

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ
ÚSTAV OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

STANOVENÍ TRIAZINOVÝCH
HERBICIDŮ VE VODÁCH
BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2009

Jana Vendlová

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ
ÚSTAV OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

STANOVENÍ TRIAZINOVÝCH
HERBICIDŮ VE VODÁCH
BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Jana Vendlová

VEDOUCÍ PRÁCE: doc. Ing. Jaromíra Chýlková CSc.

2009

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Ústav ochrany životního prostředí
Akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana VENDLOVÁ**
Studijní program: **B2802 Chemie a technická chemie**
Studijní obor: **Chemie a technická chemie**

Název tématu: **Stanovení triazinových herbicidů ve vodách**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši o používání triazinových herbicidů v zemědělství a o jejich působení v životním prostředí.
2. Zpracujte dosud užívané extrakční techniky herbicidů ze vzorků vod a kriticky je zhodnoťte.
3. Doporučte vhodnou analytickou metodu pro stanovení triazinových herbicidů.

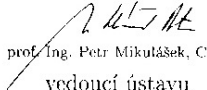
Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Jaromíra Chýlková, CSc.**
Ústav ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **1. dubna 2009**
Termín odevzdání bakalářské práce: **26. června 2009**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
vedoucí ústavu

V Pardubicích dne 1. dubna 2009

Prohlašuji:

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

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Jana Vendlová

ANOTACE

Práce je věnována stanovení triazinových herbicidů ve vodách a jejich rozdělení. Zabývá se různými extrakčními metodami pro vlastní stanovení triazinových herbicidů a jejich porovnáním. Věnuje se často používané analytické separační metodě plynové chromatografii spojené s hmotnostním spektrometrem.

KLÍČOVÁ SLOVA

pesticidy, triazinové herbicidy, extrakce na pevnou fázi, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Poděkování

Děkuji vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Jaromíře Chýlkové CSc. za vedení a vstřícný přístup, který mi v průběhu psaní tohoto díla poskytovala.

Můj dík patří také mé rodině, přátelům a známým, kteří mi, aniž by to mnohdy tušili, svojí vstřícností a tolerancí vytvořili skvělé podmínky nejen pro psaní této bakalářské práce, ale i po celou dobu mého studia na Univerzitě Pardubice.

OBSAH

ÚVOD.....	7
1.Dělení pesticidů.....	8
1.1. Účinky pesticidních látek na složky biosféry.....	9
1.2.Degradace pesticidů.....	10
2.Nejvýznamnější skupina pesticidů–herbicidy.....	12
2.1.Historie použití herbicidů.....	12
2.2.Rozdělení herbicidů.....	12
2.3. Faktory ovlivňující pohyb herbicidů v prostředí.....	15
3. Herbicidy triazinového typu.....	17
3.1. Popis vybraných triazinů, sledovaných ve vodách.....	19
4. Extrakční techniky pro stanovení herbicidů ze vzorků vod.....	26
4.1. Extrakce na tuhou fázi (Solid Phase Extraction - SPE).....	26
4.2. Extrakce Kapalina – kapalina.....	34
4.3. Porovnání extrakčních metod.....	36
5. Analytické metody pro stanovení triazinových herbicidů.....	37
5.1. Plynová chromatografie.....	37
ZÁVĚR.....	47

ÚVOD

Od počátku civilizace se člověk neustále snažil zlepšovat své životní podmínky. Jeho úsilí opatřit si dostatečné zásoby potravy se však stavějí do cesty různí škůdci a choroby napadající úrodu¹.

Snaha bojovat proti škůdcům, kteří brzdí růst zemědělské produkce, tj. proti hmyzu a plevelům, není nová.

Síra jako prostředek k potírání chorob kulturních rostlin a k zapuzování hmyzu byla známa už před rokem 1000 př. n. l. Homér se zmiňuje o použití oxidu siřičitého formou fumigantu¹. Číňané později ošetřovali obiloviny a semena dalších rostlin před skladováním sodou a olivovým olejem a pro ochranu plodin během vegetace používali preparáty obsahující arsen².

Třicátá léta 20. století jsou skutečným počátkem moderní éry syntetických organických pesticidů. Mezi nejznámější lze zahrnout insekticidy na bázi alkylthiokyanátů(1930), fungicid salicylanilid (1931) a dithiokarbamátové fungicidy (1934)¹.

Skutečně masově se začaly organické pesticidy v zemědělství používat až po 2. světové válce, tedy zhruba od 50. let minulého století. V současné době je ve světě registrováno obrovské množství látek s pesticidními účinky³. Přesto se bez nich se neobejdeme. V zemědělství by docházelo k poklesu výnosu kulturních plodin. Ne všechny pesticidy jsou nebezpečné pro zdraví člověka a životní prostředí. Přesto musí být jejich používání monitorováno a při případném úniku do prostředí se analyzují.

LITERÁRNÍ ČÁST

1. Dělení pesticidů

Pesticidy jsou chemikálie anorganického nebo organického typu, sloužící k potlačování rostlinných a živočišných škůdců, které ohrožují zemědělské, zahradní a lesní rostliny, zásoby potravin, zemědělské produkty a průmyslové materiály – textil, kůže, dřevo, užitečná zvířata nebo i samotného člověka⁴.

Převážná část vyráběných pesticidů se aplikuje v zemědělské výrobě jako přípravky na ochranu rostlin.

Pesticidy se nejčastěji dělí podle použití proti škodlivým činitelům. Nejdůležitějšími a nejrozšířenějšími skupinami jsou insekticidy, fungicidy a herbicidy. Ostatní skupiny jsou akaricidy (proti roztočům), nematocidy (proti háďátkům), molluskocidy (proti měkkýšům) a rodenticidy (proti hlodavcům). Insekticidy jsou určeny proti hmyzu, který působí na zemědělské plodiny. Pomocí fungicidů bojujeme proti škodlivým parazitickým houbám.

Pesticidy lze také dělit podle způsobu jejich působení na ošetřovaný organismus. Jde o kontaktně působící pesticidy, kdy účinná látka neproniká např. do rostlinné tkáně a zůstává na povrchu ošetřených částí rostlin. Hubí hmyz, houby nebo plevele pouze na místech zasažených postřikem. Jejich nevýhodou je, že účinek přirozeně závisí na povětrnostních vlivech (větru, dešti, sluneční záření), a že v případě herbicidů totálně nezničí zasaženou rostlinu a v případě fungicidů a insekticidů samozřejmě nechrání přírůstky rostlin.

Vhodnější aplikační vlastnosti mají systémové pesticidy. Pronikají do buněk a jsou rozváděny cévním systémem. Systémové insekticidy chrání rostliny bezpečněji, protože jejich účinnost není ovlivňována povětrnostními poměry, je však spojená s nebezpečím fyto toxického vlivu na rostliny¹.

Jednotlivé skupiny pesticidů vykazují široké spektrum fyzikálně - chemických vlastností, které přímo či nepřímo podmiňují výskyt detekovaných reziduí v zemědělských plodinách, produktech živočišné výroby. Z fyzikálních parametrů je v tomto kontextu významná **rozpuštnost ve vodě**, která je jednou z klíčových charakteristik pesticidů určujících jejich distribuci a stabilitu v jednotlivých složkách životního prostředí i ve vlastní rostlině. Dále pak **rozdělovací koeficient n-oktanol** –

voda (K_{OW}) indikující afinitu k lipidům, *disociační konstanta* K_C , jež indikuje schopnost reziduí pesticidů disociovat za běžných environmentálních podmínek (hodnoty pH bývají v rozmezí 5-8), *půdní adsorpční koeficient* (K_{OC}) vyjadřující afinitu rezidua k organické složce půdních částic, resp. indikuje schopnost jeho sorpce a *tlak nasycených par* naznačující těkavost. Z chemických vlastností je důležitý zejména údaj o stabilitě vůči hydrolýze a oxidaci. Důležitou vlastností ve vztahu k degradaci v životním prostředí je náchylnost k fotolýze (fotolabilita)².

1.1. Účinky pesticidních látek na složky biosféry

Účinku pesticidních látek jsou vystaveny všechny složky biosféry – vzduch, půda, voda, ale i rostliny a živočichové.

VODA

Pesticidy, které byly použity na velkých plochách, mohou být prudšími dešti splaveny do toků řek, rybníků a oceánů. Ke znečištění odpadních vod může docházet při úniku užívaných pesticidů. Při průniku z plošně chemicky ošetřovaných pozemků se mohou pesticidy stát zdrojem znečištění podzemních vod. Pesticidy patří mezi časté kontaminanty podzemních vod.

VZDUCH

Rozprášené pesticidy, které nedosáhnou rychle povrchu země nebo hladiny vody, mohou být větrem unášeny ve velkých množstvích do značné vzdálenosti.

ZEMĚ

Průnik pesticidů v půdě je zpravidla minimální, ale záplavy je mohou odplavit do velkých vzdáleností a způsobit např. otravy ryb. Pesticidy jsou aplikovány skoro na celé ploše orné půdy⁵.

K negativním jevům pesticidů obecně platí, že většina z pesticidů není úzce specifická, ale usmrcuje či intoxikuje širší spektrum živočichů, jejich zásah je nesespecifický – kromě „škůdce“ hubí i ostatní organismy, zejména edafon (po několika letech může dojít až ke kolapsu půdní úrodnosti). Narušují zoogenofond v naší krajině a přímo ohrožují fytozenofond.

V půdě zůstávají dlouhodobě jejich zbytky (rezidua) a začleňují se do potravních řetězců a hromadí se v mnohých organismech. Narušují funkci hormonů v těle různých živočichů včetně člověka. Obdobně jako v organismech vznikají při koloběhu pesticidů

v přírodě rozkladné produkty, které mohou být jedovatější než původní látka. Dlouhodobé používání vedlo v řadě případů ke vzniku odolnosti (rezistenci) hmyzu.

Jsou nebezpečné pro lidské zdraví (např. riziko vzniku rakoviny, poruchy reprodukce). Zvýšené hladiny chlorovaných pesticidů v biomase vyvolávají u predátorů změny psychiky, které mohou vyústit až ke kanibalismu vlastních mláďat. Snižování rozmnožovacího potenciálu zasažených organismů (u některých druhů ptáků dochází k poruchám reprodukčního cyklu, k opožděné ovulaci, k poruchám v kladení vajec, ztenčení skořápky vajec – jejich rozmačkání pod samicí apod.).

Použití insekticidů vede k likvidaci některých skupin opylovačů, a tak ke sterilitě jedinců a rozpadu populací na nich závislých rostlinných taxonů. Kumulace v organismech vede k poškození živočichů stojících výše v potravní pyramidě (ptáci, člověk,...); nebezpečí pesticidů tkví také v tom, že mnohé fyziologické poruchy se nemusí dlouho projevit a teprve po překročení určité hranice koncentrace reziduí biocidů prudce vzroste mizení druhů zejména ukončujících potravní řetězce (např. dravců)⁵.

Nežádka se skrytý vliv pesticidů projeví až v kritických situacích, např. po delším hladovění, při náhlé změně diety, při dlouhotrvajícím deštivém počasí apod., kdy pak dochází k hromadným úhynům. Koncentrace biocidů úměrně stoupá s postavením druhu v potravním řetězci, takže nejvíce jsou ohroženi dravci, příp. mrchožrouti, živící se uhynulými živočichy.

Každý prostředek má ochrannou lhůtu, po kterou se nesmí používat jako krmivo, ovšem volně žijící živočichové ošetřené rostliny konzumují a jsou tedy jeho vlivům bezprostředně vystaveni⁵.

V posledním desetiletích do oběhu živin pronikají čím dál tím více i produkty z průmyslového hospodaření, tedy všemožné jedy. Je jen otázkou, za jak dlouho se mi sami setkáme s potravinou či vodou kontaminovanou reziduí pesticidů.

1.2. Degradace pesticidů

- ***V abiotickém prostředí***

Z fyzikálních činitelů uplatňujících se při degradaci pesticidů jsou nejvýznamnější světlo a teplo. Zejména fotolýza reziduí probíhající na povrchu listů, půdy, v atmosféře či ve vodním prostředí je pro řadu z nich jeden z nejvýznamnějších procesů vedoucích k eliminaci z prostředí. Důležitou roli spolu se singletovým kyslíkem hrají reaktivní

hydroxylové, superoxidové a další volné radikály vznikající při fotochemických reakcích².

Významnou reakcí, které pesticidy v prostředí podléhají je hydrolýza, která je zvláště rychlá při extrémních hodnotách pH.

- ***V biotickém prostředí***

Pokud jde o biologické činitele, jsou to především mikroorganismy (různé druhy bakterií, plísní a aktinomycet), které se podílejí na degradaci pesticidů v půdě a ve vodném prostředí. V zásadě lze rozlišit dva druhy degradativních dějů:

- **Kometabolismus**, kdy se biotransformace pesticidu odehrává běžnými metabolickými ději probíhajícími v mikrobiální buňce.
- **Katabolismus**, kdy se pesticid pro daný mikroorganismus stává ve skutečnosti substrátem, resp. zdrojem uhlíku či dusíku².

Biodegradace pesticidů ovšem probíhá i v exponovaných rostlinách a živočiších, ať již v cílových či necílových. Vznikající produkty se tak mohou nacházet i v potravním řetězci člověka. Zejména obratlovci, a z nich především ptáci a savci, disponují aktivními enzymovými systémy schopnými xenobiotika účinně degradovat.

K aktivaci ochranných mechanismů dochází při průniku dané škodliviny do organismu. Rychlost penetrace škodlivin a jejich distribuce v organismu, stejně jako rozsah detoxikačních či eliminačních mechanismů, jsou ovšem podmíněny anatomickými, fyziologickými, biochemickými a dalšími faktory.

Počáteční biotransformační fáze zahrnuje změny katalyzované hydrolázami a oxidásami, při kterých jsou do molekuly mateřské sloučeniny nově zavedeny polární funkční skupiny nebo štěpením části původní molekuly takovéto skupiny vzniknou.

Vznikající primární metabolity často dále vstupují do sekundárních reakcí, kde dochází k jejich konjugaci s malými polárními endogenními molekulami za vzniku produktů, které lze snadno z organismu vyloučit. Typ vznikajících sekundárních metabolitů je charakteristický pro jednotlivé druhy organismů.

