

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2021

Bc. Klára Kosková

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

GC-MS stanovení pesticidů ze vzorků vod

Bc. Klára Kosková

Diplomová práce

2021

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

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Klára Košková**  
Osobní číslo: **C19569**  
Studijní program: **N1407 Chemie**  
Studijní obor: **Analytická chemie**  
Téma práce: **GC-MS stanovení pesticidů ze vzorků vod**  
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

### Zásady pro vypracování

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

Rozsah pracovní zprávy:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Aleš Eisner, Ph.D.**

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce:

**5. února 2021**

Termín odevzdání diplomové práce:

**7. května 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**

děkan

---

**prof. Ing. Karel Ventura, CSc.**

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

## **Prohlášení**

Práci s názvem GC-MS stanovení pesticidů ze vzorků vod jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Bc. Klára Kosková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěla poděkovat Ing. Alešovi Eisnerovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a pomoc při vypracování této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Diplomová práce je věnována pesticidům ve vodách. Teoretická část je zaměřena na charakteristiku pesticidů a jejich rozdělení. Dále jsou zde popsány laboratorní metody pro stanovení pesticidů ve vodách. Experimentální část je zaměřena na optimalizaci separačních podmínek GC-MS, optimalizaci podmínek SPME a vybrání vhodného vlákna pro analýzu. Nakonec jsou zoptimalizované podmínky ověřeny na reálných vzorcích vody.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Pesticidy, extrakce, mikroextrakce tuhou fází, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

## **TITLE**

GC-MS determination of pesticides from water samples

## **ANNOTATION**

The thesis is devoted to pesticides in water. The theoretical part is focused on the characteristics of pesticides and their distribution. It also focused on laboratory methods for the determination of pesticides in water. The experimental part is focused on the optimization of GC-MS separation conditions, optimization of SPME conditions and selection of a suitable fibre for analysis. Finally, the optimized conditions are verified on real water sample.

## **KEYWORDS**

Pesticides, extraction, solid phase microextraction, gas chromatography, mass spectrometry

# OBSAH

OBSAH .....	8
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	10
SEZNAM TABULEK .....	12
SEZNAM ZKRATEK .....	13
ÚVOD .....	15
1 Teoretická část .....	16
1.1 Pesticidy .....	16
1.1.1 Herbicidy .....	17
1.1.2 Insekticidy .....	18
1.1.3 Fungicidy .....	20
1.1.4 Způsob aplikace .....	20
1.1.5 Vlastnosti pesticidů .....	21
1.2 Pesticidy ve vodách v ČR .....	22
1.3 Stanovení pesticidů .....	25
1.3.1 Úprava vzorku před stanovením .....	25
1.3.2 SPME .....	25
1.3.3 Plynová chromatografie (GC) .....	27
1.3.4 Spojení GC-MS .....	27
1.3.5 Hmotnostní spektrometrie .....	28
1.3.6 Tandemová hmotnostní spektrometrie .....	28
1.4 Metody pro stanovení pesticidů ve vodě .....	31
2 Experimentální část .....	33
2.1 Instrumentace .....	33
2.2 Použité chemikálie .....	34
2.3 Pracovní postup .....	34
2.3.1 Optimalizace separačních podmínek .....	34
2.3.2 Tvorba metody pro měření v režimu SIM .....	36
2.3.3 Vytvoření MRM metody .....	37



2.3.4	Optimalizace SPME .....	39
2.3.5	Kalibrační křivka .....	40
2.3.6	Měření uměle kontaminovaných vzorků.....	40
2.3.7	Měření reálných vzorků.....	41
3	Výsledky a diskuze .....	42
3.1	Optimalizace SPME .....	42
3.2	Výsledky kalibrační křivky.....	44
3.3	Výsledky uměle kontaminovaných vzorků .....	47
3.4	Výsledky reálných vzorků .....	47
	ZÁVĚR .....	53
	POUŽITÁ LITERATURA.....	54
	SEZNAM PŘÍLOH.....	57
	PŘÍLOHY.....	60

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Chemická struktura MCPA [2].....	17
<b>Obrázek 2:</b> Chemická struktura DDT [1].....	18
<b>Obrázek 3:</b> Chemická struktura TEPP [8].....	19
<b>Obrázek 4:</b> Chemická struktura karbarylu [8].....	19
<b>Obrázek 5:</b> Chemická struktura kaptanu [1].....	20
<b>Obrázek 6:</b> SPME [18].....	25
<b>Obrázek 7:</b> Schéma GC-MS [16] .....	28
<b>Obrázek 8:</b> Trojitý kvadrupól [8].....	29
<b>Obrázek 9:</b> Schéma skenu produktových iontů [29] .....	29
<b>Obrázek 10:</b> Schéma skenu prekurzorových iontů [29].....	30
<b>Obrázek 11:</b> Schéma skenu neutrální ztráty [21].....	30
<b>Obrázek 12:</b> Schéma monitorování vybraných reakcí [29] .....	30
<b>Obrázek 13:</b> Plochy píků jednotlivých látek v závislosti na používaném vlákne při extrakci 30 minut v roztoku 0,1 µg/l [32].....	31
<b>Obrázek 14:</b> Chromatogram po změření roztoku o koncentraci 5µg/l pomocí GC-MS: A-celkový sken, B-G-extrahované ionty pro dané látky [33].....	32
<b>Obrázek 15:</b> Plochy píků jednotlivých látek v závislosti na typu vlákna [33].....	32
<b>Obrázek 16:</b> Plynový chromatograf GC-2010 s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ8030 a s automatickým dávkovačem AOC-5000 .....	33
<b>Obrázek 17:</b> Analytické váhy HR-120-EC .....	32
<b>Obrázek 18:</b> Křemenné vlákno 75µm CAR/PDMS .....	34
<b>Obrázek 19:</b> Výsledný chromatogram standardní směsi EPA 8081 a hexanu (1:1) měřený v režimu SCAN: 1-TCMX, 2-α-BHC, 3-β-BHC, 4-lindan, 5-δ-BHC, 6-heptachlor, 7-aldrin, 8-heptachlor epoxid, 9-trans-chlordan, 10-endosulfan I., 11-cis-chlordan, 12-p,p'-DDE, 13- Dieldrin, 14-endrin, 15-endosulfan II., 16-p,p'-DDD, 17-endrin aldehyd, 18-endosulfan sulfát, 19-p,p'-DDT, 20-endrin keton, 21-metoxychlor, 22-DCB.....	35
<b>Obrázek 20:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro α-BHC.....	39
<b>Obrázek 21:</b> Mapa míst, kde byly odebrány vzorky .....	41
<b>Obrázek 22:</b> Plochy píků jednotlivých látek v závislosti na používaném vlákne k extrakci .....	42
<b>Obrázek 23:</b> Profily pro předpovědi a vhodnost pro látky: α-BHC, δ-BHC, heptachlor, aldrin a cis-chlordan .....	43
<b>Obrázek 24:</b> Předpovědi a profily pro látky: dieldrin, endosulfan II, endrin keton, p,p'-DDT a DCB .....	43
<b>Obrázek 25:</b> Graf pozorované vs. předpovědi pro látku α-BHC.....	44

<b>Obrázek 26:</b> Chromatogram vzorku 1 měřen v MRM režimu- 1- $\delta$ -BHC, 2-heptachlor, 3-aldrin, 4-cis-chlordan, 5-endosulfan II., 6-p,p'-DDT, 7-endrin keton, 8-DCB .....	48
<b>Obrázek 27:</b> Chromatogram vzorku 2 měřen v MRM režimu-1- $\delta$ -BHC, 2-heptachlor, 3-cis-chlordan, 4-p,p'-DDT, 5-DCB.....	49
<b>Obrázek 28:</b> Chromatogram vzorku 3 měřen v MRM režimu-1- $\delta$ -BHC, 2-aldrin, 3-cis-chlordan, 4-p,p'-DDT, 5-endrin keton, 6-DCB.....	49
<b>Obrázek 29:</b> Chromatogram vzorku 4 měřeno v MRM režimu-1- $\alpha$ -BHC, 2- $\delta$ -BHC, 3-heptachlor, 4-cis-chlordan, 5-p,p'-DDT, 6-DCB.....	50
<b>Obrázek 30:</b> Chromatogram vzorku 5 měřeno v MRM režimu- 1- $\delta$ -BHC, 2-cis-chlordan, 3-p,p'-DDT, 4-DCB.....	50
<b>Obrázek 31:</b> Chromatogram vzorku 6 měřeno v MRM-1-heptachlor,2-cis-chlordan, 3-p,p'-DDT, 4-DCB.....	51
<b>Obrázek 32:</b> Chromatogram vzorku 7 měřeno v MRM režimu- 1-heptachlor, 2-p,p'-DDT, 3-DCB .....	51

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Rozdělení pesticidů dle bezpečnosti [11] .....	22
<b>Tabulka 2:</b> Limit pesticidních látek v pitné vodě [13].....	23
<b>Tabulka 3:</b> Spotřeba POR a PP v jednotlivých letech v České republice [kg, l] [14] .....	23
<b>Tabulka 4:</b> Spotřeba účinných látek obsažených v POR v Pardubickém a Královéhradeckém kraji v roce 2016-2019 [14] .....	24
<b>Tabulka 5:</b> Přehled vláken používaných v SPME [21].....	26
<b>Tabulka 6:</b> Parametry GC .....	35
<b>Tabulka 7:</b> MS parametry .....	35
<b>Tabulka 8:</b> Retenční časy jednotlivých látek.....	36
<b>Tabulka 9:</b> Přehled kvantifikátorů a referenčních iontů pro jednotlivé látky .....	36
<b>Tabulka 10:</b> Přehled vybraných přechodů a vhodných kolizních energií pro MRM metodu .....	37
<b>Tabulka 11:</b> Podmínky jednotlivých extrakcí pro získání nejvhodnějších podmínek SPME z programu Statistica 12 .....	39
<b>Tabulka 12:</b> Validace metody.....	45
<b>Tabulka 13:</b> Parametry výsledné kalibrační křivky .....	46
<b>Tabulka 14:</b> Extrakční účinnost uměle kontaminovaných vzorků .....	47
<b>Tabulka 15:</b> Celkové výsledky vzorků 1-7 .....	52

## SEZNAM ZKRATEK

2,4-D	2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina
$\alpha$ -BHC	$\alpha$ -hexachlorcyklohexan
$\beta$ -BHC	$\beta$ -hexachlorcyklohexan
$\delta$ -BHC	$\delta$ -hexachlorcyklohexan
DCB	Decachlorbifenyl
DOE	Navrhování experimentu
DVB/CAR/PDMS	Divinylbenzen/carboxen/polydimethylsiloxan
CAR/PDMS	Carboxen/polydimethylsiloxan
CCD	Metoda centrálně kompozitního plánování
CID	Kolizně indukovaná disociace
ECD	Detektor elektronového záchytu
FID	Plamenové ionizační detektor
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LD <sub>50</sub>	Smrtelná dávka
LOQ	Limit kvantifikace
LOD	Limit detekce
MCPA	2-methyl-4-chlorfenoxyoctová kyselina
MRM	Monitorování vybraných reakcí
NMH	Nejvyšší mezní hodnota
PA	Polyakrylát
PDMS	Polymethylsiloxan
PIS	Scan produktových iontů
POR	Přípravky na ochranu rostlin
PP	Pomocné prostředky
SIM	Selektivní monitorování iontů
SPME	Mikroextrakce tuhou fází
TCD	Tepelně vodivostní detektor
TCMX	2,4,5,6-tetrachlor-m-xylen
TEPP	Tetraethylpyrofosfát
p,p'-DDD	p,p'-Dichlordifenyldichlorethan
p,p'-DDE	p,p'-dichlordifenyldichlorethylen
p,p'-DDT	p,p'-Dichlordifenyltrichlorethan
q	Druhý kvadrupól

Q1	První kvadrupól
Q2	Třetí kvadrupól
QqQ	Trojitý kvadrupól
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
VZ	Vzorek
WHO	Světová zdravotnická organizace

## ÚVOD

Pesticidy jsou chemikálie používané proti škodlivým živočichům, plevelům a parazitickým houbám, které ohrožují zemědělské, zahradní ale i lesní rostliny, zemědělské produkty, průmyslové materiály (textil, dřevo), zvířata a člověka [1]. V dnešní době si lze těžko představit zemědělskou výrobu bez použití těchto látek [2]. Většina vyráběných pesticidů se aplikuje v zemědělské výrobě, jako přípravek na ochranu rostlin [1]. Pesticidy se nejčastěji dělí podle použití proti škodlivým činitelům. Mezi nejdůležitější skupiny patří insekticidy, herbicidy a fungicidy.

Pesticidy obsažené ve vodách jsou důležitým faktorem pro kvalitu životního prostředí. V mnoha zemích došlo ke zvýšení používání pesticidů k získání dostatečného množství plodin, což způsobilo znečištění povrchových a podzemních vod. Pokud se kontaminanty z povrchových a podzemních vod dostanou do pitné vody mohou při vyšších koncentracích způsobovat problémy lidského zdraví [3].

Pro stanovení pesticidů ve vodách se používají různé analytické metody. Nejpoužívanější jsou LC-MS a GC-MS [4].

# 1 Teoretická část

## 1.1 Pesticidy

Pesticidem je látka nebo směs látek, přírodních nebo syntetických, vytvořených k prevenci proti škodlivým živočichům, plevelům a houbám, které ohrožují zemědělské, zahradní a lesní rostliny, zásoby potravin a zemědělské produkty [1]. Podle druhu použití existují různé třídy pesticidů [5]. Nejdůležitějšími a nejrozšířenějšími skupinami jsou herbicidy, insekticidy a fungicidy [1]. Pesticidy lze rozdělit podle několika hledisek. Nejčastějším dělením do skupin je rozdělení podle biologických účinků, chemického složení a způsobu působení na cílový organismus [1,6].

### Dle biologických účinků [1, 4]

- Herbicidy: používají se k hubení plevelů
- Fungicidy: působí proti chorobám, které vyvolávají houby a plísně
- Zoocidy: působí proti živým organismům
  - o Baktericidy: působí proti bakteriím
  - o Rodenticidy: působí proti hlodavcům
  - o Akaricidy: působí proti roztočům
  - o Nematocidy: působí proti červům
  - o Moluscotidy: působí proti měkkýšům
  - o Insekticidy: používají se proti škodlivému hmyzu

### Dle chemického složení [6, 7]

- Organochlorované deriváty
- Organofosfáty
- Karbamáty
- Pyrethroidy
- Pesticidy na bázi fenoxycetové kyseliny
- Pesticidy na bázi močoviny
- Triazinové a diazinové pesticidy
- Pesticidy na bázi dipyridilů
- Pesticidy na bázi kovů



## Dle způsobu působení [1]

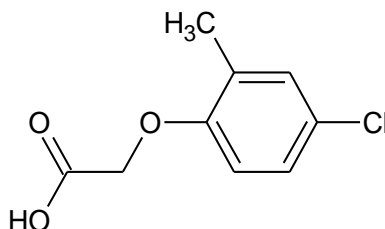
- Kontaktní: působící pesticidy nepronikají do rostlinné tkáně a zůstávají na povrchu ošetřených částí rostlin.
- Systémové: rychle pronikají kutikulou rostlinných buněk a jsou rozváděny cévním systémem
- Kombinované: kombinace kontaktního a systémového působení

### 1.1.1 Herbicidy

Herbicidy jsou jednou z hlavních skupin pesticidů. Jsou to prostředky, které se používají k hubení plevelů. Herbicidy se nejčastěji aplikují jako vodné roztoky, protože účinné látky jsou rozpustné ve vodě. Naopak herbicidní poprašky a přípravky pro aerosolovou aplikaci se používají málo, neboť dochází k zanášení látky na plodiny nebo půdu [2].

Herbicidy lze rozdělit na dvě skupiny. První skupinou jsou selektivní herbicidy, které se používají k ničení plevelů, aniž by byly poškozeny ostatní plodiny. Druhou skupinou jsou neselektivní herbicidy, které ničí veškerou vegetaci. Lze je aplikovat na listy rostlin, anebo na půdu, kde proniknou do podzemních částí rostliny (kořeny, oddenky) [8]. Dále také lze rozdělit herbicidy na dvě skupiny: anorganické a organické herbicidy [2]. Skupina anorganických herbicidů zahrnuje anorganické kyseliny a jejich soli, jako je chlorečnan sodný, síran železitý. Nejrozšířenější skupinou mezi organickými herbicidy jsou sloučeniny odvozeny od fenoxycetové kyseliny, kam se řadí např. 4-chlor-2-methylfenoxycetová kyselina a 2,4-dichlorfenoxycetová kyselina [8].

