboratoře
Oddělení stopové organické analýzy
Prováděná stanovení: PAH, chlorované fenoly, nitroaromáty, neionogenní tenzidy

KURZY, SEMINÁŘE, WORKSHOPY

6.3. 2014	Plynová chromatografie od odběru vzorku po úspěšné chromatografické analýzy, seminář pořádaný Linde Gas, Sigma-Aldrich a Shimadzu (Brno)
14.-16.4. 2014	Seminář organické analýzy pořádaný podnikem Povodí Vltavy, s.p. (Býkov)
10.-12.6. 2013	Seminář organické analýzy pořádaný podnikem Povodí Ohře, s.p. (Místo u Kadaně)
14.5. 2013	Vývoj metod na HPLC kolonách Kinetex, seminář firmy Chromservis (Brno)
23.4. 2013	Od přípravy vzorků ke kontrole kvality, seminář firmy Labicom (Brno)
26.3. 2013	Novinky v instrumentaci Agilent Technologies, seminář firmy HPST (Praha)
16.-18.5. 2012	Seminář organické analýzy pořádaný podnikem Povodí Ohře, s.p.(Dubice)
24.4. 2012	Nové trendy v analýze vod, seminář pořádaný firmou Thermo Scientific (Praha)
16.4. 2012	Nové trendy v oblasti přípravy vzorků a měřicí analytické techniky, seminář pořádaný firmou Labicom (Brno)
28.3. 2012	Od odběru vzorku po úspěšné chromatografické analýzy, seminář pořádaný firmou Sigma-Aldrich a Shimadzu (Brno)
31.5. 2011	Kapalinová chromatografie, HPLC kolony a SPE produkty, seminář pořádaný firmou Labicom (Brno)
2.-5.5. 2011	Seminář organické analýzy pořádaný podnikem Povodí Vltavy, s.p. (Zdislavice)
19.4. 2011	Příprava vzorků v analýze potravin a životním prostředím, seminář pořádaný firmou HPST (Brno)
25.3. 2011	Jak získat nejlepší výsledky na kolonách s pevným jádrem, seminář pořádaný firmou Chromservis (Brno)
16.2. 2011	Plynová chromatografie, seminář pořádaný firmou Chromservis (Brno)
2.2. 2011	Široký výběr analytických instrumentů, seminář pořádaný firmou HPST (Brno)
31.1. 2011	Validační data analytické metody – výpočty v programu Excel, seminář pořádaný Českou chromatografickou školou (Praha)
2.12. 2010	Pesticidy v povrchových vodách, seminář pořádaný Výzkumným ústavem vodohospodářským T.G. Masaryka (Praha)
23.11. 2010	VIZE 2010, seminář pořádaný firmou Waters (Brno)
17.3. 2010	SPE Method development, seminář pořádaný firmou Chromservis (Brno)

23.2. 2010	Automatizace při úpravě vzorků, možnosti zrychlení a zefektivnění analýzy, seminář pořádaný firmou Labicom (Brno)
17.2. 2010	LC/MS Nové technologie Agilent Technologies, seminář firmy HPST (Brno)
25.-27.1. 2010	Seminář organické analýzy pořádaný podnikem Povodí Vltavy, s.p. (Zadov)
10.11. 2009	VIZE 2009, seminář pořádaný firmou Waters (Brno)
9.4. 2009	Nové trendy v chromatografii - snižování provozních nákladů a zátěže životního prostředí, seminář pořádaný firmou Sigma-Aldrich a Shimadzu (Brno)
2.2. 2009	HPLC a UPLC, teorie a praxe, seminář pořádaný firmou Proximalis (Brno)
29.9.-1.10. 2008	Seminář organické analýzy pořádaný Povodím Vltavy, s.p. (Filipova Huť)
10.4. 2008	Příprava vzorků a jejich chromatografická analýza, seminář pořádaný firmou Sigma-Aldrich a Shimadzu (Brno)

KONFERENCE

16.-20.9. 2013	Škola hmotnostní spektrometrie – Od základů k „omikám“ (Priessnitzovy léčebné lázně, Jeseník)
16.9. 2009	Hydroanalytika 2009, konference pořádaná firmou Cslab (Hradec Králové)

PŘÍSPĚVKY NA SEMINÁŘÍCH

Seminář organické analýzy 2014	Stanovení metabolitů chloracetanilidů metodou LC/MS/MS
Seminář organické analýzy 2013	Techniky předúpravy vzorků používané ve VHL Povodí Moravy, s.p.
Seminář organické analýzy 2012	Stanovení pesticidů a léčiv metodou LC/MS/MS
Seminář organické analýzy 2008	Využití separačních metod pro stanovení vybraných léčiv ve vodách.

PUBLIKAČNÍ ČINNOST

BUREŠOVÁ, J.; VÁVROVÁ, M. Stanovení ibuprofenu a diklofenaku v povrchových vodách metodou LC-MS-MS. *Chemické listy*, 2015. (v recenzním řízení)