U živočichů jsou vznikající metabolity transportovány v krevním řečišti a posléze exkretovány. U rostlin jsou tyto odpadní produkty zřejmě ukládány do ligninových struktur².

2. Nejvýznamnější skupina pesticidů – herbicidy

V této práci je zaměřena pozornost na herbicidy. Herbicidy se používají proti plevelům, tj. nižším rostlinám, které se vyskytují v porostech všech kulturních rostlin. Některé se uplatňují jako totální herbicidy k hubení plevelů na nezemědělských objektech. Ve speciálních případech slouží některé herbicidy k desikaci nebo defoliaci, což je chemicky vyvolané zasychání zelených částí rostlin (např. bramborové natě) nebo jejich odlistění (např. bavlníku před sklizní)².

2.1. Historie požití herbicidů

Potřeba hubení plevelů – nežádoucích rostlin v porostech kulturních plodin, provázela lidstvo od prvního osetí pozemku. Potlačení, případně likvidace plevelných rostlin prošla dlouhým vývojem. Na počátku se využívalo ruční práce, později potahu zvířat, mechanizace a vývoj dospěl i k používání chemických látek – herbicidů. První pokusy s chemickými látkami na orné půdě byly zaznamenány již v roce 1896, kdy byla použita modrá skalice, následně Raphanit (dusičnan měďnatý), chlorid měďnatý, dusíkaté vápno apod. Od roku 1945 se začaly používat MCPA (kyselina 2-methyl-4-chlorofenoxyoctová), TCA (kyselina trichloroctová) a následovně neuron, simazin, diuron, silvex apod.

V dalších letech následovalo použití dalších účinných látek ze skupiny sulfonylmočovin. Dále se také objevila celá řada látek z nových skupin jako např. florasulam, cinidol-ethyl, laktofen atd. Nutné je si uvědomit, že nároky na nové herbicidy z pohledu přísných ekotoxikologických hledisek vývoj nových přípravků neustále ekonomicky zatěžují. Proto počet nových účinných látek postupně klesá. Naproti tomu dochází k rozmachu výroby již vyvinutých herbicidů. Tyto přípravky jsou ekonomicky dostupnější pro zemědělce ve srovnání s nově zaváděnými přípravky⁶.

2.2. Rozdělení herbicidů

Herbicidy se rozdělují dle *mechanismu účinku*, kdy dojde k blokaci některého z životně důležitých biochemických pochodů v plevelné rostlině. Znalost biochemické aktivity herbicidu je významná především z hlediska selekce odolných druhů a

rezistence v plevelných společenstvech při dlouhodobém používání přípravků se stejným mechanismem účinku.

V současné době používané klasifikace WSSA a HRAC člení mechanismy účinku do 28 resp. 22 skupin, z nichž převážná část u nás používaných přípravků patří do následujících skupin: **Syntetické auxiny** představují velmi početnou skupinu herbicidů tzv. regulátorů růstu, jejichž účinné látky vyvolávají nadměrný růst, projevující se deformacemi listů a stonku a vyčerpáním rostliny. Účinné látky jsou na bázi karboxylových kyseliny (např. MCPA, MCPP, 2,4 D, dicamba aj.). **Inhibitory syntézy aminokyselin** zahrnují především herbicidy ze skupiny sulfonylmočoviny a dále triazolopyrimidinů, imidazolinů a některých dalších. Účinek se projevuje blokací syntézy esenciálních aminokyselin, nezbytných ke stavbě rostlinného těla, zastavením růstu a pozvolným úhynem. **Inhibitory fotosyntézy** narušují fotosyntézu. Skupina zahrnuje triazinové herbicidy, fenyl-karbamáty a substituované močoviny. Ve fotosystému narušují transport elektronů. **Inhibitory buněčného dělení** jsou převážně půdní herbicidy působící na klíčení plevelu. Nejrozšířenější je skupina chloracetamidů a karbamátů. **Inhibitory biosyntézy karotenoidů** narušují tvorbu rostlinných barviv, zejména chlorofylu. Účinek se projevuje vybělením listů a postupným odumřením rostliny. Mezi nejčastěji používanými látkami s tímto mechanismem patří diflufenican, clomazone a isoxaflutol. **Inhibitory acetyl – CoA - karboxylázy** jsou především graminicidní přípravky ze skupiny aryloxyfenoxi-propionátů a cyklohexandionů⁶.

Dle *rozsahu působení* se herbicidy rozdělují na **selektivní herbicidy**, jimiž jsou při vhodném použití ničeny určité druhy plevelů nebo jejich biologické skupiny (např. dvouděložné rostliny), aniž je poškozena kulturní rostlina, v jejímž porostu byl herbicid aplikován. Účinek herbicidu je umožněn některými kvalitativními rozdíly mezi určitou kulturní rostlinou a určitým plevelem, ať již jde o odlišný tvar a postavení listů, jejich ochlupení, či krytí voskovou vrstvou nebo způsob uložení vegetačního vrcholu. Dále na **neselektivní herbicidy**, které slouží k ničení veškeré vegetace. Používají se např. k hubení plevelů v meziporostním období, desikaci porostů před sklizní, udržování černého úhoru v ovocných výsadbách apod⁶.

Podle *účinku* lze herbicidy rozdělit na **dotykové herbicidy (kontaktní)**, které poškozují nebo zcela ničí pouze tu část rostliny, která jimi byla zasažena. Účinná látka není rozváděna v těle rostliny a hubí se jimi pouze vzešlé plevelu. Používají se především v době, kdy plevelu vytvořily pouze 2-6 pravých listů a plodiny netvoří

příliš hustý zápoj. Mechanismus kontaktních herbicidů spočívá zejména ve srážení bílkovin (působí jako plazmatické jedy) a v dehydrataci pletiv. **Translokační neboli systémově působící herbicidy** pronikají do rostliny a jsou rozváděny do jejích částí. Translokace se může dít floémem (z listů do podzemních částí) nebo xylémem (z kořenů do nadzemních částí rostliny). Tyto herbicidy mohou ničit i vytrvalé plevele. Zasažené citlivé rostliny mají porušenou výměnu látkovou, zpomalují růst nadzemních i podzemních částí a postupně hynou. **Herbicidy sterilizující půdu** tj. zbavující půdu plevelů, jsou přípravky, které umrtvují rozmnožovací orgány plevelů v půdě⁶.

Dle *způsobu příjmu rostlinou* je rozlišována **listová aplikace**, která vyžaduje ošetření rostlin během jejich vegetace. Patří sem dotykové herbicidy a systematické herbicidy translokované floémem. Při **kořenové aplikaci** se přípravek aplikuje na půdu a herbicidní látka je přijímána kořeny (látka se šíří xylémem). V literatuře bývají herbicidy ke kořenové aplikaci někdy označovány jako půdní sterilizátory.

Podle *doby aplikace* herbicidu se rozlišují na **předset'ová aplikace**, kdy se herbicidem ošetří připravená nebo i nepřipravená půda před setím nebo sázením plodin. Jde o poměrně málo rozšířený způsob, který se používá např. u půdních herbicidů, které jsou na světle nestabilní nebo špatně pronikají hlouběji ke klíčovým semenům plevelů. Prosto se po aplikaci zapravují např. kypřičem nebo bránami mělce do půdy. **Preemergentní aplikace** je prováděna v období po zasetí plodiny, avšak ještě před jejím vzejitím. Jde buď o kontaktní preemergentní aplikaci, která se provádí po vzejití plevelů a nebo o reziduální preemergentní aplikaci, která se provádí před vzejitím plevelů. **Postemergentní aplikace** se naopak provádí až po vzejití plodiny. Podle typu použitého herbicidu je přesný termín aplikace zpravidla vymezen růstovou fází plodiny a plevelů. Předností postemergentních aplikací je možnost rozhodnutí se pro provedení zásahu a výběru účinných látek až podle skutečného zaplevelení. Při ojedinělém a nerovnoměrném výskytu plevelů není na pozemku při postemergentní aplikaci nutno ošetřovat celou plochu, ale lze provést pouze ohniskovou aplikaci. Rozvoj výpočetní a telekomunikační techniky přispěl v posledních letech k vývoji automatizovaných systémů pro ohniskovou aplikaci. Zaplevelení v jednotlivých částech pozemku je buď snímáno přímo při jízdě postřikovače kamerou a on-line vyhodnocováno informačním systémem, který vypočítá předpokládanou ztrátu na výnosu a stanoví optimální dávku přípravku pro příslušné místo, nebo je dávkování přípravku prováděno s využitím geografického informačního systému (GIS), který vytvoří mapu zaplevelení pozemku a

řídí aplikační techniku podle její polohy udané družicovým globálním pozičním systémem (GPS). Postemergentní aplikace může být provedena buď **klasickým** způsobem, kdy herbicid je použit jednorázově v optimální fázi růstu plevelů i zemědělské plodiny nebo se realizuje tzv. **dělenou aplikací** v případě, kdy plevele mají různou vzcháživost v průběhu vegetace a aplikace herbicidů musí být provedena v takové fázi růstu plevelu, aby byla co nejúčinnější. Některé plevele vzchází během celého vegetačního roku a jedna aplikace na ně celkově nepůsobí, protože zasáhne pouze plevele vzešlé, avšak semena v půdní zásobě nejsou potlačena. Proto se v praxi někdy využívá tzv. dělených dávek herbicidů. To znamená, že se dávka herbicidu rozdělí na několik dávek nebo se použije více herbicidů na určité plevele, které postupně rostou. Příkladem jsou tzv. Betanal systémy používané v cukrové řepě⁶.

2.3. Faktory ovlivňující pohyb herbicidů v prostředí

Důležitým parametrem při aplikaci herbicidů je **teplota vzduchu**. Jejich účinek se zvyšuje s rostoucí teplotou. Při teplotách nad 22 °C dochází k „popálení“ i kulturních rostlin. Při vyšších teplotách dochází u vytrvalých plevelů také k rychlejšímu odumírání nadzemní hmoty. V řadě případů fytotoxicitu zvyšují i nízké teploty, proto je vhodné respektovat vlastnosti jednotlivých skupin herbicidů.

Kvalitu aplikace ovlivňuje bezprostředně i **rychlost větru**. Za silnějšího větru dochází k únosu postřikové jichy. To se projevuje nepravidelným účinkem nebo poškozením okolních rostlin. Při větru tedy není možné aplikovat pesticidy až na výjimky především při použití speciálních postřikovačů s úměrným postřikem, tzv. twin systém⁶.

Důležitou roli hraje i **vlhkost půdy**. Herbicidy v suché půdě z pravidla neúčinkují, naopak ve vlhčí půdě jejich aktivita stoupá. V suché půdě se poločas rozpadu velmi významně prodlužuje, ve vlhké půdě naopak klesá. To souvisí s mikrobiální aktivitou. Účinek herbicidů je závislý i na **půdním druhu**. V písčítých, lehkých půdách s malou sorpční kapacitou se herbicid velmi snadno pohybuje v půdním profilu, hrozí jeho vyplavování do podzemních vod. Herbicid se projevuje vyšší fytotoxicitou vůči plodinám. V takových půdách se aplikují pesticidy v nižších dávkách. Naproti tomu v půdách těžkých, jílovitých s vysokou sorpční kapacitou se vážou herbicidy velmi silně. Zde nehrozí nebezpečí jejich vyplavování do podzemních vod. Dávky herbicidů se tedy volí v horním rozpětí povoleného množství. Velmi aktivně ovlivňuje účinek herbicidů

také obsah humusu v půdě. Půdy s vysokým obsahem humusu poutají značné množství účinné látky herbicidů⁶.

Rovněž **dešťové srážky** ovlivňují působení herbicidů. Menší množství srážek má spíše nepříznivý efekt. Naopak u preemergentních aplikací napomohou k dokonalému rozptýlení herbicidů v povrchové vrstvě půdy. U postemergentních aplikací umožňují dokonalé pokrytí listů herbicidem, rozvádí herbicid do listových pochev nebo paždí listů nebo umožní lepší příjem do listových pletiv. Je dokonce zaznamenán vyšší účinek herbicidů po jejich aplikaci po mírných srážkách. Naproti tomu při prudkých deštích dochází k proplavení půdních herbicidů do spodních vrstev ornice, kde neovlivní klíčící plevely. U postemergentních herbicidů dochází ke splavování účinné látky z rostlin. Doporučuje se neprovádět aplikaci herbicidů před deštěm nebo při dešti.

Při aplikaci herbicidů se projevuje i **vliv rosy**. Jsou-li rozstříkovány na podzim při nízkých teplotách, dochází k pomalému příjmu plevelnými rostlinami. Při tvorbě rosy potom dochází k opětovnému rozpuštění herbicidů a jeho stékání z listů, což může významně snížit celkový účinek herbicidu.

Intenzita světla ovlivňuje účinek herbicidů působících na fotosyntézu. Bývá spojována i s teplotou vzduchu, která je doprovodným jevem slunečního záření. Avšak i za doporučených teplot vzduchu při vysoké intenzitě slunečního záření dochází k poměrně značným projevům fytotoxicity na kulturních rostlinách. Herbicidy ovlivňující fotosyntézu ve tmě nepůsobí poškození rostlin. V polních podmínkách při silně zataženém podnebí klesá účinek herbicidů.

Účinek herbicidů závisí i na **růstové fázi plevelů**. Je velmi důležité aplikovat herbicidy v termínu, kdy jsou plevelné rostliny nejcitlivější. U jednoletých plevelů platí, že menší rostlina je citlivější než vyvinutá rostlina, která po aplikaci herbicidu snadněji regeneruje. Situace je složitější u vytrvalých plevelů. Je vhodnější aplikovat herbicidy na vyvinutější rostliny, které vytvořily dostatečnou listovou plochu, na které ulpí potřebné množství účinné látky herbicidu, která je následně translokována do podzemních orgánů⁶.