4-chlor-2-methylfenoxycetová kyselina neboli MCPA působí jako selektivní systémový herbicid [9]. Nalezl použití pro hubení širokolistých plevelů v obilovinách, vinné révě a v bramborách. Zahradníci často používají MCPA k úpravě trávníků pro odstranění pampelišek či jitrocele [1]. Chemická struktura je znázorněna na obrázku 1.



Obrázek 1: Chemická struktura MCPA [2]

### 1.1.2 Insekticidy

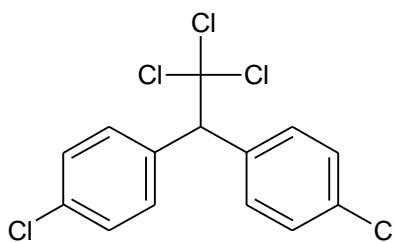
Insekticidy jsou druhou nejvýznamnější skupinou pesticidů, které se používají k zabíjení škodlivého hmyzu, anebo mu brání v chování, které je nepříznivé pro člověka [8]. Aplikují se buď před sklizní nebo po sklizni [10]. Insekticidy se připravují v různých formách, jako jsou popraše, granule, suspenze a emulze. Některé insekticidy se používají i v podobě návnad. Některé látky samy hmyz nehubí, ale pouze ho odpuzují nebo přitahují na místo, kde může být zničen. Tyto látky se nazývají repelenty a atraktanty [2].

Dříve se využívali především přírodní insekticidy, kam lze zařadit nikotin. Nikotin se používal jako zahradní postřik na mšice k ochraně ovocných stromů. V posledních letech se používají syntetické insekticidy [1]. Mezi nejdůležitější skupiny lze zařadit karbamáty, organofosforové insekticidy a organochlorované insekticidy [8].

#### Organochlorované insekticidy

Organochlorované insekticidy mají chemickou strukturu složenou z uhlíku, chloru, vodíku a někdy i s atomy kyslíku. Insekticidy, které patří do této skupiny se vyznačují přítomností cyklických uhlíkových řetězců. Organochlorované insekticidy jsou známé také jako chlorované uhlovodíky, chlorované organické látky a chlorované syntetické látky. Mezi zástupce této skupiny lze zařadit DDT [8].

DDT, 2,2-bis(p-chlorfenyl)-1,1,1-trichlorethan, je nejrozšířenějším nesystémovým kontaktním insekticidem ve světě, který se používal už za druhé světové války proti parazitům člověka. Po válce našlo uplatnění proti škůdcům zemědělských plodin a hmyzu přenášejícím nakažlivé nemoci [2]. Dnes je v mnoha zemích zakázán z důvodu nepříznivého vlivu na životní prostředí. Chemická struktura DDT je znázorněna na obrázku 2.



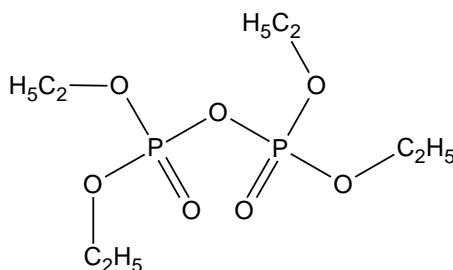
Obrázek 2: Chemická struktura DDT [1]

#### Organofosforové insekticidy

V předchozích letech mnoho zemí zakázalo některé organochlorované insekticidy (DDT), které byly nahrazeny organofosforovými insekticidy, jako je malathion a parathion [3]. Organofosforové sloučeniny patří mezi největší skupiny insekticidů, které se aktuálně

používají. Obecně jsou nejtoxičtějšími insekticidy pro hmyz a obratlovce. Zástupci této skupiny jsou odvozené od kyseliny fosforečné a thiofosforečné. Organofosforové insekticidy jsou kategorizovány jako alifatické, fenylové a heterocyklické deriváty. Alifatické organofosforové insekticidy jsou deriváty kyseliny fosforečné, které mají krátké lineární uhlíkové řetězce. Tetraethylpyrofosfát (TEPP), malathion, trichlorfon, dichlorvos jsou příklady této skupiny organofosforových insekticidů.

TEPP je první organofosforový insekticid zavedený v zemědělství. Je velmi nestabilní ve vodě a rychle se hydrolyzuje (12-24 hodin) po postřiku na plodiny. Protože TEPP je velmi toxický, nikdy nebyl k dispozici pro domácí použití. Na rozdíl od TEPP je malathion bezpečný pro domácí použití, a je tak nejpoužívanější alifatický organofosforový insekticid [8]. Chemická struktura TEPP je znázorněna na obrázku 3.

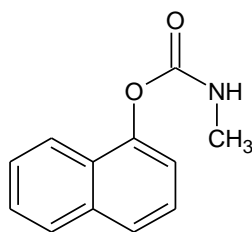


Obrázek 3: Chemická struktura TEPP [8]

## Karbamáty

Karbamáty jsou jednou z dalších skupin insekticidů. Na rozdíl od organofosfátových insekticidů nejsou karbamáty strukturně složité [11]. Mezi běžné příklady karbamátových insekticidů patří karbaryl, oxamyl, methiokarb a aldikarb [8].

Důležitým insekticidem této skupiny je karbaryl [8]. Je znám také pod chemickým názvem 1-naftyl-N-methylkarbamát (obrázek 4). Jedná se o kontaktní insekticid používaný na hubení škůdců (např. mandelince bramborové) napadající ovoce, zeleninu [2].

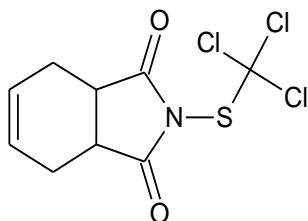


Obrázek 4: Chemická struktura karbarylu [8]

### 1.1.3 Fungicidy

Fungicidní látky jsou určeny proti houbám, které napadají rostliny a způsobují houbové choroby. Lze se setkat i s fungistatickým účinkem přípravků, kde účinná látka pozastavuje růst hub, ale neničí je [2].

Nejznámějším příkladem této skupiny je kaptan (obrázek 5). Kaptan, N-(trichlormethylthio)-4-cyklohexen-1,2-dikarboximid, je velmi účinný listový fungicid vhodný proti strupovitosti jabloní a proti černé skvrnitosti listů růže [1]. Látka má vynikající vlastnosti jako ochranný fungicid proti mnoha různým druhům patogenních hub napadajících ovoce a zeleninu [1].



Obrázek 5: Chemická struktura kaptanu [1]

### 1.1.4 Způsob aplikace

Nalezení správného typu finální formy pesticidu je důležité pro dosažení jeho optimálního účinku. Pesticidy lze aplikovat v několika formách. Většinou jsou používány ve formě postřiku, granulí nebo aerosolu. Úpravou se převádí aktivní složka na formu vhodnou pro aplikaci, a to buď přímo ve formě granulí nebo aerosolových postřiků, nebo nepřímo po smísení s vodou nebo jiným rozpouštědlem. Avšak úprava musí být taková, aby byla dosažena co nejvyšší účinnost aktivní složky, bezpečná pro skladování a transport [1].

Nejčastější formou je jejich použití ve formě vodných postřiků, kde jsou rozpuštěny, emulgovány nebo suspendovány ve vodě. Výhodou vodných postřiků, roztoků, emulzí a suspenzí je koncentrace. Vyrábí se vysoce koncentrované, avšak aplikují se silně zředěné [2].

V poslední době se nejčastěji uplatňuje granulovaná forma. Granule jsou ve velikosti 1-2 mm. Výhodou granulované formy je postupné uvolňování přítomného pesticidu. Tím se dosáhne delšího účinku přípravku [2]. Zároveň granule lze využít při větším větru bez odváti. Velmi často se vpravují přímo do půdy [1].

Aplikační formou mohou být také aerosolové přípravky. Výhodou je malá spotřeba. Nevýhodou u těchto přípravků je, že mohou být zaneseny větrem daleko od místa aplikace. Tento způsob byl vhodný spíše pro leteckou aplikaci [2].

### **1.1.5 Vlastnosti pesticidů**

Nejdůležitější vlastností, která je u pesticidů požadována, je vysoká a dobrá účinnost. Na účinnosti závisí množství aplikační dávky. Další z důležitých vlastností je rychlost účinku, kdy se očekává rychlý počáteční záběr a dlouhá účinnost. Významnou roli hrají také fyzikální vlastnosti, neboť na nich závisí forma, v jaké se přípravky vyrábějí a aplikují. Mezi tyto vlastnosti řadíme skupenství, rozpustnost v různých látkách a viskozitu. Stabilita pesticidů je také důležitá, neboť ji v různých podmínkách ovlivňuje teplota, světlo, vzduch, pH přípravku, a také vzájemné působení látek. Dalším kritériem je toxicita a bezpečnost pro lidi, živočichy a rostliny [2].

## 1.2 Pesticidy ve vodách v ČR

Rezidua pesticidů ve vodě mohou být problém nejen pro živé organismy, ale i pro člověka [3], který s nimi přijde do kontaktu při vdechování během přípravy či při aplikaci na plodiny. Pro většinu populace je nepříznivým účinkem požití potravin, které jsou kontaminovány pesticidy a spotřeba vody, která je taktéž kontaminována pesticidy [12]. Toxicita některých pesticidů může mít vliv na lidské zdraví a způsobovat křeče, nevolnost, zvracení, snížení účinnosti imunního systému a závratě. V nejhorším případě smrt během několika minut. Proto je nutná kontrola reziduí pesticidních látek v potravinářství i ve vodách [11].

Toxicita pro člověka a ostatní teplokrevné živočichy se zkouší na pokusných zvířatech. Vyjadřuje se hodnotou zvanou letální dávka. U pesticidů je obvykle uváděna hodnota LD<sub>50</sub>. Je to dávka pesticidu v miligramech na kilogram váhy pokusného živočicha, která způsobuje uhynutí 50 % zvířat, se kterými se pokus konal. Nejčastějšími živočichy jsou krysy. Nejčastěji se látka podává perorálně (ústí) nebo ve formě injekce (intravenózně do žíly, subkutánně pod kůži). Toxicita je definována jako škodlivý účinek pesticidů. Při posuzování škodlivosti pesticidu rozdělujeme toxicitu na akutní nebo chronickou. Akutní toxicita je pro člověka dána tzv. letální dávkou (LD<sub>50</sub>). Chronická toxicita definuje denní dávku určitého pesticidu (mg), která je přijatelná pro člověka. Před uvedením na trh je nutné, aby byl každý pesticid podroben toxikologickému výzkumu [2]. Světová zdravotnická organizace (WHO) klasifikuje toxicitu pesticidů do pěti skupin. Rozdělení je zobrazeno v tabulce 1 [11].

*Tabulka 1: Rozdělení pesticidů dle bezpečnosti [11]*

Toxicita	LD <sub>50</sub> pro laboratorního potkana [mg/kg]	
	Orálně	Dermálně
<b>Extrémně nebezpečné</b>	<5	<50
<b>Vysoce nebezpečné</b>	5-50	50-200
<b>Středně nebezpečné</b>	50-2000	200-2000
<b>Málo nebezpečné</b>	>2000	>2000
<b>Pravděpodobně bezpečné</b>	>5000	>5000

Velkoplošné aplikování pesticidů v podobě postřiků v zemědělství přispívá ke kontaminaci atmosféry. Působením některých faktorů (např. deštěm) se mohou pesticidní látky dostávat z nadzemních částí rostlin do půdy a poté jsou transportovány do podzemních a povrchových vod, které jsou zdrojem pitné vody [3, 12].

S ohledem na možnost expozice člověka reziduí pesticidů zavedla EU vyhlášku č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a rozsah kontroly. Limit pro jednu pesticidní látku je 0,1 µg/l a 0,5 µg/l pro součet všech pesticidních látek [13].

*Tabulka 2: Limit pesticidních látek v pitné vodě [13]*

	Zkratka	Limit	Typ limitu	Vysvětlivky
Pesticidní látky	PL	0,1 µg/l	NMH	24, 25
Pesticidní látky celkem	PLC	0,5 µg/l	NMH	24, 26

Vysvětlivky:

**24.** Pesticidními látkami se rozumí organické insekticidy, herbicidy, fungicidy, nematocidy, akaricidy, algicidy, rodenticidy, slimicidy, příbuzné produkty, mimo jiné regulátory růstu, a jejich relevantní metabolity.

**25.** Limitní hodnota platí pro každou jednotlivou pesticidní látku a její relevantní metabolit s výjimkou aldrinu, dieldrinu, heptachloru a heptachlorepoxydu, kde platí limitní hodnota 0,03 µg/l.

**26.** Limitní hodnota se vztahuje na součet jednotlivých stanovených a kvantitativně zjištěných pesticidních látek a jejich relevantních metabolitů. Není-li látka zjištěna kvantitativně, k součtu se přičítá nula. Uvádí-li laboratoř v protokolu výsledek ukazatele „pesticidní látky celkem“, musí zároveň uvést i výsledky všech stanovených jednotlivých pesticidních látek a jejich relevantních metabolitů.

Následující tabulka (tabulka 3) uvádí spotřeby jednotlivých pesticidů od roku 2016 do roku 2019. Spotřeba je uváděna v kg (l) za 1 rok. Statistická data jsou sestavena podle ÚKZÚZ v Brně.

*Tabulka 3: Spotřeba POR a PP v jednotlivých letech v České republice [kg, l] [14]*

Kategorie	2016	2017	2018	2019
<b>Zoocidy, mořidla</b>	1 117 902	1 106 035	1 079 220	1 023 723
<b>Herbicidy, desikanty</b>	6 108 874	6 046 744	5 504 059	5 078 194
<b>Fungicidy, mořidla</b>	3 782 240	3 896 299	3 659 154	3 850 985

<b>Kategorie</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
<b>Regulátory růstu</b>	1 145 151	1 320 472	1 057 910	1 059 740
<b>Rodenticidy</b>	129 128	61 981	71 570	202 485
<b>Ostatní*</b>	526 529	409 687	339 505	332 751
<b>Celkem</b>	<b>12 809 824</b>	<b>12 841 228</b>	<b>11 711 429</b>	<b>11 547 878</b>

\* pomocné prostředky na ochranu rostlin, repelenty a minerální oleje

Z těchto údajů vyplývá, že každoroční spotřeba jednotlivých pesticidů klesá, a to především spotřeba zoocidů, mořidel a herbicidů a desikantů. Naopak se zvýšila spotřeba rodenticidů, kdy spotřeba v roce 2016 byla 129 128 a v roce 2019 202 485. V roce 2019 také stoupla spotřeba mořidel a fungicidů oproti roku 2018.

*Tabulka 4: Spotřeba účinných látek obsažených v POR v Pardubickém a Královéhradeckém kraji v roce 2016-2019 [14]*

<b>Kraj</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
<b>Pardubický kraj</b>	255 891,94	254 833,74	227 881,97	221 343,19
<b>Královéhradecký kraj</b>	286 252,27	278 344,88	257 457,55	255 797,7

Jestliže porovnáme spotřebu účinných látek obsažených v POR v Pardubickém a Královéhradeckém kraji (tabulka 4), tak spotřeba v obou krajích každoročně klesá. Nejvyšší snížení však bylo v roce 2018. Statistická data jsou sestavena podle ÚKZÚZ v Brně.



## 1.3 Stanovení pesticidů

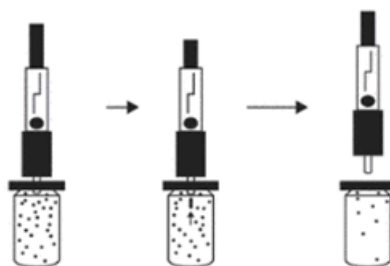
### 1.3.1 Úprava vzorku před stanovením

Před vlastním stanovením složek vody je velmi často třeba vzorek upravit. Analytický postup pro složité vzorky se stává z několika kroků, které obvykle zahrnují odběr vzorku, přípravu vzorku, identifikaci a vyhodnocení. Každý krok je zásadní pro získání správných výsledků [15, 16]. Cílem kroku přípravy vzorku je izolovat stanovované složky z matrice vzorku, která tak zahrnuje extrakční postupy, někdy také může zahrnovat čistící operace. Během separačního kroku analytického procesu se izolovaná komplexní směs obsahující cílové stanovované látky rozdělí na jednotlivé složky, obvykle pomocí chromatografických metod [16].

### 1.3.2 SPME

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) byla vyvinuta v roce 1989 jako zjednodušená metoda extrakce těkavých kontaminujících látek z vody bez rozpouštědel [17]. Tato metoda je jednou z nejpoužívanějších metod, která se využívá k přípravě vzorků před analýzou za účelem získání stanovovaných látek. SPME se široce používá v chemické analýze pro vzorkování širokého spektra stanovovaných látek ze vzorků např. z biologického, enviromentálního nebo potravinářského průmyslu [18].

Zařízení SPME (obrázek 6) využívá tavené křemenné vlákno potažené různými typy stacionárních fází, které je umístěno uvnitř kovové jehly, která je součástí mikrostříkačky [17, 19]. Vlákno se vsune pomocí pístu do jehly mikrostříkačky a následně se propíchnou nádobka se vzorkem. Vlákno se z jehly vysune pomocí pístu do kapaliny nebo do plynné fáze a stanovované látky se zachytí na stacionární fázi. Po dosažení sorpční rovnováhy se zasune zpět do jehly a jehla se vytáhne a vloží do nástřikového prostoru plynového chromatografu. Prostor plynového chromatografu je vyhříván na požadovanou teplotu. Výhodou této metody je nízké pořizovací cena, jednoduchost a krátká doba extrakce [18, 20].



Obrázek 6: SPME [18]

Nejpoužívanější vlákno pro nepolární látky je polymethylsiloxan (PDMS) a pro polární látky polyakrylát (PA) [17]. Nevázané fáze jsou stabilní v organických rozpouštědlech mísitelných s vodou, ve kterých mohou slabě bobtnat. Nikdy nesmí být čištěny nepolárními organickými rozpouštědly. Vázané fáze jsou stabilní ve všech organických rozpouštědlech, avšak v některých nepolárních rozpouštědlech mohou bobtnat. Jednotlivé vlákna a jejich vlastnosti jsou shrnuty v tabulce 5 [21].

Tabulka 5: Přehled vláken používaných v SPME [21]

Stacionární fáze/ tloušťka vrstvy	Zkratka názevu stacionární fáze	Typ fáze	Určeno pro chromatografii	Doporučeno pro chromatografii
<b>Polydimethylsiloxan</b> 100 μm  30 μm  7 μm	PDMS	Nevázaná  Nevázaná  Vázaná	GC/HPLC  GC/HPLC  GC/HPLC	Těkavé látky Nepolární, středně těkavé látky Slabě polární až nepolární Středně těkavé látky
<b>Polydimethylsiloxan/ divinylbenzen</b> 65 μm 60 μm	PDMS/DVB	Vázaná	GC HPLC	
<b>StableFlex™</b> 65 μm <b>Polyakrylát</b>  85 μm	PA	vázaná	GC  GC/HPLC	Polární, středně těkavé látky
<b>Carboxen™/ polydimethylsiloxan</b>  75 μm	CAR™/PDMS	vázaná		Stopové koncentrace těkavých látek
<b>StableFlex™</b> 85 μm			GC	
<b>Carbowax™/ divinylbenzen</b> 65 μm	CW™/DVB		GC	Polární látky
<b>StableFlex™</b> 70 μm			GC	
<b>Carbowax™/prysky řice</b>  50 μm	CW™/TPR		HPLC	Povrchově aktivní látky (pouze HPLC)

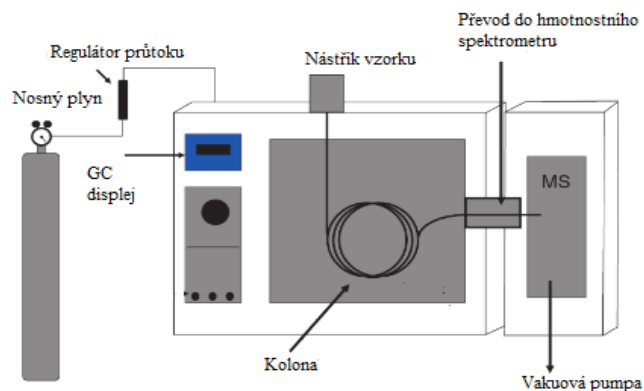
Stacionární fáze/ tloušťka vrstvy	Zkratka názvu stacionární fáze	Typ fáze	Určeno pro chromatografii	Doporučeno pro chromatografii
<b>Divinylbenzen/Carbo xen<sup>TM</sup>/</b> <b>Polydimethylsiloxan</b> 50 μm /30 μm 50 μm /30 μm	DVB/CAR <sup>TM</sup> / PDMS		GC GC	Těkavé a středně těkavé látky C3-C20

### 1.3.3 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie popisuje všechny chromatografické metody, ve kterých je mobilní fází plyn. Jedná se tak o dobře zavedenou analytickou techniku, která se běžně využívá ve většině průmyslových a akademických laboratořích. Výhodou plynové chromatografie je vysoká citlivost, selektivita a vysoké rozlišení. Plynová chromatografie může zahrnovat buď pevnou stacionární fázi nebo kapalnou stacionární fázi zachycenou na pevném sorbentu. Kapalný nebo plynný vzorek se zavádí do vyhřívaného prostoru, kde se ihned vypaří a je unášen proudem mobilní fáze do chromatografické kolony umístěné v termostatu, kde dochází k oddělování jednotlivých složek směsi. Mobilní fáze se také označuje jako nosný plyn. Nosným plynem je helium nebo dusík [22]. Poté jednotlivé komponenty vyvolávají v detektoru signál, kde se získá záznam a lze tak identifikovat složky vzorku podle jejich retenčních charakteristik v porovnání se standardy. Jako detektor se používají např. FID, ECD nebo TCD [23]. Při analýze plynovým chromatografem je nutné dbát na výběr nosného plynu, typ chromatografické kolony, stacionární fázi, teploty kolony a typ detektoru [22].

### 1.3.4 Spojení GC-MS

Plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie je nejběžnější analytickou metodou pro identifikaci a kvantifikaci organických látek ve složitých matricích. Tato metoda je nepostradatelná v oborech environmentální vědy, forenzní vědy, zdravotnictví, lékařského a biologického výzkumu. Plynový chromatograf odděluje složky směsi v čase a hmotnostní spektrometr poskytuje informace, které napomáhají strukturní identifikaci každé složky [16]. Tato kombinace má několik výhod. Nejprve odděluje složky komplexní směsi tak, aby bylo možné získat spektra jednotlivých sloučenin pro kvalitativní účely a může tak poskytnout informace o sloučeninách. Ionizační techniky hmotnostní spektrometrie, které vyžadují látku v plynné fázi, jsou ideální pro GC-MS, protože těkavost vzorku je požadavkem plynové chromatografie (GC) [16]. Spojení těchto metod je znázorněno na obrázku 7.



Obrázek 7: Schéma GC-MS [16]

### 1.3.5 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je analytická metoda, jejímž principem je převedení molekul na ionty. Ionty se od sebe oddělují podle efektivní hmotnosti a náboje ( $m/z$ ). Záznamem je hmotnostní spektrum jednotlivých iontů [24]. Výhodou této analytické metody je vysoká citlivost, určení molekulové hmotnosti a minimální spotřeba vzorku. Naopak nevýhodou jsou vysoké pořizovací a provozní náklady [25].

Základními částmi hmotnostního spektrometru je iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor. Iontový zdroj slouží k převedení neutrálních molekul stanovované látky na nabitě částice. Hmotnostní analyzátor rozděljuje ionty v plynné fázi za vysokého vakua podle poměru hmotnosti a náboje. Funkcí detektoru je detekce iontů po jejich rozdělení podle  $m/z$  a k určení efektivní hmotnosti jednotlivých iontů. Dalšími důležitými částmi přístroje je vakuový systém, iontová optika, které urychluje a fokusuje ionty a počítač [25].

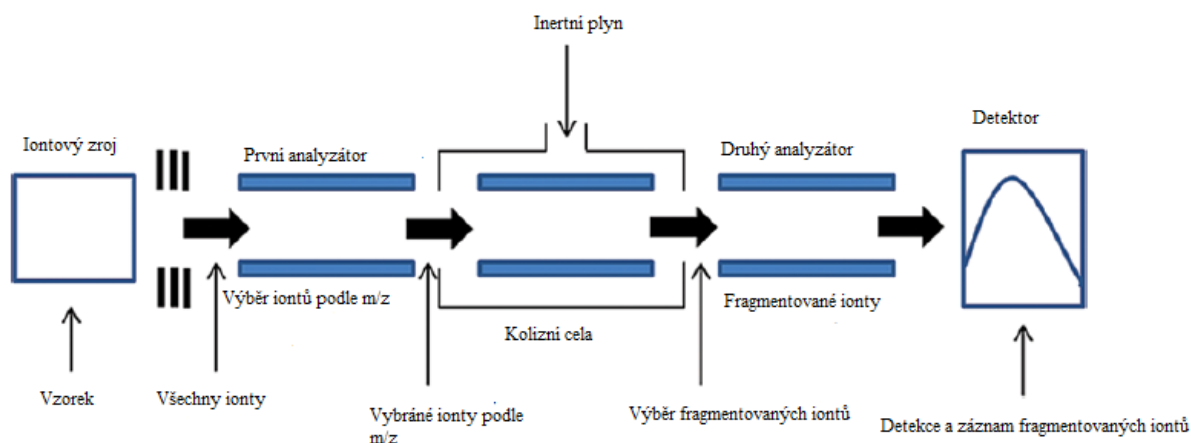
### 1.3.6 Tandemová hmotnostní spektrometrie

Tandemová hmotnostní spektrometrie, známá také jako MS/MS, je citlivá metoda, která umožňuje rychlou analýzu a bývá spojená se separační metodou např. s plynovou nebo kapalinovou chromatografií. Metoda je založena na generování iontů a využití dvou analyzátorů, které jsou odděleny kolizní celou [26].

#### Trojité kvadrupól

Nejběžnějším analyzátozem pro tandemovou spektrometrii je trojitý kvadrupól (QqQ). Schéma je uvedeno na obrázku 8. První kvadrupól (Q1) a třetí kvadrupól (Q3) slouží jako hmotnostní analyzátoři. První kvadrupól vybírá ionty o určitém poměru hmotnosti a náboje.

Druhý kvadrupól (q) slouží jako kolizní cela, kde se srazí vybrané ionty z prvního kvadrupólu s molekulami inertního plynu (např. argonu, dusíku) při vyšším tlaku a dochází k disociaci (tzv. kolizně indukovaná disociace, CID) za vzniku fragmentů iontů. Fragmentové ionty jsou analyzovány ve třetím kvadrupólu, který slouží jako detektor [27, 28]

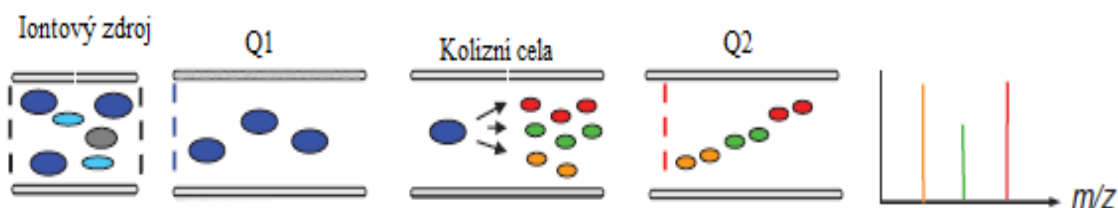


Obrázek 8: Trojitý kvadrupól [8]

Trojité kvadrupól může pracovat ve čtyřech skenovacích režimech:

### 1. Sken produktových iontů

V tomto režimu jsou prekurzorem vybrané ionty, které se vybírají v první kvadrupólu (Q1) a propouští ionty s určenou hodnotou  $m/z$ . V kolizní cele dojde k fragmentaci iontů a ionty pokračují do třetího kvadrupólu (Q2). Tímto režimem lze získat kompletní informaci o fragmentaci vybraných iontů [31]. Používá se hlavně pro identifikaci látek, neboť přináší informace o struktuře látky [29, 30]. Schéma je znázorněno na obrázku 9.



Obrázek 9: Schéma skenu produktových iontů [29]

### 2. Sken prekurzorových iontů

Sken prekurzorových iontů (obrázek 10) je založen na opačném principu než sken produktových iontů. V režimu prekurzorovaných iontů první kvadrupól (Q1) propustí všechny

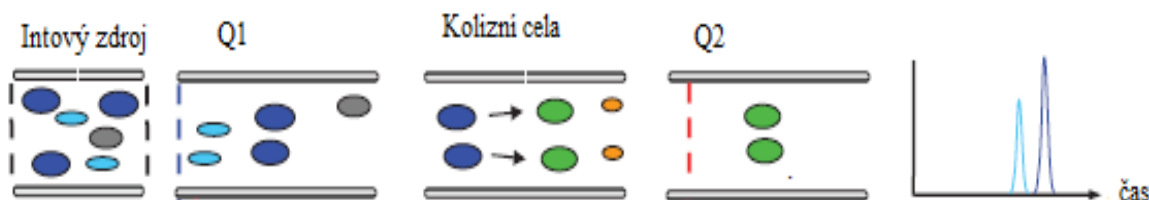
prekurzorové ionty, které jsou fragmentovány v kolizní cele. Ve třetím kvadrupólu (Q2) se vybere jeden iont o hodnotě  $m/z$ , který je poté detekován [30]. Tato metoda se obvykle používá k detekci vzorků, které obsahují konkrétní funkční skupinu např. fosfátový ester [29].



Obrázek 10: Schéma skenu prekurzorových iontů [29]

### 3. Sken neutrální ztráty

Tento způsob skenování využívá synchronizované skenování obou analyzátorů (Q1 a Q2), kdy zůstává hmotnostní rozdíl iontů procházející Q1 a Q2 konstantní [29]. Hmotnostní rozdíl odpovídá neutrálnímu fragmentu, který vznikl v kolizní cele. Využití přináší v případě deprivatizace, kdy navázaná funkční skupina zvyšuje ionizaci a současně při fragmentaci poskytuje neutrální fragment [31]. Schéma je zobrazeno na obrázku 11.



Obrázek 11: Schéma skenu neutrální ztráty [21]

### 4. Monitorování vybraných reakcí

Monitorování vybraných reakcí, označováno také jako MRM, se používá kvůli vysoké citlivosti a selektivitě. V prvním kvadrupólu (Q1) se vybere jeden prekurzorový iont, který je následně fragmentován v kolizní cele. V třetím kvadrupólu (Q2) se vybere jeho produktový iont [29]. Schéma je znázorněno na obrázku 12.



Obrázek 12: Schéma monitorování vybraných reakcí [29]

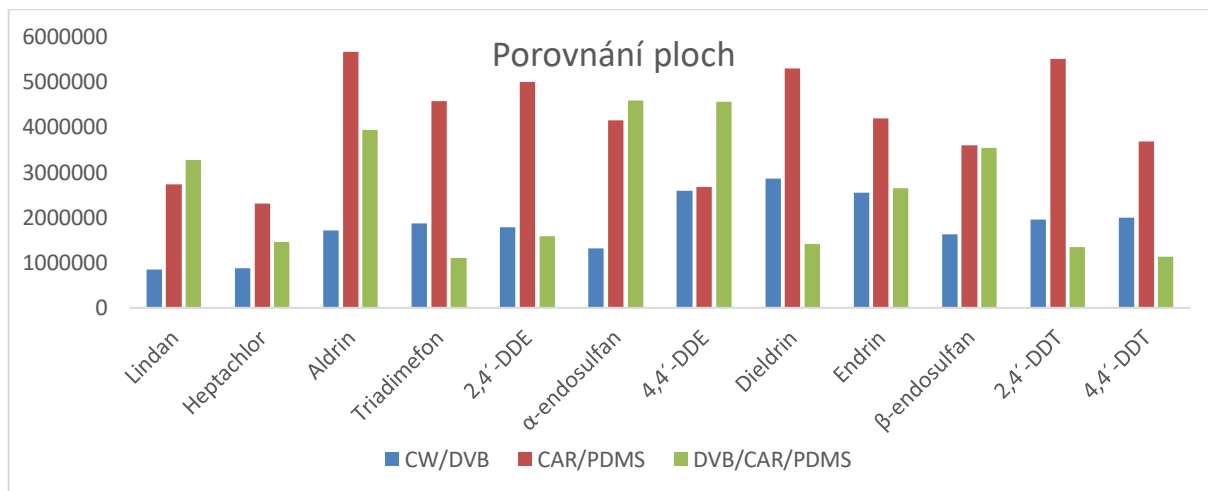
## 1.4 Metody pro stanovení pesticidů ve vodě

V roce 2002 J.P. Pérez-Trujillo a spol. [32] popsali postup pro stanovení organochlorovaných pesticidů ve vzorcích vod pomocí GC ve spojení s SPME. Pro extrakci 12 látek byly vybrány tři vlákna: 65  $\mu\text{m}$  CW/DVB, 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS a 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS všechny od společnosti Supelco (Bellefonte, PA, USA). Všechny extrakce byly provedeny v nádobkách z tmavého skla při extrakčním čase 1, 5, 10, 15, 20, 30 a 50 minut v roztoku o koncentraci 0,1  $\mu\text{g/l}$ .