3. *Herbicide triazinového typu*

Z hlediska nežádoucích vlivů pesticidu na životní prostředí je důležitější otázka jeho perzistence, případně počtu aplikací během roku než přímé toxicity. Rychlost degradace v přírodě závisí na mnoha faktorech. Základní je stabilita molekuly účinné látky. Z vnějších podmínek je degradace ovlivněna především pH půdy. Pesticidy se obecně rozkládají v půdě o vyšší biologické aktivitě. To znamená, že zapracováním organické hmoty do půdy se podpoří tyto ozdravné procesy. Bylo prokázáno, že pokud se do půdy dostávají tytéž látky dlouhodobě, zvyšuje se schopnost půdy je rozkládat. Na druhé straně při vysokých dávkách pesticidu může biologická aktivita výrazně klesnout a rozklad se dlouhodobě zastaví. Tento jev nastává při bodovém znečištění⁶.

Pesticidy z půdy zdánlivě mizí také v důsledku vazby na jílové minerály. Tímto způsobem jsou jen dočasně inaktivovány, neboť z těchto vazeb mohou být postupně uvolňovány.

Nejznámější látky s velkou perzistencí, které z tohoto důvodu mají nepříznivé ekologické dopady jsou triaziny.

Triaziny jsou antimetabolity pyrimidinových bází jako součásti nukleových kyselin a kyseliny listové. Triazinové sloučeniny působí jako inhibitory fotosyntézy. Většina z nich přerušuje fotosystém II ve fotosyntéze, kdy se využívá chlorofyl k přeměně krátkých vlnových délek světla (fotony) v energii pro rostlinné buňky. Bez fotosyntézy II rostliny nejsou schopné produkovat jakoukoliv energii pro svůj růst. Citlivé rostliny, speciálně klíčivá semínka, zežloutnou a uhynou. Triaziny jsou aplikovány ve formě soli a adsorbovány kořeny rostliny. Nicméně, ne všechny rostliny jsou citlivé na triazinové herbicide. Rostliny jako je kukuřice a cukrová třtina obsahují enzymy, které rychle změň herbicid na prakticky netoxickou formu. Účinnost triazinů závisí na jejich relativní rychlosti napadení a narušení rostliny⁷.

Triaziny mají nízkou akutní toxicitu pro savce. Simazin a atrazin mají u krys hodnotu LD₅₀ 3000 mg/kg/den. Většina sloučenin v této skupině má také vysokou LD₅₀ hodnotu. LD₅₀ 182 až 334 mg/kg u krys indikuje, že to jsou mírně toxické látky. Typickými symptomy akutní otravy triaziny jsou podráždění kůže a očí, zvedání žaludku a zvracení, průjemy, svalová slabost, slintání. Projev akutní otravy nemusí poukazovat na atrazin, simazin, propazin či cyanazin. Přesto akutní a kožní vyrážka,

jenž byla zaznamenána v dřívější SSSR, poukazuje na kontakt se simazinem. Symptomy jsou zarudnutí tváří, které vydrží 5 dní⁷.

Pro zjištění chronické toxicity triazinů byl po dobu 2 let podáván krysám atrazin, simazin a propazin. Výsledky ukázaly netoxikologický efekt, ani zřejmé nebo mikroskopické znaky toxicity.

Triaziny jsou nepatrně toxické pro ptactvo. Orální LC₅₀ hodnota pro divoké kachny je v rozsahu od $\geq 19,650$ mg/kg atrazinu do $\geq 10,0$ mg/kg propazinu. Dietní hodnota propazinu LC₅₀ 8000 ppm je stejná pro křepelku i bažanta.

Rozsah toxicity pro ryby je poněkud rozsáhlý a závisí na složce a druhu triazinu. Většina triazinů spadá do kategorie mírně nebo nepatrně toxické, vycházející z hodnoty LC₅₀ pro duhové pstruhy a vodní bezobratlovce. Nicméně, některé látky obsahující desmetryn jsou pro ryby toxické. Triaziny nejsou toxické pro včely⁷.

Triaziny mají sklon rychle se degradovat v různých půdách a neadsorbovat se v částech půdy. Proto triaziny se mohou vyluhovávat skrz půdu a stopy těchto kontaminantů mohou být nalezeny ve spodní vodě. Protože je používáno velké množství herbicidu, atrazin a simazin mohou být nalezeny ve studniční vodě a ve vodovodním systému.

Některé triaziny jako atrazin, cyanazin, propazin a simazin jsou relativně ve vodě stabilní. Rozpustnost se snižuje se zvyšujícím se pH. Při pH 5 60 % propazinu zůstává nehydrolyzováno, při pH 9 zůstává nehydrolyzováno 100 % propazinu⁷.

Když jsou triaziny aplikovány do půdy, rostliny je adsorbují skrz kořeny a mohou být transportovány po celé rostlině.

Vážným rizikem pesticidů na bázi triazinů je velmi nízká biodegradabilita a dlouhodobé přetrvávání ve vodním prostředí (hlavně v podzemních vodách), stejně jako možnost vzniku nitrosaminů z reziduí triazinů. Atrazin má xenoestrogenní účinky

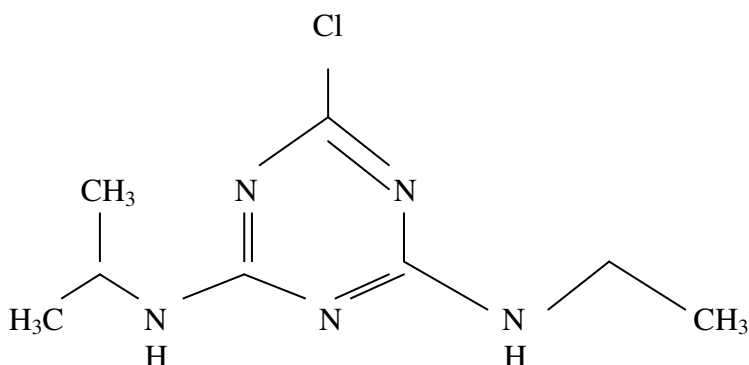
Z výše uvedených důvodů je v některých zemích používání triazinových herbicidů zakázáno (např. v Německu), v jiných zemích se jejich používání silně omezuje⁶.

Následně zařazují triazinové herbicidy, jež se nejvíce stanovují, neboť jsou častými kontaminanty podzemních vod a jiných vodních zdrojů.

3.1. Popis vybraných triazinů, sledovaných ve vodách

Atrazin

Vzorec: $C_8H_{14}ClN_5$



Obrázek 1. Struktura atrazinu

Atrazin patří do základního spektra triazinových herbicidů. Je to syntetická látka vyrábějící se ve formě granulí, též jako kapalina. Aplikovat se může samostatně nebo v kombinaci s dalšími pesticidy. Při nižších koncentracích je poměrně selektivní, při vyšších koncentracích však funguje jako totální herbicid. Je to bezbarvá látka s bodem tání 175 – 177 °C a hustotou při 20 °C 1,187 g/cm³. Jeho rozpustnost ve vodě při 20 °C je 30 mg/l⁸.

Atrazin sloužil jako herbicid účinný na dvouděložné plevely, působí jako inhibitor fotosyntézy. Používal se v zemědělství (kukuřice, cukrová třtina, sója), v lesnictví i ve vodních ekosystémech. Aplikoval se na rostliny ve formě ve vodě dispergovatelného mikrogranulátu nebo suspenzního koncentrátu. Atrazin je rozpustnější ve vodě a je přijímán nejen kořeny, nýbrž i listy, a proto je jeho účinnost méně závislá na počasí. S výhodou se používá v suchších oblastech⁹. Atrazin a jeho deriváty se také používají v dalších průmyslových procesech, včetně výroby barviv a výbušnin.

Primárním vstupem atrazinu do prostředí bylo jeho rozprašování na zemědělské plodiny a následný splach z polí. V České republice není evidován žádný podnik vyrábějící atrazin, není ani registrován žádný přípravek s jeho obsahem, nicméně stále může docházet k sekundárním únikům z kontaminovaných míst (bývalá skladiště agrochemikálií, skládky odpadů a kontaminovaných zemin), kde může být atrazin

přítomen z doby, kdy byl používán, neboť je již od 1.srpna 2005 zakázán používat na základě rozhodnutí Evropské komise 2004/248/EC¹⁰.

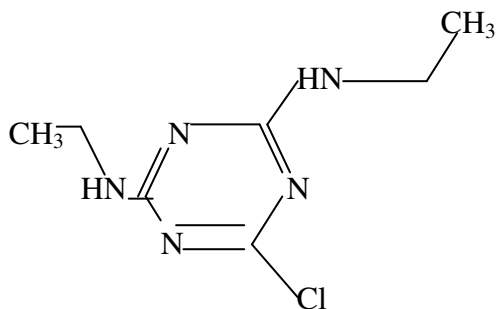
Atrazin v půdě může pomalu vstupovat do rostlin, pomalu se rozkládat, odpařovat nebo se vyplavovat do povrchové nebo podzemní vody. Ve vodách se vyskytuje rozpuštěný nebo sorbovaný na nerozpuštěných látkách minerální nebo organické povahy. V kyselých vodách se pomalu rozkládá pomocí hydrolýzy a N-dealkylace (poločas rozpadu je při pH 5 20 °C přibližně 12 týdnů). V neutrálních a zásaditých vodách je rozklad zanedbatelný (poločas rozkladu 2 roky a více). Atrazin se ve vzduchu může rozkládat reakcemi s chemickými látkami přítomnými v ovzduší nebo se sorbovat na částičky prachu a sedimentovat. Atrazin má středně toxický potenciál pro vodní prostředí, je toxický např. pro některé řasy. Atrazin poškozují hormonální systém u některých obojživelníků, může ovlivnit reprodukci a vývoj již při malých dávkách. Narušuje přirozený vývoj populací půdních organismů. Neakumuluje se v tělech organismů. Atrazin nelze jednoznačně zařadit mezi perzistentní látky, avšak poločas rozpadu 2 roky v neutrálním prostředí spíše hovoří pro jeho zařazení do této skupiny⁸.

K expozici atrazinem dochází prakticky pouze u pracovníků zacházejících přímo s atrazinem nebo konzumací kontaminované podzemní vody. Kontaminace potravin není významná. Atrazin se snadno vstřebává do trávicího traktu (žaludek, střeva), mohou jej rychle adsorbovat plíce a také neporušená kůže. Hlavní metabolickou transformací je N-dealkylace a konjugace s glutathionem. Atrazin patří mezi herbicidy pro člověka málo toxické. Po akutní expozici dochází k podráždění kůže, očí, bolestech na prsou, nevolnosti a zvracení. Může také vyvolat alergické reakce. O působení atrazinu na lidské zdraví není příliš informací, u laboratorních zvířat působí toxicky na svalový a nervový systém, játra, ledviny a srdce, zapříčiňuje poruchy motoriky, koordinace, respirační úzkost a podchlazení⁸.

Experti se dohadují, zda je atrazin rakovinotvorný či nikoliv. Nicméně se ukázalo, že Sygenta (firma vyrábějící atrazin) sledovala případy rakoviny prostaty u pracovníků, jejichž práce se dotýká výroby a přípravy pesticidů. Zjištěné počty případů jsou trojnásobné v porovnání s regionálním průměrem ve zkoumaných oblastech¹⁰. IARC (International Agency for Research on Cancer – mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny) řadí atrazin mezi možné lidské karcinogeny s omezenou evidencí u laboratorních zvířat¹⁰.

Simazin

Vzorec: C₇H₁₂ClN₅



Obrázek 2. Struktura simazinu

Simazin je bílá krystalická látka s teplotou tání 226 °C. Je rozpustný ve vodě (5 mg/l), dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech. Je nehořlavý a nekorosivní. Za normální teploty je stálý vůči zředěným alkáliím a minerálním kyselinám. Teprve za zvýšené teploty nebo při vyšší koncentraci kyseliny probíhá výměna chloru v poloze 2 za hydroxylovou skupinu⁹. Simazin byl poprvé registrován v roce 1957. V letech 1990 – 93 se v USA ročně spotřebovalo přibližně 2 miliony kilogramu čistého simazinu, přičemž se jedná o 20. nejvíce používaný herbicid v USA. Pro posílení účinku se simazin často kombinuje s jinými herbicidy¹⁰.

Simazin patří do skupiny selektivních triazinových herbicidů. Působí přes kořenový systém rostlin, především klíčících. Používá se ho proto jako preemergentního selektivního herbicidu hlavně při ošetření zeleniny, bobulovitých a ozdobných plodin, sadů, vinic a dalších, kdy hubí nejrůznější druhy nežádoucího plevelu a travin. Na zelené části rostlin kontaktně nepůsobí, neboť množství simazinu přijaté listy je bezvýznamné a není s to vyvolat herbicidní účinek. Simazin se někdy také používá ve větším množství jako neselektivní herbicid pro plošné hubení plevelů a to zejména na nezemědělské půdě. Ještě před rokem 1992 byl simazin používán k hubení submerzních (rostoucí ve vodě) plevelů a řas ve velkých akváriích, rybnících, plaveckých bazénech nebo třeba v chladících věžích. Platnost registrace přípravku skončila a je povoleno používat ho do vypotřebování zásob¹⁰.

V České republice se simazin nevyrábí a jeho spotřeba je nízká. Použití je povoleno jen do vyčerpání zásob. Dostává se do prostředí při aplikaci jako herbicidu. Zdrojem

úniku může být i veškerá manipulace s herbicidními přípravky. Splachem z ošetřovaných či kontaminovaných prostor se může dostat do vod. Rizikové mohou být bývalé nebo současné sklady agrochemikálií či manipulační prostory a skládky odpadů, které mohou být simazinem kontaminované.