Pro stanovení byl použit plynový chromatograf značky Varian 3400 (Walnut Creek, CA, USA) s hmotnostním spektrometrem Saturn 2000 od společnosti Varian (Sunnyvale, USA)

V teplotním programu byla nastavena počáteční teplota na 70  $^{\circ}\text{C}$ , která byla udržována 3 minuty a následně zvýšena 25  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  na teplotu 180  $^{\circ}\text{C}$  a udržována 1 minut. Nakonec byl teplotní nárůst 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  na teplotu 300  $^{\circ}\text{C}$  a teplota byla udržována 10 minut. Výsledný chromatogram je zobrazen na obrázku 13.

Při porovnání všech vláken dosahovalo nejlepších výsledků vlákno CAR/PDMS při extrakci SPME v extrakčním čase 30 minut bez přídavku soli [32].



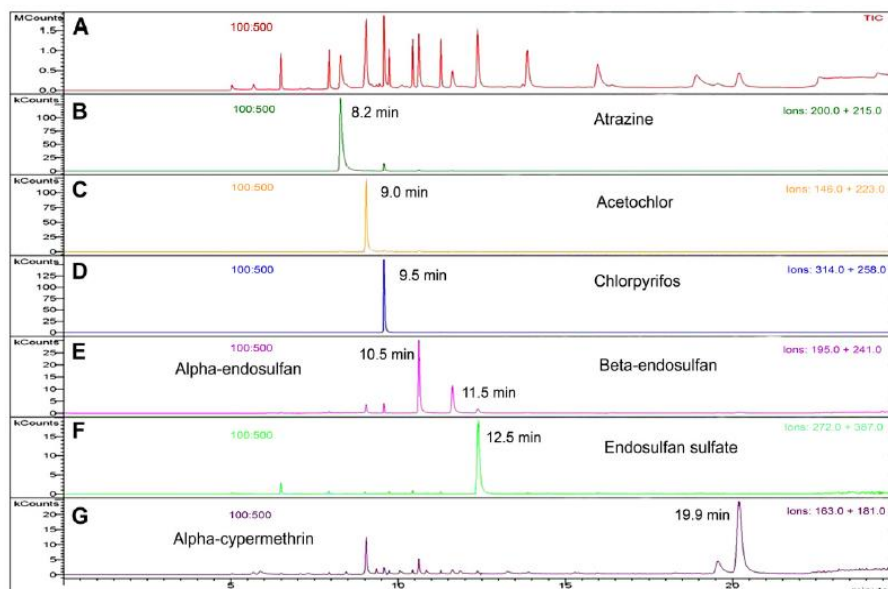
**Obrázek 13:** Plochy piků jednotlivých látek v závislosti na používaném vlákně při extrakci 30 minut v roztoku 0,1  $\mu\text{g/l}$  [32]

V roce 2013 Rocío Inés Bonansea a spol. [33] zveřejnili článek, který se zabýval SPME ve spojitosti s GC-MS při analýze pesticidů (chlorpyrifos,  $\beta$ -endosulfan,  $\alpha$ -cypermethin, acetochlor,  $\alpha$ -endosulfan atrazin a endosulfan sulfát) z řeky Suguía v Argentině.

Pro extrakci SPME byly použita vlákna 100  $\mu\text{m}$  PDMS, 85  $\mu\text{m}$  PA, 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS a 50  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS/DVB. Pro tuto studii byly zohledněny různé teploty extrakce (50 a 70  $^{\circ}\text{C}$ ) a doba extrakce (20 a 30 minut) a pH vzorku 6. Pro stanovení látek se použil plynový chromatograf (Varian 3800, USA) s hmotnostním spektrometrem Varian Saturn 2200 od společnosti Varian (USA). Látky byly děleny na koloně 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  od

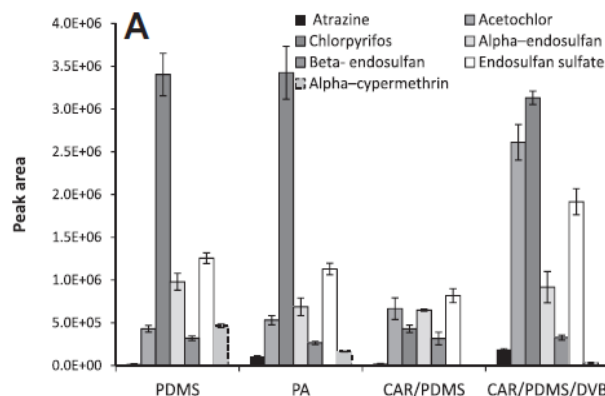
společnosti Varian (USA).

Teplotní program plynového chromatografu byl nastaven na počáteční teplotu 100 °C (držena 1 minutu), poté zvýšena teplota na 150 °C při 25 °C/min, poté zvýšená teplota na 200 °C při 10 °C/min, následně teplota zvýšena na 250 °C při 30 °C/min (držena 10,33 min) a teplota zvýšena na 280 °C při 30 °C/min (držena 2 minuty). Celková doba analýzy byla 25 minut. Rozsah m/z na hmotnostním spektrometru byl nastaven na hodnotu 100-500.



**Obrázek 14:** Chromatogram po změření roztoku o koncentraci 5 µg/l pomocí GC-MS: A-celkový sken, B-G-extrahované ionty pro dané látky [33]

Vláknó CAR-PDMS-DVB prokázalo lepší detekci látek atrazinu, acetochloru a endosulfansulfátu. Toto vlákno však vykazovalo nejnižší citlivost hodnotu pro  $\alpha$ -cypermethrin. Naproti tomu vlákno PDMS bylo lepší pro  $\alpha$ -cypermethrin, ale nejhorší pro atrazin. Vlákno CAR-PDMS mělo vždy nižší odezvy pro všechny látky (obrázek 15). Kvůli potřebě zvýšit detekci  $\alpha$ -cypermethrinu bylo vybráno vlákno PA. Jako nejlepší extrakční teplota byla vyhodnocena 70 °C a extrakční čas 30 minut.



**Obrázek 15:** Plochy piků jednotlivých látek v závislosti na typu vlákna [33]

Podle očekávání byly nejvyšší koncentrace pesticidů pozorovány v oblastech, kde je blízko zemědělství. Byl zde nalezen atrazin (max. = 433,9 ng/l),  $\alpha$ -cypermethrin (max. = 121,7 ng/l) a endosulfan sulfát (max. = 106,7 ng/l) [33].



## 2 Experimentální část

### 2.1 Instrumentace

Pro stanovení a analýzu pesticidů ve vodě byl použit plynový chromatograf GC-2010 spojeném s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ8030 od společnosti Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Součástí GC-MS byl trojitý kvadrupólový hmotnostní analyzátor. Helium o čistotě 5.0 od firmy Linde (Praha, Česká republika) bylo použito jako nosný plyn. Pesticidy byly děleny na kapilární koloně značky RTX-TNT o délce 30 m, tloušťce filmu 0,25  $\mu\text{m}$  a vnitřním průměru 0,25 mm (Restec, USA). Pro dávkování vzorků byl použit automatický dávkovač AOC-5000 od firmy Shimadzu (Kyoto, Japonsko). Přístroj je zobrazen na obrázku 16.



*Obrázek 16: Plynový chromatograf GC-2010 s hmotnostním spektrometrem GCMS-TQ8030 a s automatickým dávkovačem AOC-5000*

K navažování pevných chemikálií byly použity analytické váhy HR-120-EC od společnosti A&D instruments LTD (Tokyo, Japonsko), které jsou znázorněné na obrázku 17. Dále pro extrakci pomocí SPME byly použity tři vlákna 75 $\mu\text{m}$  CAR/PDMS (obrázek 18), 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS a 100 $\mu\text{m}$  PDMS všechny od společnosti Supelco (Bellefonte, PA, USA).



Obrázek 17: Analytické váhy HR-120-EC



Obrázek 18: Křemenné vlákno 75µm CAR/PDMS

## 2.2 Použité chemikálie

Chlorid sodný p.a. – Penta s.r.o., Česká republika

Hexan – Sigma – Aldrich, Německo

Destilovaná voda – Univerzita Pardubice, Česká republika

Standardní směs EPA 8081 o koncentraci 200 µg/ml, která obsahuje tyto látky: TCMX,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC, Lindan,  $\delta$ -BHC, heptachlor, aldrin, heptachlor epoxid, trans-chlordan, endosulfan I., cis-chlordan, p,p'-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II., p,p'-DDD, endrin aldehyd, endosulfan sulfát, p,p'-DDT, endrin keton, metoxychlor, DCB – Sigma Aldrich, Německo

## 2.3 Pracovní postup

### 2.3.1 Optimalizace separačních podmínek

Nejprve bylo nutné optimalizovat separační podmínky. Pro tuto analýzu se použil roztok standardní směsi EPA 8081 a hexanu v objemovém poměru 1:1, který byl měřen pomocí GC-MS v režimu SCAN. Byla upravována teplota kolony, teplota nástřiku a teplotní program, tak aby byly látky od sebe odděleny a nalezeny optimální podmínky separace. V teplotním programu byla nastavena počáteční teplota na 40 °C po dobu 2 minut, následné zvýšení o 15 °C/min na konečnou teplotu 325 °C po dobu 5 minut. Další podmínky jsou uvedeny v tabulkách 6 a 7.

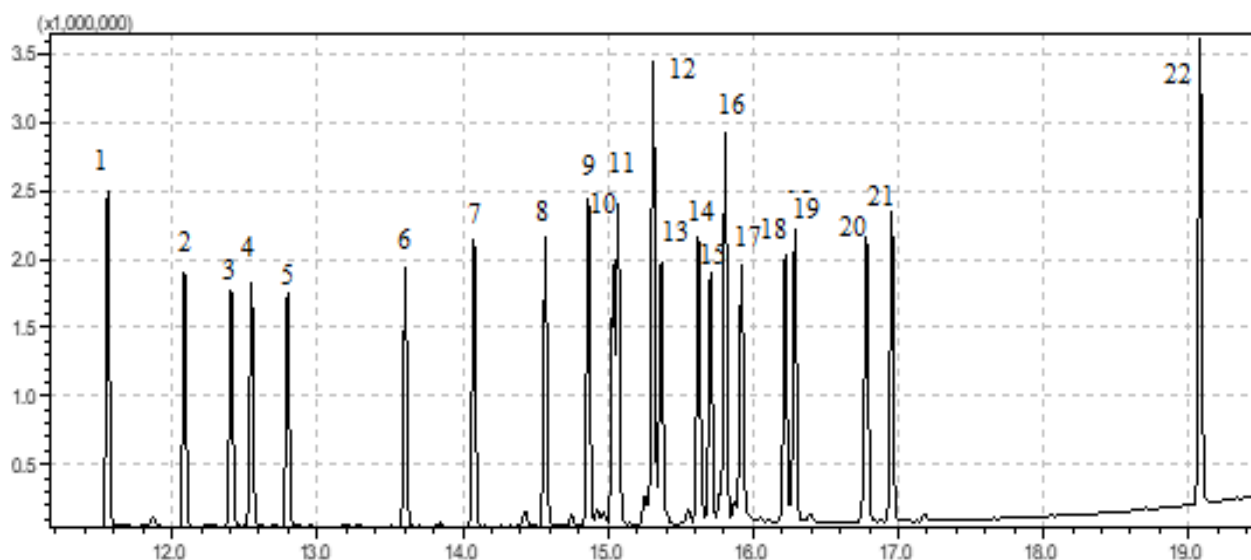
Tabulka 6: Parametry GC

GC parametry	
Teplota kolony	40 °C
Teplota nástřiku	250 °C
Mód kontroly průtoku	Lineární rychlost, 30 cm/s
Dělicí poměr	1:10
Dávkování objem	1 µl
Způsob nástřiku	split

Tabulka 7: MS parametry

MS parametry	
Teplota iontového zdroje	200 °C
Teplota rozhraní mezi GC a MS	200 °C
Napětí detektoru	Podle výsledků ladění
Hodnoty měřených hodnot m/z	45-500

Získaný chromatogram za optimalizovaných podmínek separace je na obrázku 19. Jednotlivé látky byly porovnány s knihovnami hmotnostních spekter (Wiley 229 a Nist 11). Retenční časy jednotlivých látek jsou uvedeny v tabulce 8.



**Obrázek 19:** Výsledný chromatogram standardní směsi EPA 8081 a hexanu (1:1) měřený v režimu SCAN: 1-TCMX, 2- $\alpha$ -BHC, 3- $\beta$ -BHC, 4-lindan, 5- $\delta$ -BHC, 6-heptachlor, 7-aldrin, 8-heptachlor epoxid, 9-trans-chlordan, 10-endosulfan I., 11-cis-chlordan, 12-*p,p'*-DDE, 13- Dieldrin, 14-endrin, 15-endosulfan II., 16-*p,p'*-DDD, 17-endrin aldehyd, 18-endosulfan sulfát, 19-*p,p'*-DDT, 20-endrin keton, 21-metoxychlor, 22-DCB

Tabulka 8: Retenční časy jednotlivých látek

Látka	Retenční čas [min]	Látka	Retenční čas [min]
TCMX	11,55	p,p'-DDE	15,31
$\alpha$ -BHC	12,08	Dieldrin	15,37
$\beta$ -BHC	12,41	Endrin	15,62
Lindan	12,55	Endosulfan II.	15,71
$\delta$ -BHC	12,79	p,p'-DDD	15,81
Heptachlor	13,60	Endrin aldehyd	15,92
Aldrin	14,08	Endosulfan sulfát	16,22
Heptachlor epoxid	14,57	p,p'-DDT	16,29
Trans-chlordan	14,86	Endrin keton	16,78
Endosulfan I.	15,03	Metoxychlor	16,95
Cis-chlordan	15,07	DCB	19,08

### 2.3.2 Tvorba metody pro měření v režimu SIM

Z režimu SCAN byla získána hmotnostní spektra jednotlivých látek. Následně z těchto hmotnostních spekter byl vybrán jeden kvantifikátor, což je většinou hmota s největší intenzitou a dva referenční ionty pro měření v režimu SIM. V režimu SIM byl měřen roztok standardní směsi EPA 8081 a hexanu v objemovém poměru 1:1. Hodnota napětí na detektoru byla zvolena podle výsledků ladění. Režim SIM poskytuje vyšší citlivost než režim SCAN. Hmotnostní spektra jsou zobrazeny v příloze 1-22. Jednotlivé kvantifikátory a referenční ionty jsou uvedeny v tabulce 9.

Tabulka 9: Přehled kvantifikátorů a referenčních iontů pro jednotlivé látky

Látka	Kvantif. [m/z]	Ref. iont 1 [m/z]	Ref. iont 2 [m/z]	Látka	Kvantif. [m/z]	Ref. iont 1 [m/z]	Ref. iont 2 [m/z]
TCMX	207	244	209	p,p'-DDE	246	318	248
$\alpha$ -BHC	181	219	183	Dieldrin	79	263	51
$\beta$ -BHC	181	219	183	Endrin	81	263	190
Lindan	181	219	183	Endosulfan II.	159	195	125
$\delta$ -BHC	181	219	183	p,p'-DDD	235	165	199

Látka	Kvantif. [m/z]	Ref. iont 1 [m/z]	Ref. iont 2 [m/z]	Látka	Kvantif. [m/z]	Ref. iont 1 [m/z]	Ref. iont 2 [m/z]
Heptachlor	100	272	236	Endrin aldehyd	67	345	209
Aldrin	66	263	190	Endosulfan sulfát	272	229	159
Heptachlor epoxid	353	263	281	p,p'-DDT	235	165	199
Trans- chlordan	373	237	265	Endrin keton	67	317	281
Endosulfan I.	159	195	125	Metoxychlor	227	212	141
Cis-chlordan	373	237	265	DCB	498	428	357

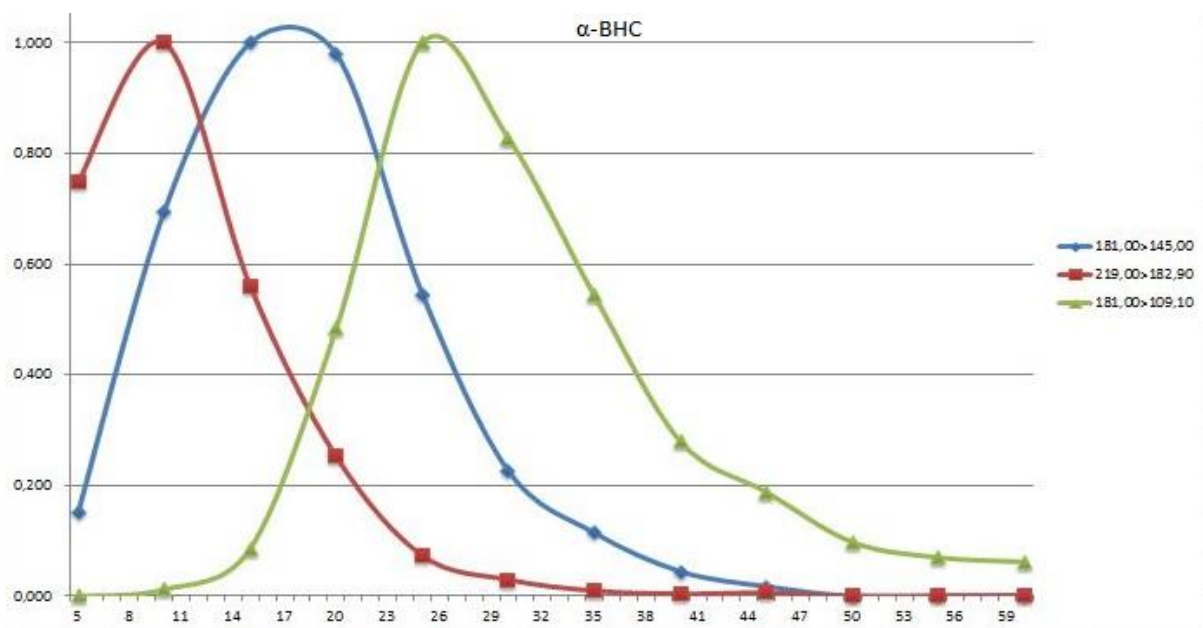
### 2.3.3 Vytvoření MRM metody

Z chromatogramu, který byl měřen v režimu SCAN byla vytvořena metoda v režimu PIS (režim scanu produktových iontů), kdy byl roztok standardní směsi a hexanu (1:1) změřen při různých kolizních energiích. Kolizní energie byla nastavena v rozmezí od 5 kV do 60 kV. Následně z naměřených dat byly vyhodnoceny nejintenzivnější MRM přechody jednotlivých produktových iontů látek pomocí funkce Smart MRM/SIM. MRM metoda je v porovnání se SCAN a SIM metodou nejcitlivější. Vybrané přechody jsou uvedeny v tabulce 10. Grafické znázornění vybraných přechodů a vhodných kolizních energií pro MRM metodu je na obrázku 20. Pro další látky je grafické znázornění v přílohách 23-31.

*Tabulka 10: Přehled vybraných přechodů a vhodných kolizních energií pro MRM metodu*

Látka	Vybrané přechody	Kolizní energie [kV]	Látka	Vybrané přechody	Kolizní energie [kV]
TCMX	207 → 136	20	p,p'-DDE	246 → 176	25
	244 → 209	15		318 → 248	25
	207 → 172	15		318 → 246	25
α-BHC	181 → 145	15	Dieldrin	79 → 77	15
	219 → 182	10		79 → 51	25
	181 → 109	25		263 → 193	30

<b>Látka</b>	<b>Vybrané přechody</b>	<b>Kolizní energie [kV]</b>	<b>Látka</b>	<b>Vybrané přechody</b>	<b>Kolizní energie [kV]</b>
β-BHC	181 → 145	15	Endrin	263 → 192	30
	219 → 182	10		263 → 190	35
	181 → 109	25		81 → 53	15
Lindan	181 → 145	15	Endosulfan II.	195 → 125	25
	219 → 182	10		195 → 125	25
	181 → 109	25		195 → 159	10
δ-BHC	181 → 145	15	p,p'-DDD	235 → 165	25
	219 → 182	10		235 → 199	20
	181 → 109	25		235 → 163	45
Heptachlor	100 → 65	15	Endrin aldehyd	67 → 65	10
	272 → 236	20		345 → 209	35
	272 → 234	20		345 → 245	20
Aldrin	263 → 192	30	Endosulfan sulfát	272 → 236	20
	263 → 190	30		229 → 159	30
	263 → 227	20		229 → 157	30
Heptachlor epoxid	353 → 263	20	p,p'-DDT	235 → 165	25
	353 → 282	20		235 → 199	20
	353 → 22	25		165 → 163	30
Trans-chlordan	373 → 266	25	Endrin keton	317 → 101	20
	373 → 266	30		317 → 281	10
	373 → 264	25		317 → 245	20
Endosulfan I.	195 → 125	25	Metoxychlor	227 → 169	25
	195 → 125	25		227 → 141	30
	195 → 160	10		227 → 212	15
Cis-chlordan	373 → 266	25	DCB	498 → 428	35
	373 → 266	30		428 → 357	35
	373 → 264	30		428 → 355	35



Obrázek 20: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro  $\alpha$ -BHC

### 2.3.4 Optimalizace SPME

Pro optimalizaci SPME byla použita tři různá vlákna – 75 $\mu$ m CAR/PDMS, 50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS a 100  $\mu$ m PDMS všechny od společnosti Supelco (Bellefonte, PA, USA). Před optimalizací proběhla kondicionace každého vlákna. K optimalizaci byl připraven roztok o přibližné koncentraci 0,1  $\mu$ g/ml a byl změřen při inkubační teplotě 40  $^{\circ}$ C a extrakčním čase 20 min v režimu MRM při napětí detektoru 2,5 kV. Tento roztok byl extrahován všemi třemi vlákny.

Kromě výběru správného vlákna pro SPME je důležité vybrat správnou navážku NaCl, teplotu inkubace a extrakční čas. Pro optimalizaci extrakce bylo provedeno 18 extrakcí, kdy jejich podmínky jsou uvedeny v tabulce 11. Podmínky pro jednotlivé experimenty byly navrženy v navrhování experimentu (DOE) metodou centrálně kompozitního plánování (CCD) pomocí programu Statistica 12. Extrakce probíhala ponořením vlákna do roztoku po ustanovení teploty 15 minut v nádobce. Pro další část diplomové práce a analýzu bylo vybráno 10 látek a to:  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC, heptachlor, aldrin, cis-chlordan, dieldrin, endosulfan II., p,p'-DDT, endrin keton, DCB

Tabulka 11: Podmínky jednotlivých extrakcí pro získání nejvhodnějších podmínek SPME z programu Statistica 12

Číslo	Navážka NaCl [g]	Teplota inkubace [ $^{\circ}$ C]	Extrakční čas [min]
2	0,152	45	50
16	0,350	60	35
18	0,350	60	35
15	0,350	60	61,5

Číslo	Navážka NaCl [g]	Teplota inkubace [°C]	Extrakční čas [min]
4	0,152	75	50
14	0,350	60	8,5
10	0	60	35
11	0,699	60	35
6	0,548	45	50
3	0,152	75	20
12	0,350	33,5	35
5	0,548	45	20
13	0,350	86,5	35
7	0,548	75	20
8	0,548	75	50
7	0,350	60	35
9	0,350	60	35
1	0,152	45	20

### 2.3.5 Kalibrační křivka

Pro měření kalibrační křivky byly připraveny roztoky o koncentraci 0,001; 0,01; 0,025; 0,05; 0,075 a 0,1 µg/ml do 10 ml odměrných baněk. Roztoky o koncentraci 0,01; 0,025; 0,05; 0,075 a 0,1 µg/ml byly připraveny z roztoku o koncentraci 10 µg/ml. Roztok o koncentraci 0,001 µg/ml byl připraven z roztoku o koncentraci 0,1 µg/ml. Následně bylo do těchto roztoků na analytických vahách naváženo NaCl o hmotnosti 0,7000 g a roztoky byly doplněny destilovanou vodou po rysku. Obsah odměrné baňky byl důsledně promíchán a všechn byl převeden do měrných baněk k měření v režimu MRM při napětí na detektoru 2,5 kV. Extrakce SPME probíhala ponořením vlákna do roztoku, při které bylo využito vlákno 75 µm CAR/PDMS. Získané kalibrační křivky jsou diskutovány v kapitole 3.2.

### 2.3.6 Měření uměle kontaminovaných vzorků

Pro měření uměle obohacených vzorků byly připraveny koncentrace roztoků 0,025; 0,05 a 0,075 µg/ml z roztoku o koncentraci 10 µg/ml. Následně bylo do těchto roztoků na analytických vahách naváženo NaCl o hmotnosti 0,7000 g a byly doplněny po rysku destilovanou vodou. Obsah odměrné baňky byl promíchán a měřen v režimu MRM při napětí na detektoru 2,5 kV. K extrakci SPME bylo využito vlákno 75 µm CAR/PDMS. Získané plochy byly



porovnány s teoretickou Výsledky jsou uvedeny v kapitole 3.3.

### 2.3.7 Měření reálných vzorků

Všechny vzorky byly odebrány dne 13/06/21 z okolí Jablonného nad Orlicí v Orlických horách. Na obrázku 21 je zobrazena mapa, kde byly vzorky odebrány. Celkem bylo odebráno 7 vzorků do skleněných nádob z různých míst. Vzorek 1 byl odebrán z Tiché Orlice v Jablonném nad Orlicí, vzorek 2 z rybníku v Bystřičku, vzorek 3 z Vávrova lomu v Bystřeci, vzorek 4 z Orličkovského potoka v Hradiskách v Jablonném nad Orlicí, vzorek 5 z rybníku v Jamném nad Orlicí, vzorek 6 z vodní nádrže v Jamném nad Orlicí a vzorek 7 ze nádrže na dešťovou vodu v Jablonném nad Orlicí. Z každého vzorku bylo odpipetováno 10 ml do skleněných nádobek, přidáno 0,7 g NaCl a důkladně promícháno. Všechny vzorky byly měřeny dvakrát v režimu MRM a napětí na detektoru bylo 2,5 kV. Výsledky jsou diskutovány v kapitole 3.4.

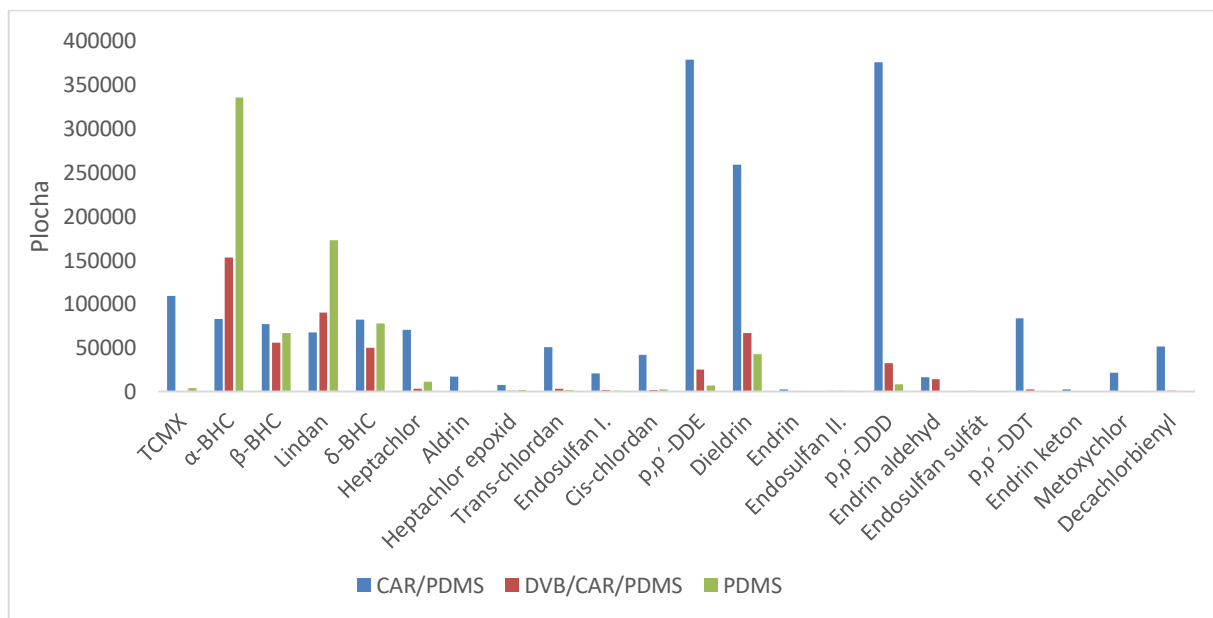


Obrázek 21: Mapa míst, kde byly odebrány vzorky

### 3 Výsledky a diskuze

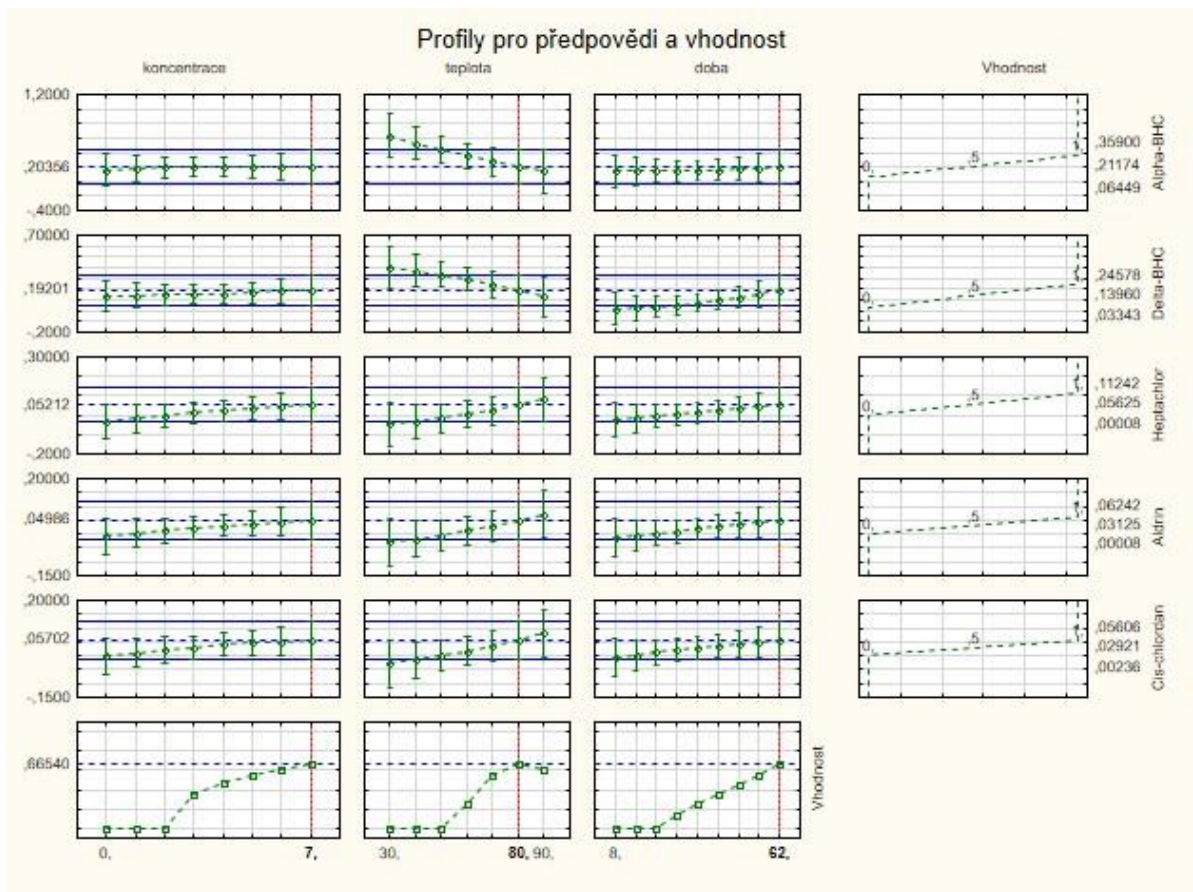
#### 3.1 Optimalizace SPME

Optimalizace SPME byla pro všech 22 látek. Pro optimalizaci SPME byla použita tři vlákna 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS, 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS a 100  $\mu\text{m}$  PDMS. Roztok o koncentraci 10  $\mu\text{g/ml}$  byl změřen a jako nejvhodnější vlákno bylo zvoleno vlákno 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS, které vykazovalo nejlepší výsledky. V případě srovnání všech ploch pík (obrázek 22), lze konstatovat, že byly větší v případě použití 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS než při aplikaci vláken 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS a 100  $\mu\text{m}$  PDMS. Vlákno 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS extrahovalo píky 20 látek v roztoku, kdežto vlákno 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS a vlákno 100  $\mu\text{m}$  PDMS shodně 16 látek. Vlákem 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS lze extrahovat látky  $\alpha$ -BHC a Lindan, avšak s nižší citlivostí.