Simazin je středně perzistentní, v půdě přetrvává 28 – 149 dní. Zbytková herbicidní aktivita může v půdě zůstat ještě i rok po aplikaci. Podle dosavadních zkušeností je účinnost simazinu velmi ovlivněna druhem půdy. Na částice půdy se váže středně až slabě, schopnost adsorpce se však zvyšuje s přítomností jílových částic a organického uhlíku. Mobilita se zvyšuje se snižujícím se pH. Přestože je slabě vázán, jeho mobilita je limitována nízkou rozpustností, a tím se snižuje potenciál pro vyluhování do podzemních vod. Proto zůstává převážně ve svrchních 5 cm půdy a neproniká hlouběji do oblasti kořenů rostlin, které nejsou tolerantní vůči simazinu. V extrémně propustných půdách (písečných náplavách) může však být splaven i do hlubších zón. Při vyšším pH je nejdůležitějším rozkladným procesem mikrobiální degradace, za nižšího pH dochází k hydrolyze. Účinek simazinu je též ovlivněn obsahem humusu v půdě; čím vyšší je jeho obsah, tím více je zmenšována jak počáteční, tak reziduální účinnost. Může se rozkládat za přispění UV záření, ale efekt této reakce je za normálních podmínek malý. Rovněž ztráta simazinu odpařováním je nevýznamná. V ovzduší se může rozkládat reakcí s fotochemicky vzniklými hydroxylovými radikály⁸.

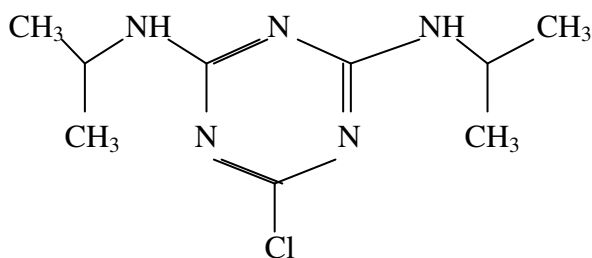
Velmi málo se akumuluje v tělech vodních organismů. Je prakticky netoxický pro ptáky. Toxicita ve vodních ekosystémech není příliš prozkoumána, vzhledem k podobnosti struktury se však předpokládá analogická toxicita jako u atrazinu (středně toxický potenciál pro vodní prostředí). Obecně platí, že vodní rostliny jsou více ohrožené než živočichové. Savci nejsou simazinem příliš ohroženi (myši a krysy: $LC_{50} \geq 5000$ mg/kg). Existují však druhy na simazin citlivé, z hospodářských zvířat jsou to např. ovce a hovězí dobytek⁸.

Účinky simazinu na lidské zdraví nejsou příliš prozkoumány. Nejsou známy žádné případy otravy lidí požitím simazinu. Profesionální expozice mohou vyvolávat vyrážky a dermatitidy. Triazinové herbicidy obecně narušují procesy přeměny energie v těle. Příznaky u lidí zahrnují třes, křeče, obtíže při chůzi, paralýzu, cyanózu, zpomalené dýchání, abnormální kontrakce zornice, bolesti střev a poruchy funkce nadledvinek. Chronická expozice simazinu může u zvířat vyvolávat třes, poškození varlat, jater, ledvin, štítné žlázy a poruchy tvorby spermií. Pravděpodobně není teratogenní.

S ohledem na nedostatek informací není možné rozhodnout, zda je nebo není karcinogenní⁸.

Propazin

Vzorec: C₉H₁₆ClN₅



Obrázek 3. Struktura propazinu

Propazin je bezbarvá krystalická pevná látka. Její bod tání je při 212 – 214 °C, hustota při 20 °C je 1,162 g/cm³. Je stabilní v neutrálním, mírně kyselém nebo zásaditém prostředí, ale bývá hydrolyzován silnějšími kyselinami a zásadami. Je nehořlavý a nekorodující za běžných podmínek, ale může hořet, jestliže je vystaven teplu nebo ohni. Termický rozklad může produkovat toxické oxidy uhlíku a dusíku a toxické páry chlóru.

Propazin je herbicid pro ničení široolistého plevelu a jednoleté trávy. Je aplikován jako sprej v době sadby nebo bezprostředně po výsadbě, ale dříve než vzejde plevel. Je také používán jako selektivní herbicid na mrkev, celer a fenykl. Propazin je používán ve formě vodního roztoku¹¹.

Propazin není tak silně adsorbován na půdní částice jako jiné triaziny. Ve většině půd je vázán na půdní částice velmi slabě a v závislosti na teplotě, vlhkosti a pH půdy se může uvolnit. Jeho pohyb půdní vláhou je limitován částečnou adsorpcí na půdní částice, stejně jako jeho nízkou rozpustností ve vodě. Jistá studie zjistila, že propazin může být propustný v písčité půdě, jílu a v jílovitých půdách a velmi propustný v jílovitém písku. Propazin je perzistentní, mírně propustný ve většině půd. Je odolný vůči narušení hydrolýzou, fotolýzou nebo biodegradací. Proto je propazin jeden z pesticidů, který má velký potenciál se vyplavovat do podzemních vod. Vyplavování propazinu je velmi pravděpodobné tam, kde je zavlažování nebo vysoké dešťové srážky.

Značná část propazinu může být rozložena půdními mikroorganismy. Některé z nich využívají propazin jako zdroj energie nebo dusíku. Fotolýza a odpařování nejsou důležitými faktory při rozkladu propazinu. Poločas rozpadu je 135 dní¹¹.

Propazin je především adsorbován kořeny rostlin. Po adsorpci se přesouvá nebo transportuje vzhůru do rostliny, kde se hromadí v rostoucím výhonku a listech rostliny.

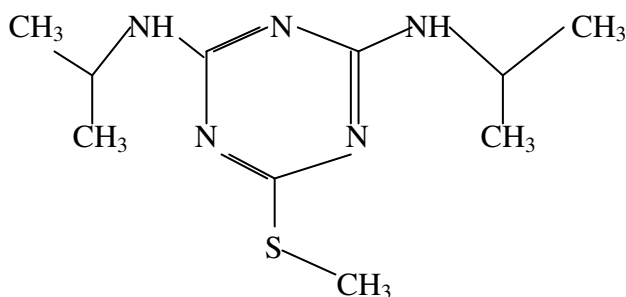
Propazin je mírně toxický pro chladomilné ryby, není toxický pro ptáky.

Propazin je klasifikován jako středně toxický herbicid. Mezi pracovníky, jež vyrábí propazin, byla zaznamenána kontaktní dermatitida. Avšak nebyl zaznamenán žádný případ otravy při požití propazinu.

Triaziny, do nichž propazin patří, mohou narušovat metabolismus některých vitamínů B; thiaminu B1 a riboflavinu B2. Mohou se také kumulovat v tuku lidí a zvířat. Propazin je snadno adsorbován a metabolizován v těle. 72 hodin po podání dávky propazinu krysám, bylo 66 % dávky vyloučeno močí, 23 % výkaly. Tzn., že 66 % dávky se střebává do krevního řečiště z trávicího traktu. 8 dní po podání dávky potkanovi, propazin a jeho metabolity byly nalezeny v plicích, slezině, srdci, ledvině a mozku¹¹.

Prometryn

Vzorec: C₁₀H₁₉N₅S



Obrázek 4. Struktura prometrynu

Prometryn je bílá krystalická pevná látka. Jeho bod tání je 118 – 120 °C, hustota je 1,157 g/cm³. Je stabilní v neutrálním, mírně kyselém nebo mírně zásaditém prostředí, ale je hydrolyzován v silně kyselém prostředí. Prometryn je nekorodující za normálních podmínek. Je stabilní za běžných teplot a tlaku, neschopný vznítit, ale může hořet, pokud je vystaven teplu nebo ohni. Termickým rozkladem mohou vznikat toxické

oxidy uhlíku, dusíku a síry. Prometryn je používán ve formě smáčivého prášku anebo jako kapalina.

Prometryn je selektivní herbicid, který ničí jednoleté trávy a širokolistý plevel v bavlně a celeru. Inhibuje fotosyntézu. Snadno se váže v půdách s vysokým obsahem jílu a organické hmoty. V těchto půdách se hůře vyplavuje do podzemních vod. Dostupné údaje naznačují, že prometryn se lépe vyplavuje z písčítých a písčitohlinitých půd. Jeho vyplavování je závislé na organickém složení půdy; čím nižší je organické složení půdy, tím více se prometryn vyplavuje. Prometryn se adsorbuje ve větší míře než ostatní triaziny¹¹.

Důležitá je také činnost půdních mikroorganismů při rozkládání prometrynu v půdě. Některé půdní mikroorganismy mohou využívat tento pesticid jako zdroj energie, dusíku a síry.

Prometryn přetrvává v půdě 1 – 3 měsíce. Jeho poločas rozpadu je 60 dní. Po několikanásobné roční aplikaci herbicidu, prometryn může přetrvávat až 12 - 18 měsíců od poslední aplikace. Za sucha i studených podmínek, jenž nejsou příznivé pro chemické nebo biologické aktivity, to může být i déle.

Prometryn se nesmí aplikovat přímo do vody nebo mokřadů a močálů. Voda může být kontaminována při nevhodném čištění zařízení nebo odstraňování odpadů související s tímto herbicidem. Nebyly nalezeny žádné změny nebo poruchy ve vodě, kde byl nalezen prometryn po dobu 28 dní při pH 5 –9 a různých teplotách.

Prometryn je vstřebáván zelenými částmi rostlin i kořeny. Z kořenů se přesouvá do listů rostlin, hromadí se ve výhoncích rostlin. Herbicid proniká do rostlin rychle, deštěm se částečně smývá z listů. Postemergentní ošetření prometrynem musí být opatrné, aby nedošlo k poškození kulturních rostlin¹¹.

Prometryn je mírně až středně toxický pro člověka. Je škodlivý při požití, u zaměstnanců, jenž se dostanou do styku s prometrynem, může vyvolat bolesti v krku a zvracení. Je třeba se vyvarovat kontaktu herbicidu s očima a pokožkou, stejně tak vdechování jeho prachu. Prometryn se dobře vstřebává do střev savců a pravděpodobně i přes kůži¹¹.

4. Extrakční techniky pro stanovení herbicidů ze vzorků vod

Extrakce je separační (dělicí) proces, při kterém jsou v kontaktu dvě vzájemně nemísitelné fáze. Látky (analyty) se rozdělují mezi tyto fáze na základě různé rozpustnosti (rozdílných rozdělovacích koeficientů) v použitých rozpouštědlech. Čím větší je rozdíl mezi rozdělovacími koeficienty látek, tím dokonalejší je jejich oddělení. Přechod částice z tuhé fáze do roztoku nebo z jedné kapalné fáze do druhé je způsoben interakcí molekul rozpouštědla s molekulami rozpouštěné látky¹².

Cílem extrakce je selektivní až specifické oddělení analytu od ostatních složek nebo naopak oddělení rušících látek od analytu.

4.1. Extrakce na tuhou fázi (Solid phase extraction SPE)

SPE je jednostupňová metoda rozdělení analytu mezi dvě nemísitelné fáze, z nichž jedna je tuhá. Do tuhé fáze přechází analyt z plynné nebo kapalné fáze. Interakce analytu s tuhou fází musí být silnější než s fází kapalnou, ve které je analyt rozpuštěn.

Organické molekuly se selektivně zadržují na pevné fázi (sorbentu), která je umístěna ve formě sloupce nebo membrány v krátké kolonce¹³.

SPE je efektivní metoda pro přípravu vzorků a v dnešní době je využívána v polovině případech z celé chromatografie. Používá se v široké škále stanovení, ať už se jedná o analýzy životního prostředí, farmaceutické či biochemické analýzy, ale i v organické chemii a v potravinářství.

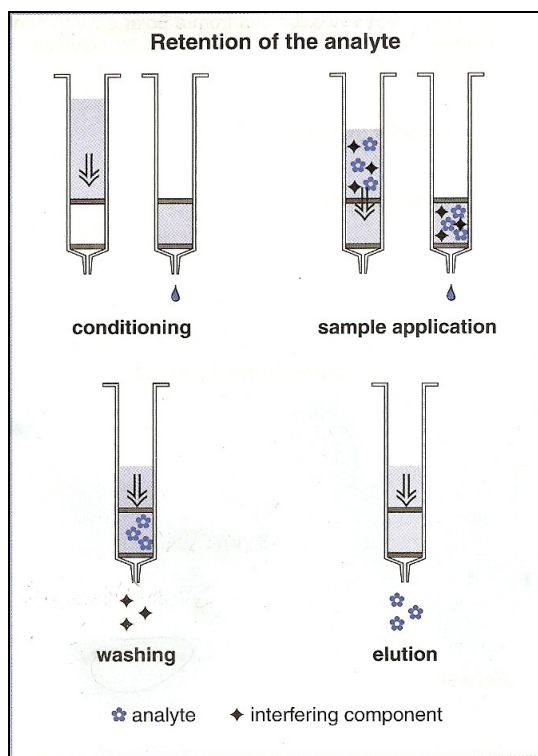
Výhody ve srovnání s klasickou extrakční metodou kapalina – kapalina je nízká spotřeba rozpouštědla, úspora času a případná automatizace. Dodatečně, užitím SPE bývá vyřešena speciální příprava vzorků. Potom jsou přijatelné rozdílné interakce analytu s pevnou fází (sorbentem) a metody mohou být přizpůsobeny již daným chromatografickým metodám. SPE nabízí velké množství adsorbentů pro polární, hydrofóbní a iontové interakce, zatímco extrakce kapalina – kapalina je limitována rozdělením rovnováhy v kapalné fázi.

Hlavním cílem SPE je odstranění rušivých složek z matrice, selektivní zakoncentrování a izolace analytů. Zakoncentrování (např. z velkých objemů) může zvýšit detekční limity 100-5000x. Tento krok je nezbytný pro dosažení limitu detekce u důležitých analytů pro kvantitativní a kvalitativní analýzu, tj. bez zakoncentrování není možné dosáhnout spolehlivé úrovně stopové analýzy¹⁴.