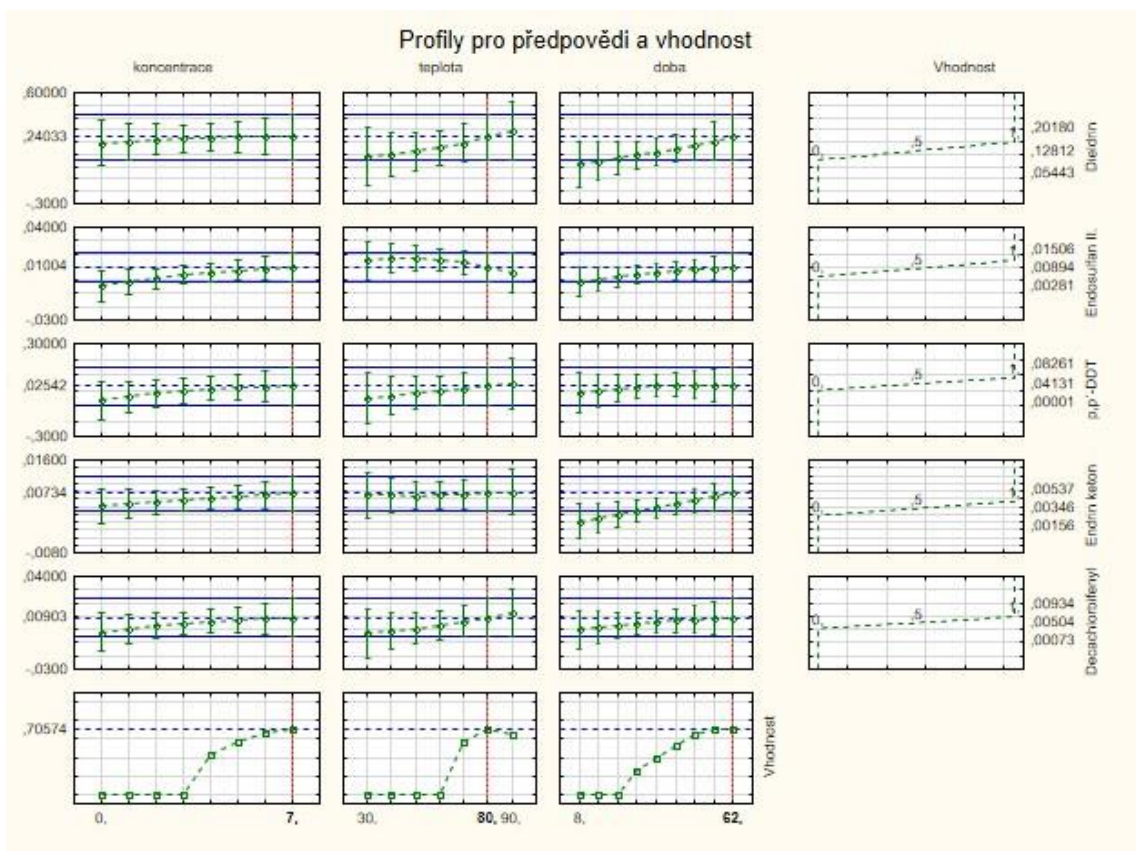


Obrázek 22: Plochy pík jednotlivých látek v závislosti na používaném vlákně k extrakci

Dalším krokem bylo nalezení optimálních parametrů extrakce SPME-inkubační teplota, extrakční čas a navážka NaCl pro vybraných 10 látek. K tomu byl využit program Statistica 12 a jeho funkce profily pro předpovědi a vhodnost a pozorované vs. předpovědi. Profily a předpovědi určily, že nejvhodnější podmínky byly: inkubační teplota 80  $^{\circ}\text{C}$ , extrakční čas 62 minut a navážka 0,7 g NaCl. Na obrázku 23 jsou profily pro předpovědi pro látky  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC, heptachlor, aldrin, cis-chlordan a na obrázku 24 jsou profily pro předpovědi pro látky dieldrin, endosulfan II., p,p'-DDT, endrin keton a DCB.



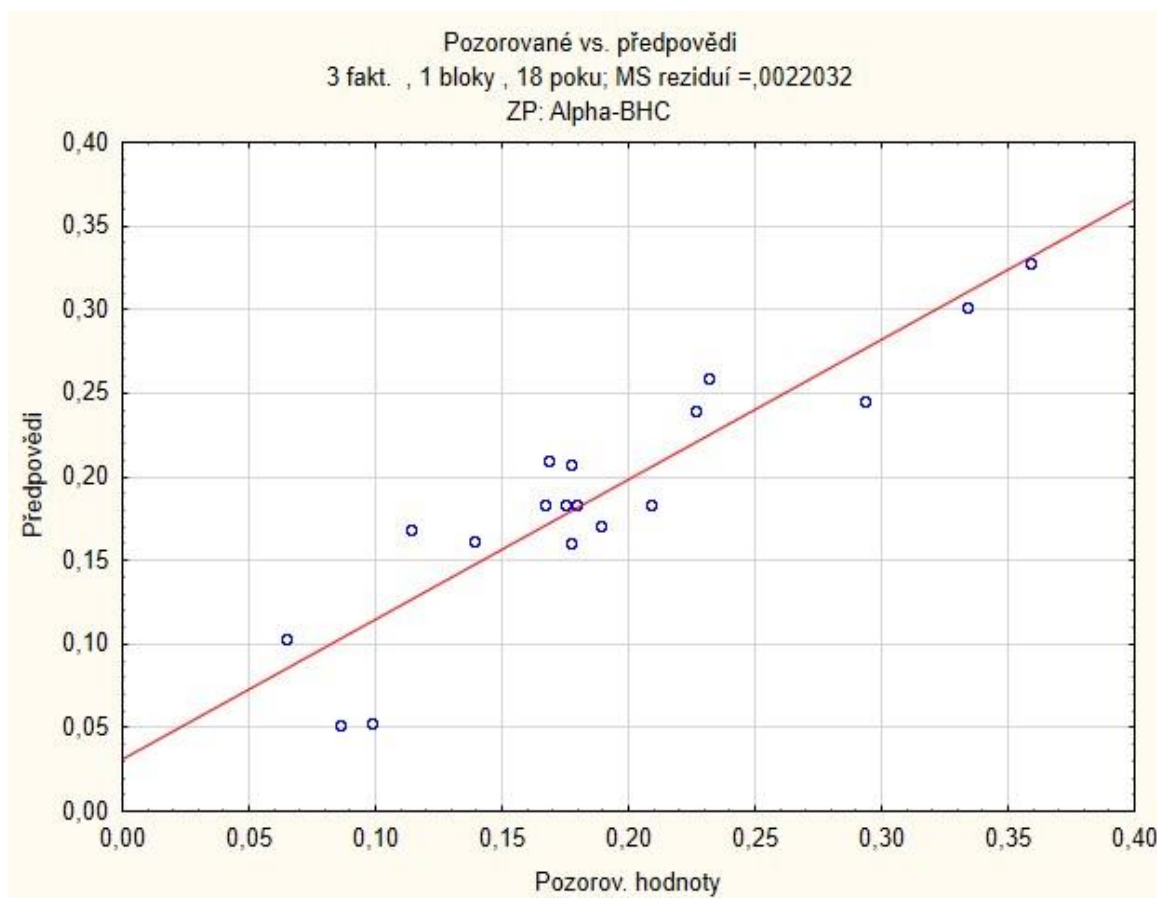
Obrázek 23: Profily pro předpovědi a vhodnost pro látky:  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC, heptachlor, aldrin a cis-chlordan



Obrázek 24: Předpovědi a profily pro látky: dieldrin, endosulfan II, endrin keton, p,p'-DDT a DCB



Na obrázku 25 jsou z programu Statistica 12 zobrazeny pozorované vs. předpovědi pro látku  $\alpha$ -BHC. Pro ostatní látky jsou tyto grafy v příloze 44-52.



Obrázek 25: Graf pozorované vs. předpovědi pro látku  $\alpha$ -BHC

### 3.2 Výsledky kalibrační křivky

Byla proměřena kalibrační řada o koncentracích 0,001; 0,01 0,025; 0,05; 0,075 a 0,1  $\mu\text{g/ml}$  v režimu MRM. Každý roztok z kalibrační řady byl změřen třikrát. Získané plochy byly zprůměrovány.

Přípustná odchylka měření při validaci prvního bodu v kalibrační řadě nesmí přesáhnout 20 %, ostatní body kalibrační křivky nesmí přesáhnout 15 %. U koncentrace 0,001  $\mu\text{g/ml}$  tento požadavek nebyl splněn, a proto u každé látky byl z kalibrační řady vyřazen. Dále u heptachloru byl vyřazen i bod o koncentraci 0,01  $\mu\text{g/ml}$ , kdy taktéž nesplňoval požadavky validace metody a přesáhl přípustnou odchylku 15 % [34].

Postup je vztažen k látce  $\alpha$ -BHC a koncentraci 0,001  $\mu\text{g/ml}$ . Výsledky validace jsou shrnuty v tabulce 12. Dále výsledné parametry kalibrační křivky s rozsahem koncentrace, rovnicí regrese, limity detekce a limity kvantifikace jsou uvedeny v tabulce 13. Kalibrační křivky jsou graficky znázorněny v přílohách 53-62.

$$\text{Vypočtená konc.} = \frac{\text{průměrná plocha} - \text{úsek}}{\text{směrnice}} = \frac{689254 - 635121,315}{48274993,757} = 0,0011 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Odchylka (\%)} = \left| 100 - \left( \left( \frac{\text{vypočt. konc.}}{\text{skuteč. konc.}} \right) \cdot 100 \right) \right| = \left| 100 - \left( \left( \frac{0,0011}{0,001} \right) \cdot 100 \right) \right|$$

$$= 12,13\%$$

Tabulka 12: Validace metody

Skutečná koncentrace [μg/ml]	Vypočtená koncentrace [μg/ml]	Odchylka [%]	Skutečná koncentrace [μg/ml]	Vypočtená koncentrace [μg/ml]	Odchylka [%]
<b>α-BHC</b>			<b>Dieldrin</b>		
0,001	0,0011	12,13	0,001	0,0011	8,18
0,01	0,0099	0,10	0,01	0,0092	8,42
0,025	0,0227	9,13	0,025	0,0245	2,19
0,05	0,0547	9,43	0,05	0,0541	8,35
0,075	0,0723	3,61	0,075	0,0710	5,33
0,1	0,1003	0,25	0,1	0,1011	1,13
<b>δ-BHC</b>			<b>Endosulfan II.</b>		
0,001	0,0010	3,56	0,001	0,0009	6,30
0,01	0,0113	12,58	0,01	0,0110	10,42
0,025	0,0272	8,61	0,025	0,0253	1,08
0,05	0,0456	8,84	0,05	0,0490	2,01
0,075	0,0727	3,05	0,075	0,0727	3,07
0,1	0,1033	3,26	0,1	0,1021	2,06
<b>Heptachlor</b>			<b>p,p'- DDT</b>		
0,001	0,0012	16,62	0,001	0,0009	14,09
0,01	0,0110	9,84	0,01	0,0086	13,99
0,025	0,0244	2,36	0,025	0,0267	6,85
0,05	0,0481	3,88	0,05	0,0500	0,09
0,075	0,0764	1,92	0,075	0,0753	0,48
0,1	0,0999	0,06	0,1	0,0994	0,58

Skutečná koncentrace [µg/ml]	Vypočtená koncentrace [µg/ml]	Odchylka [%]	Skutečná koncentrace [µg/ml]	Vypočtená koncentrace [µg/ml]	Odchylka [%]
<b>Aldrin</b>			<b>Endrin keton</b>		
0,001	0,0009	7,14	0,001	0,0011	11,38
0,01	0,0100	0,44	0,01	0,0092	7,58
0,025	0,0247	1,25	0,025	0,0263	5,31
0,05	0,0503	0,69	0,05	0,0497	0,69
0,075	0,0754	0,50	0,075	0,0740	1,36
0,1	0,0996	0,38	0,1	0,1007	0,68
<b>Cis-chlordan</b>			<b>DCB</b>		
0,001	0,0011	9,08	0,001	0,0009	12,30
0,01	0,0101	1,00	0,01	0,0112	11,64
0,025	0,0227	9,27	0,025	0,0245	1,84
0,05	0,0519	3,71	0,05	0,0446	10,80
0,075	0,0775	3,37	0,075	0,0835	11,30
0,1	0,0977	2,25	0,1	0,0963	3,66

Tabulka 13: Parametry výsledné kalibrační křivky

Látka	Rozsah konc. [µg/ml]	Rovnice regrese	R <sup>2</sup>	LOQ [µg/ml]	LOD [µg/ml]
α-BHC	0,001-0,1	$y = 48274993,757x + 635121,315$	0,995	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
δ-BHC	0,001-0,1	$y = 48169035,879x + 179184,439$	0,994	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Heptachlor	0,001-0,1	$y = 595828x + 455,134$	0,999	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Aldrin	0,001-0,1	$y = 952434,178x + 366,53$	1	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Cis-chlordan	0,001-0,1	$y = 30288845,48x + 3196,22$	0,997	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Dieldrin	0,001-0,1	$y = 45217171,724x + 601083,03$	0,995	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Endosulfan II.	0,001-0,1	$y = 1039832,711x + 25525,694$	1	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
p,p'-DDT	0,001-0,1	$y = 16687687,668x + 314821,363$	0,999	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
Endrin keton	0,001-0,1	$y = 3496750,4x + 48250,23$	0,999	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$
DCB	0,001-0,1	$y = 605146,182x + 70269,308$	0,985	0,001	$3,33 \cdot 10^{-4}$

### 3.3 Výsledky uměle kontaminovaných vzorků

Pro měření uměle kontaminovaných vzorků byly připraveny roztoky o koncentraci 0,025; 0,05 a 0,075 µg/ml a proměřeny 3x. Plochy byly zprůměrovány a z kalibrační závislosti byla vypočtena koncentrace, odchylka a extrakční účinnost. Vzorový výpočet je vztažen k látce α-BHC při koncentraci 0,025 µg/ml. Plochy uměle kontaminovaných vzorků a odchylky jsou uvedeny v příloze 63. Účinnost optimalizované metody se pohybovala v rozmezí od 78,94 % do 98,75 %. V tabulce 14 je vypočítaná extrakční účinnost uměle kontaminovaných vzorků.

$$\begin{aligned} \text{Vypočtená konc.} &= \frac{\text{průměrná plocha} - \text{úsek}}{\text{směrnice}} = \frac{1664427 - 635121,315}{48274993,757} \\ &= 0,0213 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \text{Odchylka (\%)} &= \left| 100 - \left( \left( \frac{\text{vypočt. konc.}}{\text{skuteč. konc.}} \right) \cdot 100 \right) \right| = \left| 100 - \left( \left( \frac{0,0213}{0,025} \right) \cdot 100 \right) \right| \\ &= 14,71\% \\ \text{Extrakční účinnost (\%)} &= 100 - \text{odchylka} = 100 - 14,71 = 85,29\% \end{aligned}$$