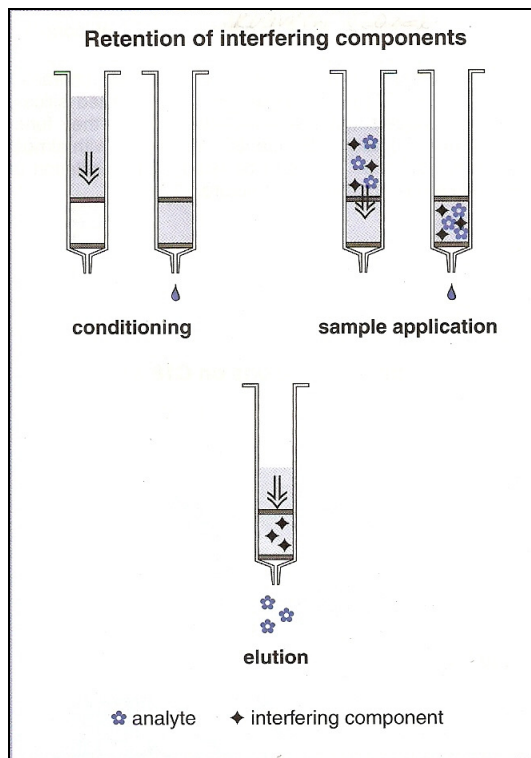
Obecně tedy SPE lze použít u současných analýz v těchto čtyřech důležitých případech: *Selektivní extrakce* je záchyt (zakoncentrování) analytů, ostatní složky matrice prochází sorbentem bez zadržky, následuje eluce zachycených analytů. *Selektivní eluce* je záchyt analytů i ostatních složek matrice v sorbentu, eluce pouze analytů. *Selektivní promývání* představuje záchyt analytů i ostatních složek matrice, následně jsou vymývány interferující složky, eluce pouze analytů. Při *odstranění matrice* jsou zachyceny interferenční látky, analyt prochází bez zadržky¹⁵.

Důležité jsou dva hlavní kroky separační metody. První je ukázán na obrázku číslo 5 dole. Vzorek je protlačen skrz pevnou fázi kolonky a molekuly analytu jsou zadržovány v sorbentu. Rušivé složky a molekuly rozpouštědla (matrice) nejsou zadržovány. Pak jsou zbylé rušivé složky vymývány z adsorbentu vhodným vodným rozpouštědlem.

V některých případech jinak rušivé složky mohou zůstat v adsorbentu. Silně naadsorbované rušivé látky představují další možnost pro předčištění u obtížných matric, jako je odpadní olej nebo kal. Jestliže se ukáže, že analyty nereagují s adsorbentem a pokud jsou zadržovány pouze rušivé složky, pak pevná fáze může být použita jako jednoduchý „filtr“ vzorku, jako je ukázáno na obrázku číslo 6 dole.



Obrázek 5. Zadržování analytu



Obrázek 6. Zadržování rušivých složek

Důvodem provedení shora uvedeného indikuje, že optimální SPE představuje nízkou chromatografickou separaci. Jestliže v chromatografii složky putují v rozpouštědle v popředí nebo pokud jsou složky naadsorbovány v popředí kolony, není možná účinná chromatografie použitím jednoho eluentu, to se nazývá digitální chromatografie.

Naadsorbované substance mohou být odstraněny z adsorbentu postupným zvyšováním eluční síly eluentu.

Nicméně, tato metoda může být efektně využita pro přerozdělování složek ze skupiny anebo jednoho analytu z matrice. Metoda je používána jako clean – up u SPE¹⁴.

SPE kolonky

Tělo SPE kolonky tvoří injekční stříkačka o objemu 1 – 10 ml z polypropylenu nebo ze skla jako je vidět na obrázku číslo 7. Mezi dvěma fritami z PE je nasypán sloupec sorbentu, převážně silikagel, velikost částic 40 μ m, velikost pórů 60 Å. Množství sorbentu je většinou 100 – 500 mg (až 10 g). Sorbent je saturován, když stanovované analyty již nezadržuje (bod průniku).

Kapacita kolonky: 10 – 20 mg/ analytu/g náplně.

Volba velikosti kolonky závisí na celkovém množství analyzovaného vzorku, matrici vzorku, předpokládaném množství stanovovaného analytu a na rozpouštědlové síle matrice vzorku.

Rozpouštědla i vzorek jsou kolonkou přetlačovány nejčastěji pomocí vakua. Celý extrakční proces lze zautomatizovat a to pomocí tzv. Manifoldu, jak je znázorněno na obrázku číslo 8.



Obrázek 7. Různé typy SPE kolonek



Obrázek 8. Zautomatizování extrakce tzv. Manifoldem

Provedení SPE

Samotné provedení SPE metody se skládá ze čtyř kroků, jak je znázorněno na obrázku číslo 9. Prvním krokem je *předúprava (kondicionace) kolonky*. Tímto postupem dochází k vymytí nečistot, ale především se připraví kolonka na reprodukovatelnou interakci složek vzorku s pevnou fází, která je umožněna solvatací pevné fáze. Kolonka se propláchne předepsaným rozpouštědlem (aktivace pevné fáze pro interakce se vzorkem) a následně rozpouštědlem podobným vzorku (úprava prostředí pro vlastní vzorek). Nepochární adsorbenty jsou obvykle kondicionovány dvěma až třemi objemy kolonky rozpouštědla ve vodě rozpustném, poté následuje kondicionace rozpouštědlem, ve kterém jsou analyty rozpuštěny (čistá matrice). Polární adsorbenty jsou kondicionovány nepolárními rozpouštědly¹².

Při kondicionaci nesmí kolonka nikdy vyschnout, protože jinak je solvatace zničena. Pokud tak nastane, musí se kondicionace opakovat.

Poté následuje samotná *aplikace vzorku* na kolonku. Podle druhu pevné fáze a vzorku dochází ke specifickým reakcím látek s pevnou fází. Požadovaná skupina látek se selektivně sorbuje a nesorbované látky (matrice) procházejí volně kolonkou.

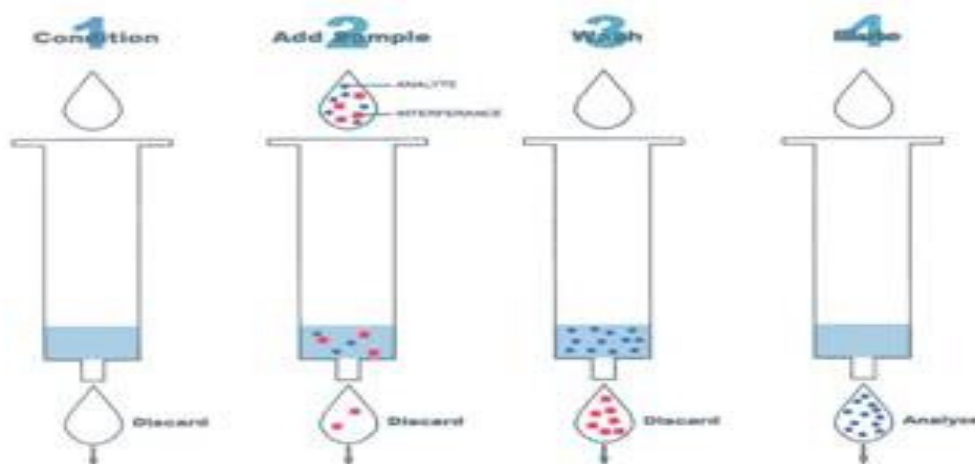
Před vlastní aplikací vzorku se musí vzorek vody upravit, což představuje převedení analytu do roztoku, odstranění pevných částic z roztoku a zabezpečení selektivní retence analytů z roztoku na sorbentu., tj. snížení rozpustnosti analytu ve vzorku, odstranění interferencí soutěžících o vazebná místa s analytem. Oleje, tuky a lipidy lze odstranit vymrazováním, anorganické soli dialýzou. Denurací, srážením nebo modifikací pH se odstraní vazby analytů na proteiny. Viskózní vzorky se zředí vodou či pufrem, tím se zlepší přenos hmoty na stacionární fázi¹⁵.

Objem vzorku ovlivňuje velikost a typ kolonky, koncentrace analytu, množství rušivých složek a zadrž analytu sorbentem. Pro zabezpečení dostatečného kontaktu vzorku se sorbentem je optimální průtok vzorku přes kolonku 2 - 4 ml/min. Aplikace vzorku je prováděna pod tlakem.

Při *promývání*, kdy dochází k proplachování kolonky vhodným rozpouštědlem (rozpuštědlo se stejnou nebo mírně větší silou než rozpouštědlo vzorku) dojde k vymytí zbytků matrice z kolonky; žádané látky zůstávají sorbovány na pevné fázi.

Pokud se eluční činidlo výrazně liší od promývacího roztoku, je třeba kolonku řádně *vysušit* proudem inertního plynu, nejčastěji dusíkem¹². Tento krok je důležitý, neboť z mokrého sorbentu se špatně, popřípadě vůbec nevyeluuje stanovovaná látka.

Při *eluci* (vymývání) se kolonka promývá elučním rozpouštědlem (podobné rozpouští podobné, snadno odpařitelné). Dochází k selektivní desorpci žádaných látek z pevné fáze a jejich vymytí z kolonky. Eluát se jímá a dále upravuje, např. pro chromatografickou analýzu¹². Eluce vhodným rozpouštědlem by neměla být příliš rychlá. Eluční rychlost závisí na velikosti kolonky a množství adsorbentu.



Obrázek 9. Hlavní kroky SPE metody

Výběr vhodného typu sorbentu pro stanovení triazinových herbicidů

Před výběrem vhodného sorbentu je třeba si zjistit co nejvíce dat o vzorku, tzn. uvážit vlastnosti matrice a analytu, a na základě těchto znalostí poté zvolit vhodný typ tuhé fáze a velikost kolonky.

Povaha analytu, tedy jeho polaritu, funkční skupiny, povaha matrice (pH, iontová síla, funkční skupiny...), očekávaná koncentrace analytu; to jsou priority, které je třeba sledovat při výběru vhodného sorbetu za dosažení cíle, tedy odstranění interferujících složek nebo dosažení maximální citlivosti.

Triazinové pesticidy jsou nepolární organické látky, proto se používají SPE kolonky s nepolární fází. Nejlepší retence analytů lze dosáhnout, když je zvolena pevná fáze o polaritě podobné polaritě analytu. Nejčastěji jsou používány C18 sorbenty, což je polymerně vázaná oktadecylová fáze (18 % C). Má vysoké procento vázaného uhlíku, který zvyšuje sorpční kapacitu a zaručuje zvýšené výtěžky.

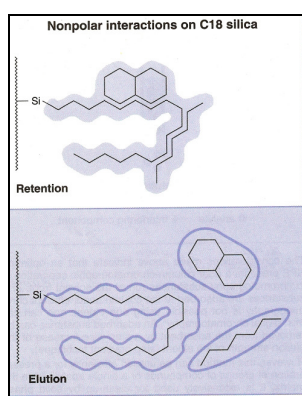
Nepolární interakce nastávají mezi uhlovodíkovými zbytky na funkční skupině adsorbentu a analytu jako je znázorněno na obrázku číslo 10. Protože většina

organických sloučenin má nepolární strukturu, mohou být adsorbovány nepolárními adsorbenty pomocí Van-der Waalsových sil (obrázek číslo 11)¹⁴.

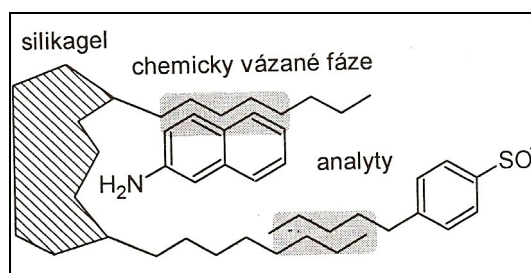
Téměř všechny organické sloučeniny mají jistý potenciál pro nepolární interakce. Vyjímkou jsou sloučeniny polární nebo iontové skupiny.

Naproti tomu nemodifikovaný silikát vykazuje polární interakce. Protože funkční skupiny s nejvíce modifikovaného silikátu jsou vázané na povrch silikátu pomocí uhlovodíkového oddělovače, tyto modifikované silikáty vykazují určitý stupeň nepolárních interakcí.

Typické adsorbenty s výrazným nepolárním charakterem jsou např. C18 a C8 modifikované silikáty. Vykazují zdánlivě nízkou selektivitu, protože jejich funkční skupiny, alkyl substituenty, mohou reagovat téměř se všemi nepolárními analyty. Mohou být používány pro izolaci látek ze skupiny o rozdílných strukturách¹⁴.



Obrázek 10. Nepolární interakce na C18 silikátu



Obrázek 11. Van der Waalsovy síly

Podobným typem C18, jen s určitými obměnami, jsou kolonky Lichrolut EN. Tyto kolonky byly vyvinuty především pro analýzy vzorků životního prostředí. Má extrémně velký specifický povrch (přibližně 1200 m²/g) a výbornou adsorpční kapacitu pro nepolární látky jako jsou právě triazinové herbicidy. Ve srovnání s jinými kolonkami Lichrolut, mají Lichrolut EN 10x vyšší kapacitu. Tudiž, pouze 200 mg látky je dostačující pro reproduktivní extrakci a vysokou opakovatelnost¹⁶.

Kolonky Lichrolut EN nabízí hned několik výhod. K hlavní patří, že se mohou použít pro běžné organické rozpouštědla, kyseliny a zásady v celém rozsahu pH. S těmito kolonkami dochází k úspoře rozpouštědla, protože je požadováno jen jeho malé množství na kondicionaci a eluci. Také je uspořen čas, neboť méně adsorbentu znamená méně času na kondicionování a sušení. Celkově dochází ke zlepšení analýzy,

protože redukcí množství rozpouštědla potřebné k eluci vede ke snížení stupně kontaminace a ke snížení detekčních limitů¹⁶.

Sorbent kolony Lichrolut EN tvoří ethyl vinyl benzendivinylný benzen polymer. Je oranžově zbarven. To představuje jistou výhodu oproti bílým sorbentům, neboť je jasné vidět, zda je náplň suchá při sušení kolony před elucí.

Dalším možným typem sorbentu, na kterém lze stanovovat triazinové pesticidy je Envi- Carb. Extrakce na této pevné fázi vykazuje vyšší dosažené výsledky a prokazuje méně výkyvů než extrakce na C18. Neporézní uhlíkatý základ kolony také urychluje extrakční proces bez snížení adsorpční schopnosti pro dané analyty.¹⁷

Protože uhlíkatý základ je neporézní, vzorky mohou být zpracovávány rychle (adsorpce nevyžaduje rozptýlení analytů do porézní části). Ačkoliv je plocha na povrchu uhlí menší než na porézním silikagelu, kapacita uhlí pro stanovení pesticidů je dostačující. Požadovaná hmotnost fáze je poloviční než je potřeba u silikagelu. Základní povrch pro vzájemné interakce je stejný jak pro Envi – Carb, tak i pro silikagel.