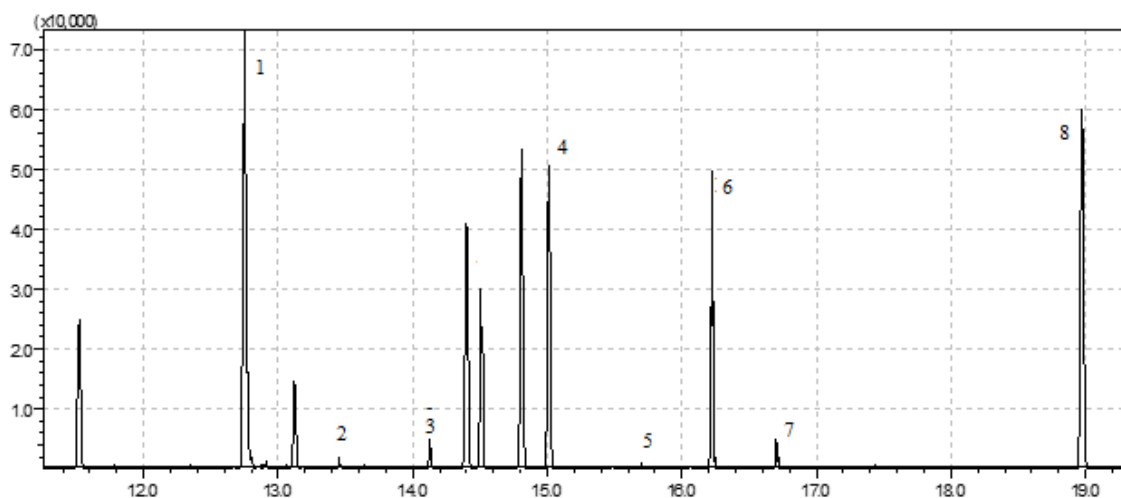
Tabulka 14: Extrakční účinnost uměle kontaminovaných vzorků

Látka	Výtěžnost extrakce [%]		
	0,025 [µg/ml]	0,05 [µg/ml]	0,075 [µg/ml]
<b>α-BHC</b>	85,29	88,56	93,47
<b>δ-BHC</b>	78,94	87,39	94,01
<b>Heptachlor</b>	86,18	96,15	89,27
<b>Aldrin</b>	98,75	98,36	92
<b>Cis-chlordan</b>	96,71	94,86	85,33
<b>Dieldrin</b>	83,94	84,59	92,02
<b>Endosulfan II.</b>	97,05	80,93	81,30
<b>p,p'-DDT</b>	93,15	97,75	94,52
<b>Endrin keton</b>	96,84	97,06	85,69
<b>DCB</b>	94,47	91,97	88,10

### 3.4 Výsledky reálných vzorků

Všechny vzorky byly odebrány dne 13/06/21 v okolí Jablonného nad Orlicí. Celkem bylo změřeno 7 vzorků, které byly měřeny v režimu MRM s napětím 2,5 kV na detektoru.

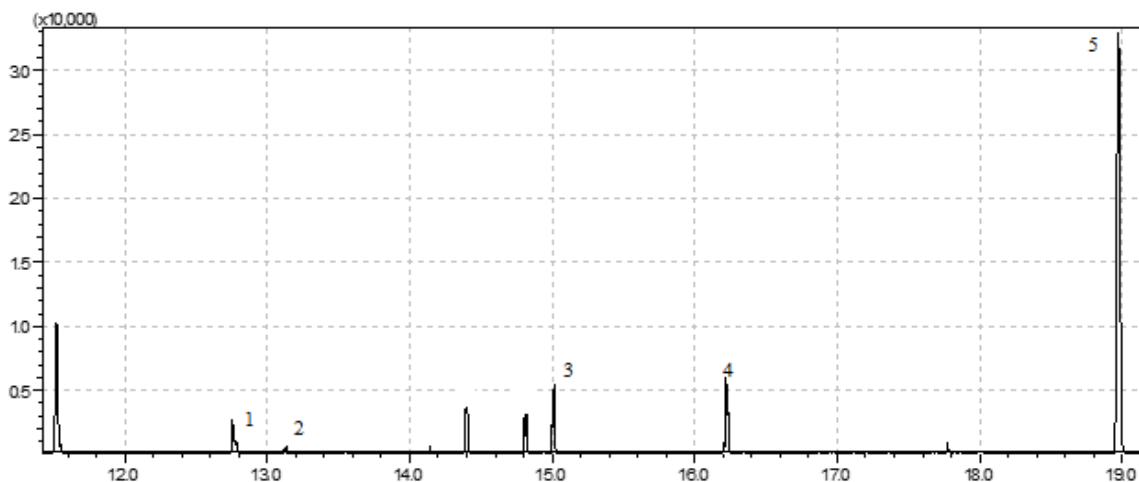
Vzorek 1 byl odebrán z Tiché Orlice. Na obrázku 26 je zobrazen výsledný chromatogram tohoto vzorku, kde bylo celkem detekováno 8 látek. V tomto vzorku byly detekovány tyto látky:  $\delta$ -BHC, heptachlor, aldrin, endosulfan II., p,p'-DDT a DCB, avšak pod mezí kvantifikace. Koncentrace cis-chlordanu ve vzorku byla 0,0086  $\mu\text{g/ml}$  a koncentrace endrin ketonu byla 0,0028  $\mu\text{g/ml}$ . Pík s retenčním časem 11,52 minut odpovídal látce TCMX, pík s retenčním časem 14,51 minut odpovídal heptachloru epoxidu a pík s retenčním časem 14,81 minut odpovídal látce trans-chlordan. Pro tyto látky nebyla sestrojena kalibrační závislost z časových důvodů. Na straně 51 v tabulce 15 jsou uvedeny sumární výsledky obsahu jednotlivých pesticidů obsažených ve vzorku 1.



**Obrázek 26:** Chromatogram vzorku 1 měřen v MRM režimu- 1- $\delta$ -BHC, 2-heptachlor, 3-aldrin, 4-cis-chlordan, 5-endosulfan II., 6-p,p'-DDT, 7-endrin keton, 8-DCB

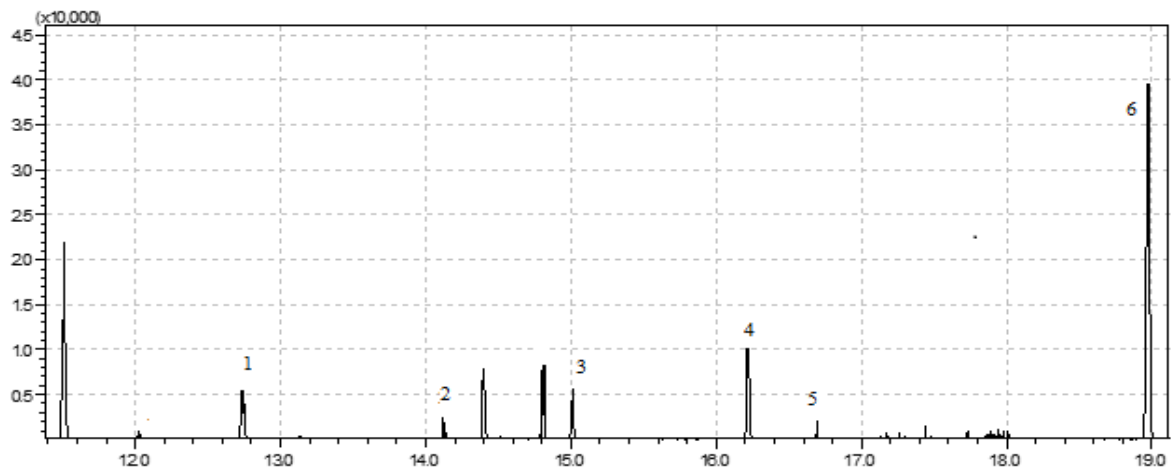
Vzorek 2 byl odebrán z rybníka v Bystřičku. Na obrázku 27 je zobrazen výsledný chromatogram, kde byl detekován  $\delta$ -BHC, heptachlor, cis-chlordan, p,p'-DDT a DCB, ale pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 11,52 minut odpovídal látce TCMX, pík s retenčním časem 14,50 minut odpovídal heptachloru epoxidu a s retenčním časem 14,81 minut byla detekována látka trans-chlordan. Pro tyto látky nebyla sestrojena kalibrační závislost z časových důvodů. Na straně 51 v tabulce 15 jsou shrnuty sumární výsledky obsahu jednotlivých pesticidů obsažených ve vzorku 2.





**Obrázek 27:** Chromatogram vzorku 2 měřen v MRM režimu-1- $\delta$ -BHC, 2-heptachlor, 3-cis-chlordan, 4-p,p'-DDT, 5-DCBI

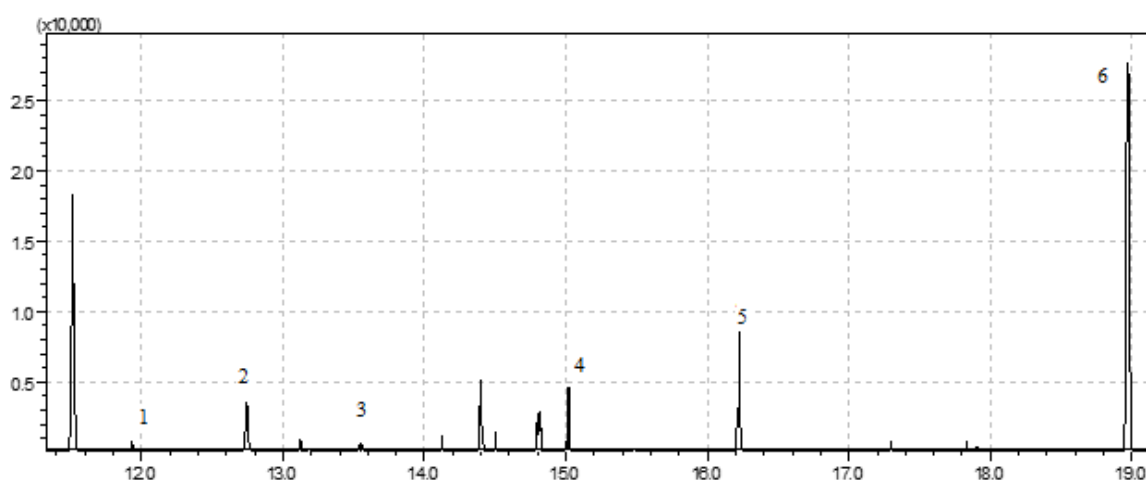
Z Vávrova lomu v Bystřeci byl odebrán vzorek 3. Na obrázku 28 je zobrazen výsledný chromatogram. Pod mezí kvantifikace byla koncentrace látek  $\delta$ -BHC, aldrinu, cis-chlordanu, p,p'- DDT, endrinu ketonu a DCB. Pík s retenčním časem 11,51 minut odpovídá látce TCMX a pík s retenčním časem 14,80 minut trans-chlordanu, ale pro tyto látky nebyla sestrojena kalibrační závislost z časových důvodů. Na straně 51 v tabulce 15 jsou shrnuty sumární výsledky vzorku 3.



**Obrázek 28:** Chromatogram vzorku 3 měřen v MRM režimu-1- $\delta$ -BHC, 2-aldrin, 3-cis-chlordan, 4-p,p'-DDT, 5-endrin keton, 6-DCB

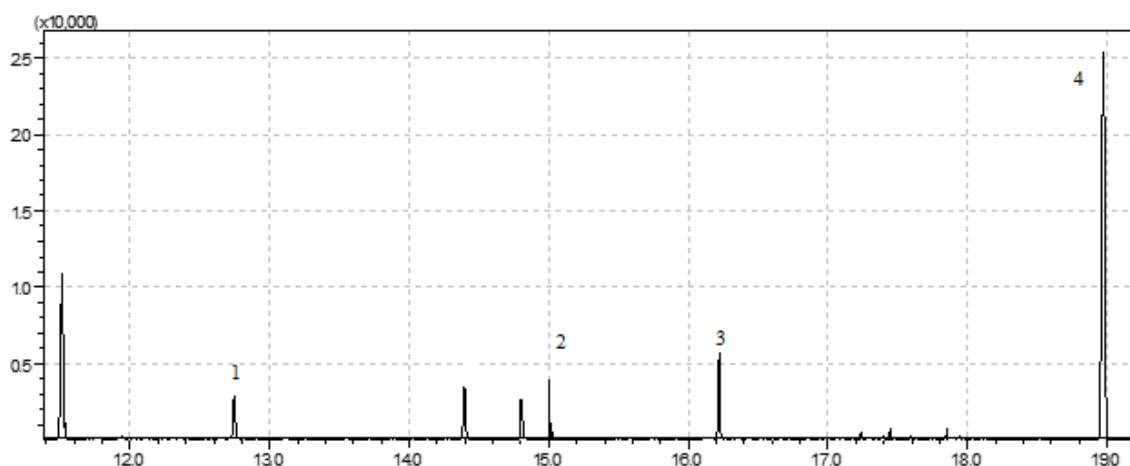
Vzorek 4 byl odebrán z Orličkovského potoka v Hradiskách v Jablonném nad Orlicí. Na obrázku 29 je zobrazen výsledný chromatogram. V tomto vzorku bylo 6 látek:  $\alpha$ -BHC,  $\delta$ -BHC, heptachlor, cis-chlordan, p,p'-DDT a DCB. Tyto látky byly pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 11,51 minut odpovídá pravděpodobně TCMX, pík s retenčním časem 14,81 minut odpovídá trans-chlordanu. Pro látky TCMX a trans-chlordan nebyly z časových důvodů sestrojeny kalibrační závislosti. Na straně 51 v tabulce 15 jsou uvedeny sumární

výsledky obsahu jednotlivých pesticidů obsažených ve vzorku 4.



**Obrázek 29:** Chromatogram vzorku 4 měřeno v MRM režimu-1- $\alpha$ -BHC, 2- $\delta$ -BHC, 3-heptachlor, 4-cis-chlordan, 5-p,p'-DDT, 6-DCB

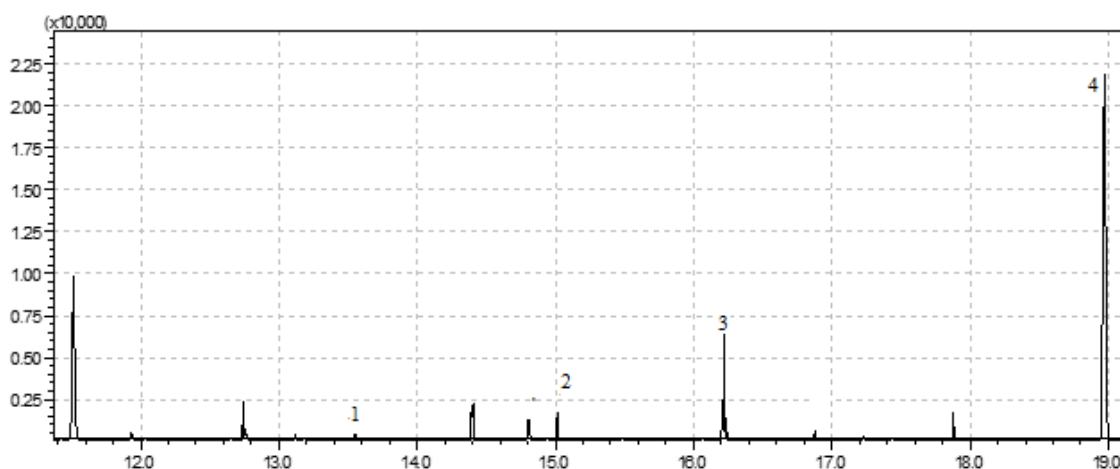
Z rybníka v Jamném nad Orlicí byl odebrán vzorek 5. V tomto vzorku byly nalezeny 4 látky. Pod mezí kvantifikace byly nalezeny látky  $\delta$ -BHC, cis-chlordanu, p,p'-DDT a DCB. Pod mezí detekce byly stanoveny koncentrace látek  $\alpha$ -BHC, heptachloru, aldrinu, dieldrinu, endrosulfanu II. a endrinu ketonu. Výsledný chromatogram je zobrazen na obrázku 30. První pík mohl odpovídat látce TCMX v retenčním čase 11,51 minut a pík v retenčním čase 14,81 minut látce trans-chlordan. Pro tyto látky nebyla sestrojena kalibrační závislost z časových důvodů. Na straně 51 v tabulce 15 jsou shrnuty sumární výsledky obsahu jednotlivých pesticidů obsažených ve vzorku 5.