Při samotné extrakci na Envi – Carb se používá 100 ml až 1 l vzorku, koncentrace pesticidů je 10-50 μ g/l. Vzorek se převádí přes kolony pod tlakem nebo vakuem. Eluce pesticidů se provádí nízkou rychlostí.

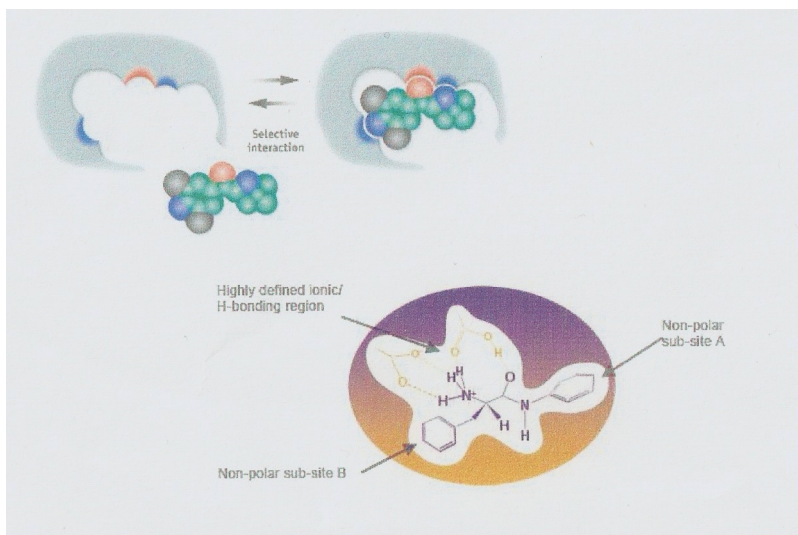
SPE vodných roztoků na Envi – Carb poskytuje významné výhody na rozdíl od extrakce kapalina – kapalina nebo SPE na silikagelu. Snižuje se spotřeba drahého skleněného nádobí a velké množství objemů. Technika může být snadno zautomatizována, od 12-ti a více vzorků najednou. Oproti SPE na silikagelu Envi – Carb má větší opakovatelnost pro rozsáhlou skupinu organických látek¹⁷.

Mezi novější typy SPE kolonek patří SPE kolony plněné MIP polymery (Molecular Imprinted Polymers), které jsou určeny pro selektivní extrakce jedné sloučeniny nebo skupiny strukturně podobných sloučenin ze složitých matric. Poskytují vysokou selektivitu a nízké detekční limity. Je vysoce selektivní pro skupinu triazinů a jejich metabolitů při extrakcích z vody, půdy a potravin¹⁸.

MIP je vysoce zesíťovaná polymerní fáze s „dutinkami“, obrázek číslo 12, stericky a chemicky komplementárními k molekule analytu. Je selektivní pouze k tomuto analytu nebo strukturně podobným analytům. Přínosem SupelMIP SPE je vysoký stupeň přečištění vzorku a vysoká selektivita dosažená rychlou a jednoduchou úpravou vzorků,

velmi nízkými detekčními limity. Je stabilní v širokém rozsahu pH (1-14) a teploty, vhodné pro LC-MS aplikace.

V procesu čištění se uplatňují sterické i chemické vazby. Několika násobné nekovalentní interakce (iontové vazby, vodíkové vazby a nepolární interakce) mezi MIP a funkčními skupinami analytu zajišťují velmi silnou retenci analytu a selektivita se zvyšuje úpravou podmínek promývání při zpracování vzorku¹⁸.



Obrázek 12. Selektivní interakce molekuly s „dutinkou“ v polymeru

Výběr vhodného rozpouštědla

Přechod částice z tuhé fáze do roztoku je způsoben interakcí molekul rozpouštědla s molekulami rozpouštěné látky. Selektivita působení rozpouštědla na solut závisí na povaze sil, které se uplatňují při rozpouštění. Volba vhodného rozpouštědla pak závisí na znalosti typu těchto interakcí a je důležitá nejen pro extrakční dělení¹⁹.

Při rozpouštění triazinových herbicidů na SPE kolonce se uplatňují disperzní interakce nebo – li Van der Waalsovi interakce. Jsou velmi slabé a uplatňují se při rozpouštění nepolárních látek v nepolárních kapalinách. Zdrojem síly těchto interakcí je rychlá změna krátce existujících dipólů, jež vznikají při pohybu elektronů v molekule.

Pro volbu rozpouštědla k extrakci lze použít hrubý odhad, který vychází z klasického Liebigova pravidla: „Podobné se rozpouští v podobném“. Nebo je použit semikvantitativní způsob, jež je založen na znalosti parametru rozpustnosti δ . Látka se tím lépe rozpouští v určitém rozpouštědle, čím bližší jsou hodnoty δ pro solut a solvent¹⁹.

Parametr rozpustnosti je do určité míry měřítkem polariry sloučeniny. Polarita rozpouštědla musí přibližně odpovídat polaritě extrahované látky. Polarita je kvantitativně popsána relativní permitivitou rozpouštědla ϵ . Nepochární rozpouštědla mají nízkou permitivitu, polární rozpouštědla se blíží svou permitivitou vodě. Rozpouštědla seřazená podle rostoucí polariry tvoří tzv. eluotropní řadu. Rozpouštědla umístěná v eluotropní řadě blízko sebe jsou dobře mísitelná, rozpouštědla z protilehlých konců jsou nemísitelná¹².

Volbu rozpouštědla ovlivňuje „síla“ rozpouštědla pro daný systém. „Slabé“ rozpouštědlo je použito pro sorpci analytu, na rozdíl od eluce, kde je použito „silné“ rozpouštědlo. Při extrakci má analyt větší afinitu k sorbentu než k rozpouštědlu. Naproti tomu při eluci má analyt větší afinitu k rozpouštědlu než k sorbentu¹⁵. Nevhodnější rozpouštědlo při extrakci je methanol a acetonitril. Poslední jmenovaný se používá i při eluci pro svou vhodnou rozpustnost.

4.2. Extrakce Kapaliny – kapalina

Výběr vhodných podmínek pro dělení látek extrakcí z kapaliny do kapaliny je složitější. Obecně platí, že částice, jenž mají přejít přes fázové rozhraní z vodné do organické fáze, musí být elektroneutrální. Pokud není organická látka protolyt (tj. kyselina nebo zásada), splňuje uvedenou podmínku elektroneutrality (tj. nemá žádný náboj). Pro dosažení velkého výtěžku extrakce stačí najít vhodné rozpouštědlo, tedy takové, v němž se látka dobře rozpouští a jenž je téměř nemísitelné s vodou. K odhadu hodnoty rozdělovací konstanty stačí vypočítat poměr rozpustnosti látky v organickém rozpouštědle¹⁹.

Rozdělení látky mezi dvě heterogenní fáze se řídí Gibbsovým zákonem fází:

$$f + v = s + 2$$

Podle tohoto zákona extrakce představuje dvě fáze (plynnou zanedbáváme), při dělení jedné složky a systém má jeden stupeň volnosti (při konstantním tlaku a teplotě). Určením koncentrace složky v jedné fázi je určena i její koncentrace ve fázi druhé.

Účinnost extrakce se udává jako procentuální podíl látky E (%), který se vyextrahoval do organické fáze, tzv. procentuální výtěžek extrakce¹².

$$E(\%) = \frac{100 * D_{c,x}}{D_{c,x} + \frac{V_{aq}}{V_{org}}}$$

Čím větší je V_{org} , tím je extrakce účinnější. Poměr objemů organické a vodné fáze $V_{\text{org}}/V_{\text{aq}}$ se označuje jako **fázový poměr** β . Účinnost extrakce lze zvýšit rozdělením objemu organické fáze na více částí a extrakci vodné fáze opakovat. Poté výsledné extrakty spojit.

Celková účinnost po n opakovaných extrakcích

$$E_n (\%) = 100 * \left[1 - \left(\frac{100 - E}{100} \right)^n \right]$$

udává výsledný procentový obsah extrahované látky ve spojených extraktech. V praxi se volí experimentální podmínky tak, aby nebylo třeba extrakci opakovat více jak třikrát až čtyřikrát (99,9 % výtěžek)¹².

Praktické provedení extrakce

Podmínky, které určují výtěžek extrakce, a tedy úspěch extrakční separace jsou extrakční soustava (tj. rozpouštědlo), podmínky ve vodné fázi a technika extrakce.

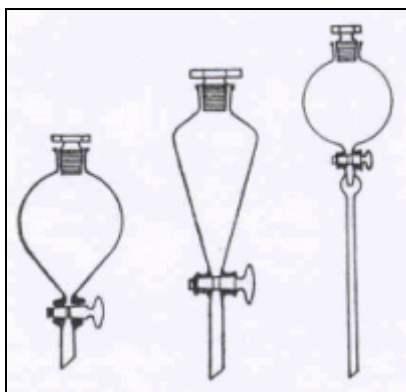
Rozpouštědlo pro extrakci z kapaliny do kapaliny je voleno s přihlédnutím k teorii extrakce. Je třeba uvážit i praktické aspekty. Pokud je extrakce použito ke stanovení izolované složky, nesmí rozpouštědlo rušit její vlastní stanovení. Dále je při volbě rozpouštědla přihlíženo k jeho toxicitě, hořlavosti, ceně apod.

Jednorázová extrakce z kapaliny do kapaliny se provádí v dělicích nádobkách, zobrazených na obrázku číslo 13. Pro analytické účely, kdy je třeba kvantitativně oddělit obě fáze a převést je do jiných nádob, nevyhovují zcela dělicí nálevky dodávané pro účely preparativní. Dobrá dělicí nálevka pro analytické účely má mít krátký stonek a jádro kohoutu i zátku z plastu, nejlépe z teflonu. Skleněná jádra běžně dodávaných dělicích nálevek je třeba utěsnit tukem na kohouty, který se však organickým rozpouštědlem vymývá a tvorbou emulze znesnadňuje ostré rozhraní organické a vodné fáze.

Dělicí nálevka je vhodná pro extrakci rozpouštědlem těžším než voda. Organická fáze se společně s vyextrahovanou látkou opatrně odpouští přes spodní ventil. Nevýhodou je, že se zároveň s organickou fází odpustí i nepatrná část vodné fáze. Ta může způsobovat nepřesné výsledky extrakce. Jestliže izolovaná složka přechází do rozpouštědla lehčího než voda, je výhodnější použít k extrakci zabroušenou zkumavku vhodné velikosti a po oddělení fází odsát horní organickou fází pipetou nebo injekční stříkačkou.

I když se extrakce z kapaliny též nazývá vytřepávání, není vhodné obě fáze intenzívně protřepávat, neboť některá rozpouštědla vytvářejí špatně odstranitelnou emulzi. Nejvhodnější způsob promíchávání obou fází je převrácení dělicích nálevek. Zde však hrozí nebezpečí uvolnění vrchní zábrusné zátky podtlakem par z rozpouštědla.

Jestliže je třeba k dosažení potřebného výtěžku dělení extrakcí opakovat, pak lze kvantitativnost separace pro analytické účely zajistit pouze při malém počtu opakování (nejvýše 3 až 4 krát)¹⁹.



Obrázek 13. Dělicí nálevky

4.3. Porovnání extrakčních metod

U extrakce z kapaliny do kapaliny převažují jisté nevýhody jako např. špatné dělení obou fází s tvorbou emulze, špatná opakovatelnost. Navíc je tato extrakce nebezpečnější, z důvodu vytvoření přetlaku z par rozpouštědla a uvolnění vrchní zátky děličky.

Použití SPE extrakce oproti klasické extrakční metodě kapalina-kapalina skýtá více výhod. Je jednodušší a zároveň poskytuje šetrné zakonzertování vzorku. Selektivitu lze měnit výběrem tuhé fáze. Postup je bezpečnější, pracuje se s menšími objemy organických rozpouštědel, která jsou často řazena mezi jedovaté, ničící ozónovou vrstvu, ale i jinak nebezpečné. Tím dochází i k jejich úspoře. Extrakci lze celou automatizovat. Protože tak jde zpracovat i více vzorků najednou, lze tím zkrátit dobu procesu extrakce. Extrahované vzorky lze uchovávat. Tato metoda je kompatibilní s následnou instrumentací.

Nevýhodou SPE extrakce je cena kolonek. Dále pro některé izolující se látky stále nejsou na trhu SPE kolonky s vyhovující tuhou fází. Ale trh s SPE kolonkami se neustále vyvíjí.

5. Analytické metody pro stanovení triazinových herbicidů

Otázka, kterou ze separačních technik použít, záleží na povaze analyzovaných látek. Obsahuje-li vzorek směs organických těkavých látek a tepelně stálých látek, bude nejlepší použít metodu plynové chromatografie, jako je tomu v případě při analytickém stanovení triazinových herbicidů. Chromatografie je separační technika, při které se separují složky obsažené ve vzorku. V chromatografii se vzorek vnáší mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Vzorek je umístěn na začátek stacionární fáze²⁰. Tato fáze, též nazývána sorbent, může mít v chromatografii velmi rozdílnou formu. Někdy jsou to částičky tuhé fáze o velikosti jednotek až stovek mikrometrů, jindy se jedná o tenkou vrstvičku kapaliny nanesenou na tuhých částicích nebo film kapaliny na vnitřní straně kapiláry¹⁹. Pohybem mobilní fáze přes tento sorbent je vzorek touto soustavou unášen. Stanovované složky vzorku jsou stacionární fází zachycovány, a proto se při pohybu zdržují. Více jsou zadržovány složky, které jsou stacionární fází poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a na konec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržované²⁰.

5.1. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační metoda, která k separaci plynů a par využívá dvě heterogenní fáze. Mobilní fáze je zpravidla inertní plyn neboli nosný plyn. Aby vzorek mohl být transportován, musí se ihned přeměnit na plyn. Stacionární fáze je nejčastěji kapalina ukotvená na inertním nosiči, méně často sorbent¹⁹. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fází. Během separace se v koloně neustále vytváří a porušuje fázová rovnováha mezi mobilní a stacionární fází. Děj probíhá nepřetržitě. Složka má při ustanovení rovnováhy určitou koncentraci ve stacionární fází a v mobilní fází. Poměr mezi těmito koncentracemi je v ideálním případě konstantní a nazývá se distribuční konstanta. Protože charakterizuje distribuci – rozdělení složky mezi obě fáze. Čím je hodnota distribuční konstanty vyšší, tím je složka více vázána stacionární fází a déle zadržována v koloně. Pro oddělení dvou složek je nutné, aby se od sebe lišily svými distribučními konstantami. Distribuční konstanta závisí na teplotě. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor.

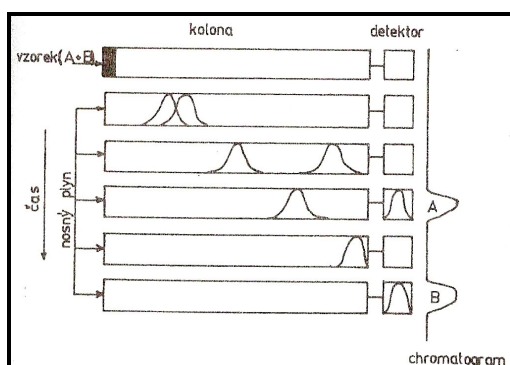
Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek²⁰.

Značnou výhodou plynové chromatografie vůči ostatním chromatografickým metodám je použití plynu jako mobilní fáze. Nosný plyn je málo viskózní a je stlačitelný. Difúzní koeficienty složek v plynech jsou mnohem větší než v kapalinách a interakce molekul v plynné fázi jsou ve většině případů podstatně menší než v kapalně fázi¹⁹.

Pro nutnost přeměny analytů v plyny lze separovat jen takové složky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Obecně může být plynová chromatografie použita k separaci plynů, většiny nedisociovaných kapalin a pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Není použitelná pro separaci makromolekul, organických a anorganických solí. Častým postupem je chemická změna analytů nevyhovujících vlastností na deriváty, které mohou být v analýze plynovou chromatografií použitelné²⁰.

Praktická měření lze provádět několika základními pracovními technikami. Ty se liší v postupu, jimž se uskutečňuje transport analyzované směsi kolonou. Nejužívanější ze všech chromatografických technik je eluční metoda. Tato metoda je založena na vymývání inertním nosným plynem, jak je zobrazeno na obrázku číslo 14. Při tomto způsobu je analyzovaný vzorek jednorázově dávkován do proudu nosného plynu těsně před vstupem na kolonu. Složky plynné směsi se pohybují kolonou rychlostí, která je dána jejich distribučními konstantami. Chromatografickou kolonu opouštějí v čase, který je za daných experimentálních podmínek pro jednotlivé složky charakteristický, což lze využít k jejich identifikaci. Výsledný chromatogram je tvořen sérií elučních křivek (píků). Kvantitativní zastoupení složek ve směsi lze získat vyhodnocením ploch pod křivkou²¹.

Jednoduché upořádání, účinné oddělení jednotlivých složek, možnost dávkovat relativně rychle za sebou malá množství vzorku, přehledný chromatografický záznam, který lze dobře zpracovat pro účely kvalitativní i kvantitativní analýzy, to všechno patří mezi přednosti eluční chromatografie.



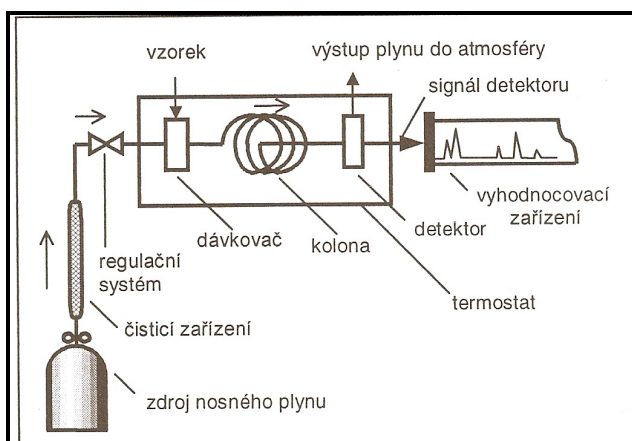
Obrázek 14. Eluční technika

Eluční technika prováděná za konstantních podmínek, tj. teploty a tlaku, je velmi úspěšná jen v těch případech, kdy se složky analyzované směsi svými fyzikálními charakteristikami navzájem neliší. Analyzuje-li se za těchto podmínek směs látek s výrazně rozdílnými vlastnostmi, jednotlivé složky opouštějí kolonu s velkými časovými prodleními a jejich zóny jsou značně rozšířené. U složek zastoupených ve velmi malých koncentracích může dojít až ke splnutí píků se základní linií chromatogramu. Obojí vede k závažným chybám při kvantitativním vyhodnocování.

Pro analýzy směsí uvedeného typu byly navrženy speciální pracovní techniky, jejichž cílem bylo zvýšit jednak účinnost separace, jednak rychlost analýzy. Tyto techniky, při nichž je během analýzy diskontinuálně nebo kontinuálně měněna teplota, event. průtok, se označují programovaná plynová chromatografie. Změnou teploty se mění sorpční vlastnosti stacionární fáze, a tím i hodnota distribuční konstanty. Zvýšením teploty během separačního procesu dojde k tomu, že málo těkavé látky budou kolonou procházet rychleji a v ostřeji vyvinutých pících. Výsledkem je zlepšení separace směsi látek se širokým rozmezím bodů varu a přesnější kvalitatívni i kvantitativní analýza výševroucích složek²¹.

Základní části plynového chromatografu

Počáteční část ve schématu plynového chromatografu, jehož blokové schéma je na obrázku číslo 15, je **zdroj nosného plynu**, což je tlaková láhev. V případě stanovení triazinů se jedná o dusík. Druh plynu je určen jeho úkolem unášet vzorek kolonou a potřebou inertního chování vůči jeho složkám. Proto nemá přímý vliv na separaci. Volba nosného plynu je často určena druhem kolony a detektoru. Dále je druh nosného plynu volen podle jeho inertnosti, čistoty, viskozity, hustoty plynu a jeho bezpečnosti při práci²⁰.



Obrázek 15. Schéma plynového chromatografu

Čistící zařízení zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Zbavuje nosný plyn nežádoucích stop ostatních plynů. Zejména odstraňuje stopy reaktivního kyslíku, který nenávratně poškozuje stacionární fázi v koloně.

Regulační systém zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu. Elektronickou regulací lze docílit stanoveného průtoku i při změnách teploty během separace.

Dávkovač slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Technika dávkování musí zajistit odpaření vzorku v co nejkratším čase. Roztoky jsou dávkovány skleněnými injekčními stříkačkami ($0,1 - 10 \mu\text{l}$) přes pryžové septum. Hovoří se o nástřiku vzorku. Pro nástřik triazinových herbicidů se používají plynotěsné injekční stříkačky a nástřik bez děliče toku (splitless injection). Tato metoda nástřiku je vhodná pro relativně velké objemy ($0,5 - 5 \mu\text{l}$), které nutno použít pro stopovou analýzu²⁰. Velmi důležitá je teplota místa nástřiku. Obecně se volí tak, aby byla o $50 \text{ }^\circ\text{C}$ vyšší než je bod varu nejvýše vroucí složky analyzované směsi²¹. Vzorek je dávkován do odpařovací trubice. Poté se provede oplach septa. Dlouhá doba vstupu vzorku do kolony by vedla k rozšíření zón. Tomu lze zabránit tzv. metodou podle Groba, kde se využívá rozpouštědla s vyšší teplotou varu, které kondenzuje a vytvoří kapalný film v hlavě kolony. V něm jsou pohlceny všechny analyty. Jakmile jsou analyty zachyceny a je proveden oplach septa, je zvýšena teplota kolony a začne probíhat separace²⁰.

Další součástí plynového chromatografu je **kolona**, ve které je umístěna stacionární fáze. V ní nastává separace složek. Existují kolony náplňové a kapilární. Pro analytické stanovení triazinových herbicidů se ve většině případů používá kapilární kolona. Ty

využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Jsou vyráběny obvykle z taveného křemene. Vnitřní průměr kolon je v intervalu 0,1-0,6 μm , tloušťka filmu stacionární fáze 0,25-5 μm , délka 15-60 m, kapacita 50 ng-15 μg a účinnost 1000-3000 teoretických pater na 1 m. Pro většinu aplikací postačuje délka kapiláry 30 m. Větší průměr kolony dává možnost pojmout více vzorku. Použití menších průměrů kolon vede k vyšší účinnosti, ale nižší kapacitě. Užší kolony nemohou být tak dlouhé, protože by byl prodloužen čas separace. Obecně tedy platí, že roste-li vnitřní průměr a tloušťka stacionární fáze, účinnost separace se snižuje. Kapilára je obalena polyimidovou vrstvou, která dává křehkému materiálu kolony pružnost a brání ho před zlomením. Kolonu chrání do teplot 350 °C; termicky stabilnější hliníková vrstva může být použita do 425 °C (maximální teplotu ale určuje stabilita zakotvené stacionární fáze analytů)²⁰.

Podle uložení mobilní fáze se rozlišují tři typy kapilárních kolon. V kolonách *WCOT* tvoří kapalná stacionární fáze tenký film na vnitřní straně kapiláry. Kolony musí být velmi úzké, aby byl zajištěn dostatečný styk mobilní fáze s fází stacionární. Kolony *SCOT* mají na vnitřní straně vrstvu nosiče se zakotvenou kapalinou. Kolony *PLOT* mají na vnitřní stěně tenkou vrstvičku pórovitého materiálu jako sorbentu.

Stacionární kapaliny by měly dobře rozpouštět separované látky a samy být teplotně stálé a málo těkavé. Měly by pevně uplívát na nosiči, aby nedocházelo k jejich vymývání z kolony. Hojně používaným řešením je chemické zesíťování stacionární fáze a případné navázání kovalentní vazbou na nosič²⁰.

Účinnost kolony, jenž charakterizuje její schopnost separovat složky směsi a retenční čas dané složky závisí na rychlosti nosného plynu. Čím je kolona účinnější, tím lépe dokáže od sebe složky směsi oddělit. Účinnost kolony roste s počtem teoretických pater kolony. Teoretické patro je pomyslná část kolony, ve které dochází k ustavení rovnováhy mezi mobilní a stacionární fází²⁰. Retenční čas je přímo úměrný délce kolony a rozlišení je úměrné druhé odmocnině délky kolony.

Jednou z nejhlavnějších částí plynového chromatografu je **detektor**. Nosný plyn protéká detektorem, který reaguje na přítomnost analytu a vysílá signál, jenž je zaznamenáván v závislosti na čase. Detektor sleduje takovou vlastnost plynu z kolony, která závisí na druhu a koncentraci složek (analytická vlastnost). Musí mít dostatečnou citlivost (nízký detekční limit) a jeho odezva by měla být lineární funkcí obsahu analytu. Citlivější detektor změní signál v závislosti na obsahu složky více než detektor

méně citlivý a je schopen detekovat nižší obsah složky. Důležitým požadavkem je vysoká selektivita pro stanovované analyty²⁰.

Konečnou částí plynového chromatografu je **vyhodnocovací zařízení**, které zpracovává signál detektoru, zakresluje chromatografickou křivku (chromatogram) a provádí její vyhodnocení.

Důležitou součástí GC je termostat, jenž zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu. Dávkovač a detektor mají zpravidla vlastní řízené zahřívání. Konstantní teplota pro izotermický proces je využitelná, neliší-li se analyty příliš svými teplotami varu. Je-li přítomno široké spektrum složek s různými teplotami varu, separace by byla časově náročná. Teplota kolony se proto programově mění, když zpravidla po určitém izotermickém úseku se zvyšuje na další hodnotu rychlostí 30 – 40 °C/min. Běžně se pracuje při teplotách 50 – 300 °C²⁰.

Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií

U stanovení triazinů je plynová chromatografie nejčastěji spojena s **hmotnostní spektrometrií** (mass spectrometry). Je to separační technika, založená na interakci iontů s elektrickým a magnetickým polem. Poskytuje informace o molekulové hmotnosti a struktuře analyzované látky, kterou může být jak prvek, tak i anorganická nebo organická sloučenina. Princip hmotnostní spektrometrie spočívá v tvorbě iontů z neutrálních prvků nebo molekul v iontovém zdroji, které se dále štěpí na fragmentové ionty, radikály a neutrální částice. Nabité částice jsou separovány v analyzátoru podle poměru hmotnosti a náboje m/z a zaznamenávány detektorem. Neutrální částice zpravidla nejsou zaznamenávány, neboť nepodléhají působení elektrického a magnetického pole. Výstupem hmotnostní spektrometrie je spektrum, což je dvourozměrný graf závislosti intenzity naměřeného signálu na poměru hmotnosti a náboje m/z ²².

Při ionizaci molekuly složky dochází obvykle k těmto reakcím.:

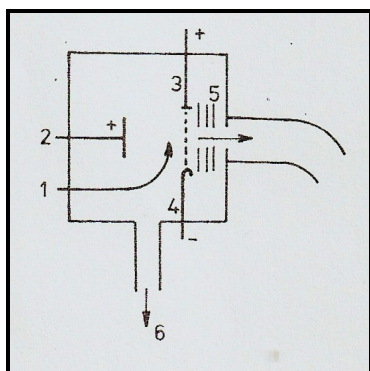
$M \rightarrow M^+ + e^-$ ionizace molekuly a vznik molekulárního iontu o jednotkovém náboji

$M^+ \rightarrow A^+ + m^0$ rozpad molekulárního iontu na fragmentovaný iont a elektroneutrální částici²⁰.

Hmotnostní spektrometr se skládá ze vstupu, iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru, detektoru se zesilovačem a záznamovým zařízením a z vakuového systému.

Vstup je místo, kde se zavádí vzorek do hmotnostního spektrometru. Jednou z možností je přímý vstup, kdy se zavádí vzorek přímo do iontového zdroje.

Iontový zdroj je místo, kde z molekul vzorku vznikají nevratným odštěpením valenčních elektronů ionty. Nejvýznamnějším způsobem ionizace je ionizace vzorku nárazem elektronů (electron impact - EI). Konstrukční uspořádání iontového zdroje využívajícího ionizaci nárazem elektronů je na obrázku číslo 16. Molekuly vzorku se dostávají do proudu elektronů mezi anodou (3) a žhavenou katodou (4), kde dochází k jejich ionizaci. Vzniklé kladné ionty jsou vytlačovány elektrodou (2) a po zrychlení urychlovacím potenciálem na elektrodách (5) přecházejí do separátoru. Celý proces probíhá za sníženého tlaku asi 10^{-4} až 10^{-5} Pa. Za těchto podmínek nedochází v iontovém zdroji ke srážkám částic a ionty vznikají pouze monomolekulárními rozpady. Přitom vznikají nejen molekulové ionty, ale pokud molekulový ion obsahuje dostatečný přebytek energie, rozbíjí se dále na fragmentové ionty a elektroneutrální částice. Stupeň fragmentace závisí jak na charakteru ionizované látky, přesněji na její ionizační energii, tak i na použité energii ionizujících elektronů. Předností ionizace nárazem elektronů je vysoká citlivost a možnost usuzovat na strukturu látky ze vzniklých fragmentových iontů¹⁹.

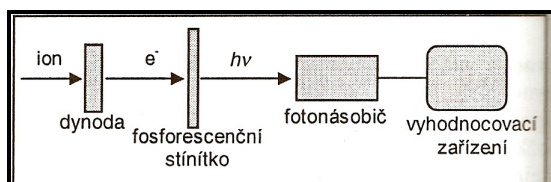


Obrázek 16. Iontový zdroj s ionizací nárazem elektronů

Hmotnostní analyzátor dělí vytvořené ionty podle poměru m/z , kde m je hmotnost iontu a z je počet elementárních nábojů, které ion nese. Většina iontů nese jeden elementární náboj, proto se běžně říká, že v analyzátoch jsou ionty děleny podle své

hmotnosti. V GC/MS je hojně používán kvadrupólový analyzátor. Obsahuje čtyři rovnoběžné tyčové elektrody. Na každou tyč je přiváděna stejnosměrná složka napětí a složka radiofrekvenčního pole (cca 10 MHz). Nastavení hodnot veličin (stejnosměrného napětí, amplitudy a frekvence radiofrekvenčního pole) předurčují trajektorie drah, po kterých se mezi tyčemi budou pohybovat ionty s určitou hodnotou m/z . Při určité hodnotě radiofrekvence dosáhnou ionty o určité hmotnosti stabilních oscilací, zatímco ionty s odlišnou hmotností oscilují s rostoucí amplitudou a jsou zachyceny na tyčích kvadrupólu. Nastavení veličin kvadrupólu se plynule mění a detektor zachycuje ionty o různých hodnotách m/z . Hmotnostní spektrum lze takto získat velmi rychle (1-4 s). Proti klasické konstrukci není vyžadováno tak vysoké vakuum. Má však menší rozsah měřených hmotností a nižší rozlišení²⁰.

Další součástí hmotnostního spektrometru je *iontový detektor se zesilovačem*, který zaznamenává dopadající ionty. Jeho úkolem je převést proud dopadajících iontů na proud elektronů. Běžně se používá k detekci iontů detektor s konverzní dynodou a fotonásobičem zobrazený na obrázku číslo 17, jenž mění v konverzní elektrodě náraz iontu na vyražený elektron. Ten dopadá na fosforescenční stínítko a vyrazí foton. Foton je poté zachycen fotonásobičem. Tyto detektory jsou velmi citlivé²⁰.



Obrázek 17. Detektor s konverzní dynodou a fotonásobičem

Chromatogramy a hmotnostní spektra v technice GC/MS

Předností techniky GC/MS je spojení vysoké separační techniky plynové chromatografie s identifikačními možnostmi hmotnostní spektrometrie. Z uvedeného vyplývá, že při analýze vzorků technikou GC/MS se získají dva druhy záznamů, a to chromatogram, který zhruba informuje o počtu složek přítomných ve vzorku, a hmotnostní spektra jednotlivých píků, z nichž lze usoudit kvalitu složek, popř. může prokázat současnou eluci více složek v jediném píku¹⁹.

Chromatogram je křivka závislosti odezvy detektoru na retenčním čase (retenční čas = doba, kterou látka stráví v koloně od jejího nástřiku po zaznamenání maxima chromatografického píku detektorem). Poskytuje jak kvalitativní informace, kdy podle retenčních časů standardů naměřených za stejných podmínek jako vzorek lze

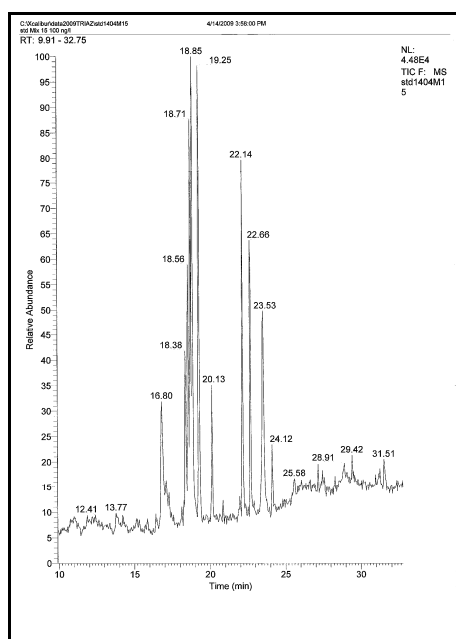
identifikovat látky, tak i kvantitativní informace. Z plochy pod píkem látky lze zjistit její koncentraci. Plocha píku a jeho výška roste s obsahem složky ve vzorku. Z dat chromatogramu a podmínek analýzy se může spočítat účinnost pro každou složku směsi²².

Jako *hmotnostní spektrum* je označována závislost relativní intenzity iontového proudu na podílu m/z . Relativní intenzita nejintenzivnějšího iontového proudu je 100 %²⁰.

Hmotnostní spektrum obsahuje následující píky: molekulární pík, který odpovídá nejvyššímu naměřenému poměru m/z . Nese informaci o molekulové hmotnosti sloučeniny. Základní pík je nejvyšší pík a je mu přiřazena 100 % intenzita. Fragmentovaný pík odpovídá iontu vzniklému fragmentací analyzované sloučeniny, nese informace o struktuře sloučeniny. Analyzované látky lze identifikovat porovnáním naměřeného spektra s knihovnou hmotnostních spekter nebo jeho interpretací na základě znalostí fragmentačních mechanismů.

Při kvantitativním stanovení se využívá např. metody absolutní kalibrace, vnitřního standardu nebo standardního přídatku²².

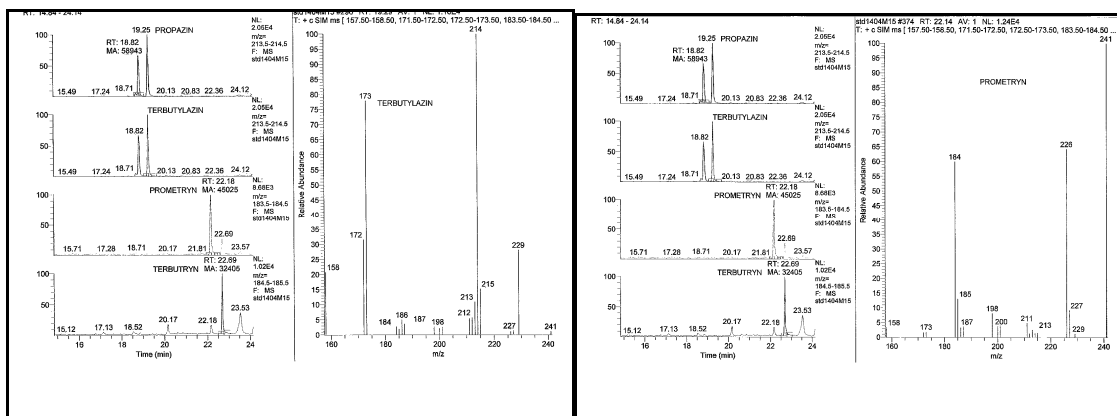
Na následujícím obrázku číslo 18 je zobrazen chromatogram vybraných triazinových herbicidů. Je zde znázorněn souhrn všech látek nalezených v modelovém vzorku. Každá látka, tvořena eluční křivkou (píkem), má svůj specifický retenční čas, který je důležitý pro kvalitativní vyhodnocování.



Obrázek 18. Chromatogram standardu triazinových herbicidů

V současných vyhodnocovacích programech lze zobrazit chromatogramy pro jednotlivé analyzované látky. Poté se může u každé látky určit plocha pod píkem. Z její hodnoty lze vypočítat koncentraci stanovované látky. Pomocí hmotnostního spektra stanovované látky je prováděno kvalitativní vyhodnocování, kde lze dané hmotnostní spektrum srovnat se spektry z knihovny vyhodnocovacím programem.

Na obrázku číslo 19 jsou zobrazena hmotnostní spektra atrazinu a simazinu. Jak je vidět z obrázku vlevo, molekulární pík hmotnostního spektra atrazinu má hmotu 215, což odpovídá jeho molekulární hmotnosti. Stejně je tomu i v případě simazinu, jenž má molekulovou hmotnost 201 g/mol.



Obrázek 19. Hmotnostní spektra atrazinu a simazinu

ZÁVĚR

Ve své bakalářské práci jsem se zaměřila na triazinové herbicidy a jejich stanovení ve vodách. I když se v České republice rozšiřuje tzv. ekologické zemědělství, herbicidy se stále používají pro zvyšování produkce zemědělských plodin. Jejich spotřeba se sice postupně snižuje, přesto setrvávají v přírodě v podobě jejich metabolitů, které mají různé poločasy rozpadu.

Je proto nutné sledovat výskyt herbicidů a jejich metabolitů ve vodách, zeminách a dalších složkách životního prostředí. Především se jedná o spodní vody, které jsou často kontaminovány herbicidy, vyplavovanými ze zemědělské půdy.

Nárůst problémů se znečišťováním životního prostředí vede k zefektivnění analýz životního prostředí. Triazinové herbicidy nelze stanovit přímo. K jejich zakoncentrování z velkého množství objemu vzorku, přečištění a převedení do vhodného rozpouštědla se často používá metoda extrakce na pevnou fázi, tzv. SPE metoda. V porovnání s klasickou extrakcí kapalina-kapalina je tato metoda efektivnější, rychlejší a bezpečnější. Velkou výhodou je její dobrá opakovatelnost. Cena kolonek na tuto extrakci je sice vyšší, ale menší spotřebou rozpouštědel se tato nevýhoda vykompenzuje. Domnívám se, že metoda SPE extrakce je pro stanovení triazinových herbicidů přijatelnější, než klasická metoda extrakce kapalina-kapalina.

Pro analýzu je vhodné použít plynovou chromatografii spojenou s hmotnostní spektrometrií, protože ve většině případů vzorků se jedná o stopovou analýzu a tato separační metoda má větší citlivost a nižší mez detekce. Hmotnostní spektrometrie je rychlá a citlivá analytická metoda a při stanovení triazinových herbicidů podává jak kvalitativní, tak i kvantitativní výsledky, neboť poskytuje velké množství informací o vzorku a jeho složení.

Dle mého názoru je tato analytická metoda pro stanovení triazinových herbicidů výhodná. Významně napomáhá k identifikaci organických látek i ve složitých matricích, což některé materiály životního prostředí bezesporu jsou.

Použitá literatura:

1. Cremlyn R.: Pesticidy, SNTL Praha, 1985
2. Velíšek J.: Chemie potravin 3, OSSIS Tábor, 1999, ISBN 80-902391-5-3
3. Vědecký výbor pro potraviny: Rezidua pesticidů v potravinách, dostupný z www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/pest_2005_1_deklas.pdf, 2005
4. Pesticidy, dostupný z www.ecojiptek1.web3.cz, 2007
5. Společné stránky Arniky a České ekologické společnosti: O pesticidech, dostupné z www.pesticidy.arnika.org/
6. Mikulenkova J., Kneifelová M.: Rizika kontaminace potravin a pitné vody herbicidy, Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2004
7. Kamrin A. Michael: Pesticides profiles (toxicity, enviromental impact, and fate), Lewis Publishers, 1997, ISBN 1-56670-190-2
8. Simazin, atrazin: dostupné z www.irz.cz/obsah/ohlasovane-latky
9. Zbirovský M., Myška J., Zemánek J.: Herbicidy – chemické prostředky proti plevelům, Československá akademie věd, Praha, 1960
10. Arnika: Budoucnost bez jedů, dostupné z www.bezjedu.arnika.org/chemicke-latky.shtml
11. Extoxnet: Pesticide information profile, dostupné z www.extoxnet.orst.edu/
12. Extrakce, dostupné z www.natur.cuni.cz/~pcoufal/extrakce.pdf
13. Extrakce na tuhou fázi, dostupné z www.sigmaaldrich.com/img/assets/13080/01.pdf
14. Katalog fy. Macherey – Nagel(MN):Principles of solid phase extraction
15. Extrakce na tuhou fázi – SPE, dostupné z http://web.vscht.cz/poustkaj/ISM_SPE_99.pdf
16. Lichrolut, Solid-phase extraction with Lichrolut, dostupné z www.chromatography.merck.de
17. Supelco: Extract nonvolatile pesticides from drinking water, using a graphitized carbon adsorbent
18. SupelMIP SPE, dostupné z www.labicom.cz
19. Churáček J. a kolektiv: Analytická separace látek, SNTL, Praha, 1990, ISBN 80-03-60569-8
20. Klouda. P.: Moderní analytické metody, nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava, 2003, ISBN 80-86369-07-2
21. Smolková E., Feltl L.: Analýza látek v plynném stavu, SNTL, Praha, 1991, ISBN 80-03-00604-X
22. Hmotnostní spektrometrie spojená s plynovou chromatografií, dostupné z www.primat.cz