**Obrázek 30:** Chromatogram vzorku 5 měřeno v MRM režimu- 1- $\delta$ -BHC, 2-cis-chlordan, 3-p,p'-DDT, 4-DCB

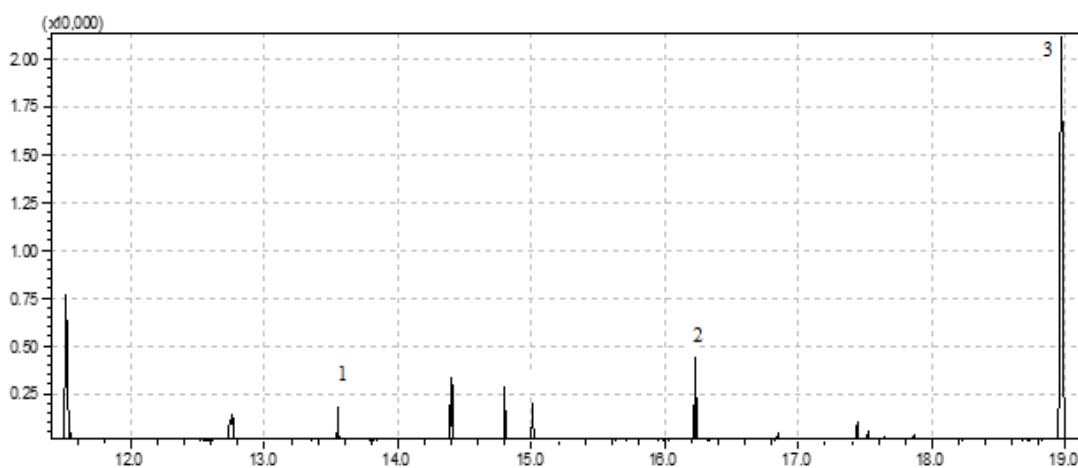
Z vodní nádrže v Jamném nad Orlicí byl odebrán vzorek 6. Na obrázku 31 je zobrazen výsledný chromatogram tohoto vzorku. Ve vzorku byly nalezeny 4 látky-heptachlor, cis-chlordan, p,p'-DDT a DCB. Koncentrace těchto látek byly pod mezí kvantifikace. Pík s retenčním časem 11,51 minut by mohl odpovídat TCMX, pík s retenčním časem 14,81 minut

by mohl odpovídat trans-chlordanu a pík s retenčním časem 16,889 minut metoxychloru. V tabulce 15 na straně 51 jsou shrnuty výsledky obsahu jednotlivých pesticidů obsažených ve vzorku 6.



**Obrázek 31:** Chromatogram vzorku 6 měřeno v MRM-1-heptachlor, 2-cis-chlordan, 3-p,p'-DDT, 4-DCB

Poslední vzorek 7 byl odebrán z nádrže na dešťovou vodu v Jablonném nad Orlicí. Výsledný chromatogram je zobrazen na obrázku 32. Celkem byly detekovány 3 látky – heptachlor, p,p'-DDT a DCB. Všechny koncentrace těchto látek byly pod mezí kvantifikace. První pík s retenčním časem 11,51 minut by mohl odpovídat TCMX, pík s retenčním časem 14,81 minut by mohl být trans-chlordanu a pík s retenčním časem 15,01 minut látky endosulfan I. Pro látky TCMX, trans-chlordan a endosulfan I. nebyly z časových důvodů sestrojeny kalibrační závislosti. Souhrn všech látek jak detekovaných či nikoliv je v tabulce 15 na straně 51.



**Obrázek 32:** Chromatogram vzorku 7 měřeno v MRM režimu- 1-heptachlor, 2-p,p'-DDT, 3-DCB

Tabulka 15: Celkové výsledky vzorků 1-7

Látka	c [ $\mu\text{g/ml}$ ]						
	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7
<b><math>\alpha</math>-BHC</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD
<b><math>\delta</math>-BHC</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOD
<b>Heptachlor</b>	<LOQ	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOQ
<b>Aldrin</b>	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Cis-chlordan</b>	0,0086	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOD
<b>Dieldrin</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Endosulfan II.</b>	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>p,p'-DDT</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
<b>Endrin keton</b>	0,0028	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>DCB</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

## ZÁVĚR

Hlavním cílem této práce bylo optimalizovat podmínky metody pro stanovení pesticidů ve vzorcích vody pomocí GC-MS.

Teoretická část je zaměřena na charakteristiku jednotlivých skupin pesticidů a jejich zástupců. Další kapitoly jsou věnovány SPME extrakci a popisu plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie a jejich spojení, které je dnes velmi využívané.

V experimentální části byly optimalizovány podmínky měření pomocí GC-MS, kde byly testovány různé teploty na koloně a teploty na nástřiku, aby se látky separovaly v přijatelném rozlišení a v dobrém časovém úseku.

Z naměřených hmotnostních spekter v režimu SCAN byl vybrán jeden kvantifikátor a jeden molekulární iont pro měření v režimu SIM. Z tohoto modu byla proměřena při kolizní energii v rozmezí od 5 kV do 60 kV metoda PIS, která slouží pro vytvoření MRM metody.

Dále bylo vybráno vhodné vlákno pro SPME, kdy byly porovnávána mezi sebou tři vlákna, mezi která patřila 75 $\mu$ m CAR/PDMS, 50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS a 100 $\mu$ m PDMS. Jako nejlepší vlákno pro přímou extrakci SPME pro stanovení pesticidů z vodných roztoků se ukázalo vlákno 75 $\mu$ m CAR/PDMS. Následně bylo nutné optimalizovat extrakční podmínky – inkubační teplota, extrakční čas a přidavek NaCl. Po nalezení optimálních podmínek byla proměřena kalibrační řada roztoků a provedena validace metody. Dále se z kalibrační řady vypočítaly odchylky. Nejnižší koncentrace kalibrační řady neodpovídaly validaci, neboť přesahovaly přípustnou odchylku. To mohlo být způsobeno nepřesností při přípravě vzorků.

Nakonec tato metoda byla použita pro stanovení pesticidů v reálných vzorcích vod. Celkem bylo odebráno 7 vzorků z různých míst (z řeky, rybníku, potoka, nádrže) a následně byly proměřeny v MRM režimu. V každém vzorku se vyskytoval minimálně 1 pesticid.

Využití SPME ve spojitosti s plynovou chromatografií ve spojení s hmotností spektrometrií je vhodné pro spolehlivé stanovení pesticidů. Výhodou je nízká spotřeba vzorku a rychlá analýza.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] CREMLYN, Richard. *Pesticidy*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985.
- [2] VEČEŘA, Zdeněk. *Pesticidy: výroba, vlastnosti a použití*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1984.
- [3] GULIA, Shefali, Rahul KUMAR, Mahipal Singh SANKHLA a Rajeev KUMAR. *Impact of Pesticide Toxicity in Aquatic Environment*. Biointerface Research in applied chemistry. 2021. (3). 1031-1040. ISSN 2069-5837. Doi: 10.33263/BRIAC113.1013110140.
- [4] WORSFOLD, Paul, Alan TOWNSHEND a C.F. POOLE. *Encyclopedia of analytical science*. Second edition. Oxford: Elsevier. 2005. ISBN 0-12-764100-9.
- [5] KITSON G. Fulton, Barbara S. LARSEN a Charles N. MCEWEN. *Gas chromatography and mass spektrometry*. UK: Academic Press Limited, 1996. ISBN 0-12-483385-3.
- [6] MOYE, H. Anson. *Analysis of pesticide residues*. New York: John Wiley. Chemical analysis, 1985, vol. 58. ISBN 0-471-05461-5.
- [7] ENVIROMENTAL PPROTECTION AGENCY, United States. *Herbicide report: chemistry and analysis, enviromental effects, agricultural and other applied uses*. Washington D.C.: Environmental Protection Agency, 1974. ISBN EPA-SAB-74-001.
- [8] ZHANG, C. Tian, Rao Y. SURAMPALLI, Adams CRAI, Pascale CHAMPAGNE, Say Kee ONG a R. D. TYAGI. *Contaminants of emerging enviromental concern*. USA: American Society of Civil Egeineers, 2009. ISBN 978-0-7844-1014-1.
- [9] ROBERT, R. Terry a David D. HUTSON. *Metabolic pathways of agrochemicals*. UK: The royal society of chemistry, 1998. ISBN 0-85404-494-9.
- [10] ROBERT, R. Terry a David H. HUTSON. *Metabolic pathways of agrochemicals*. UK: The royal society of chemistry, 1999. ISBN 0-85404-499-X.
- [11] DEBNATH, Mrittika a Mohidus Samad KHAN. *Pesticide residue in food*. Switzerland: Springer Nature, 2017. ISBN 978-3-319-52681-2.
- [12] SRIVASTAVA, Anamika, Nirmala Kumari JANGID, Manish SRIVASTAVA a Varun RAWAT. Pesticides as Water Pollutants. *Handbook of Research on the Adverse Effects of Pesticide Pollution in Aquatic Ecosystems*. IGI Global, 2019, 1-19. Advances in Environmental Engineering and Green Technologies. ISBN 9781522561118. Doi: 10.4018/978-1-5225-6111-8.ch001.

- [13] Vyhláška č. 252/2004 Sb., vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody.
- [14] Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský [online]. *Ministerstvo zemědělství*, 2009 [cit. 2021-07-05]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal>.
- [15] TRUGO, C. Luiz, Paul M. FINGLAS a Benjamin CABALLERO. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 2nd ed. Oxford: Academic Press, 2003. ISBN 0-12-227055-X.
- [16] SPARKMAN, O. David, Zelda E. PENTON a Fulton G. KITSON. *Gas chromatography and mass spectrometry*. Second edition. UK: Elsevier, 2011. ISBN 978-0-12-373628-4.
- [17] MCNAIR, M. Harold, Nicholas H. SNOW a James M. MILLER. *Basic Gas Chromatography*. 3rd edition. USA: John Wiley, 2019. ISBN 1119450756.
- [18] GUARDIA, Miguel a Francesc A. ESTEVE-TURRILLAS. *Handbook of smart materials in analytical chemistry, 2 volume set*. USA: John Wiley, 2019. ISBN 978-1-11942-2-624.
- [19] PAWLISZYN, Janusz. *Handbook of solid phase microextraction*. Canada: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-416017-0.
- [20] PAWLISZYN, Janusz. *Solid phase microextraction: theory and practice*. Canada: Wiley-WCH, 1997. ISBN 0-471-19034-9.
- [21] PROCHÁZKOVÁ Dana, *Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů*, Chemické listy, 2002, 96, 827-852.
- [22] ROBARDS, Kevin, Paul R. HADDAD a Peter E. JACKSON. *Principles and practice of modern chromatographic methods*. UK: Elsevier Academic Press, 2004. ISBN 0-12-589570-4.
- [23] JONSSON, Ake Jan. *Chromatographic theory and basic principles*. New York: Mark Dekker, 1987. ISBN 0-8247-7673-9.
- [24] GROSS, H. Jurgen. *Mass spectrometry*. Second edition. Germany: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011. ISBN 978-3-642-1079-2.
- [25] JANDERA, Pavel. *Atomová a molekulová spektroskopie*. Pardubice: Vysoká škola chemicko-technologická, 1984.
- [26] BRUNO, J. Thomas, Ryan DEACON, Jeffrey A. JANSEN, Neal MAGDEGFRAU, Erik MUELLER, George F. Vander VOORT a Dehua YANG. *ASM handbook, Volume 10 - Materials Characterization*. USA: ASM International, 2019. ISBN 978-1-62708-211-2.

- [27] BRUNO, J. Thomas, Ryan DEACON, Jeffrey A. JANSEN, Neal MAGDEGFRAU, Erik MUELLER, George F. Vander VOORT a Dehua YANG. *ASM handbook, Introduction to Materials Characterization. Materials Characterization*. ASM International, 2019, 3-4. ISBN 978-1-62708-213-6. Doi:10.31399/asm.hb.v10.a0006669.
- [28] THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL, *Food chemicals codex*. USA: United Book press, 2016. ISBN 978-1-936424-51-1.
- [29] DIMON, B. *Mass Spectrometry and Protein Analysis*. Science. 2006, 312(5771), 212-217. ISSN 0036-8075. Doi: 10.1126/science.1124619.
- [30] PICO, Yolanda. *Chemicals analysis of food: techniques and application*. USA: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-3848628.
- [31] FRIDECKÝ, Bedřich a Karel LEMR, Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2012, **20**(3), 152-157. ISSN 210-7921.
- [32] PÉREZ-TRUJILLO, J.P, S. FRÍAS, J.E. CONDE a M.A. RODRÍGUEZ-DELGADO. Comparison of different coatings in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in ground water. *Journal of Chromatography A.*, 2002, **963**(1-2), 95-105. ISSN 00219673. Doi: 10.1016/S0021-9673(02)00137-1.
- [33] BONANSEA, Rocío Inés, María Valeria AMÉ a Daniel Alberto WUNDERLIN. Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC-MS. A case study: Suquia River basin (Argentina). *Chemosphere*. 2013, **90**(6), 1860-1869. ISSN 00456535. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.10.007.
- [34] SUCHÁNEK, Miroslav a David MILDE. *Kvalimetrie: 20. Vhodnost analytických metod pro daný účel*. 2. vydání. Praha: EURACHEM-ČR, 2015. ISBN 978-80-86322-00-1.



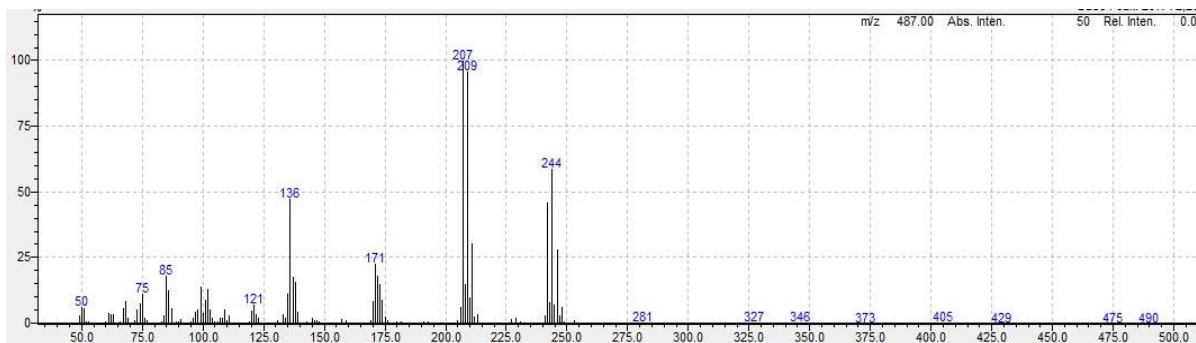
## SEZNAM PŘÍLOH

<b>Příloha 1:</b> Hmotnostní spektrum TCMX v režimu SCAN .....	60
<b>Příloha 2:</b> Hmotnostní spektrum $\alpha$ -BHC v režimu SCAN .....	60
<b>Příloha 3:</b> Hmotnostní spektrum $\beta$ -BHC v režimu SCAN .....	60
<b>Příloha 4:</b> Hmotnostní spektrum lindanu v režimu SCAN .....	60
<b>Příloha 5:</b> Hmotnostní spektrum $\delta$ -BHC v režimu SCAN .....	61
<b>Příloha 6:</b> Hmotnostní spektrum heptachlor v režimu SCAN .....	61
<b>Příloha 7:</b> Hmotnostní spektrum aldrin v režimu SCAN .....	61
<b>Příloha 8:</b> Hmotnostní spektrum heptachlor epoxid v režimu SCAN .....	61
<b>Příloha 9:</b> Hmotnostní spektrum trans-chlordan v režimu SCAN .....	62
<b>Příloha 10:</b> Hmotnostní spektrum endosulfan I. v režimu SCAN .....	62
<b>Příloha 11:</b> Hmotnostní spektrum cis-chlordan v režimu SCAN .....	62
<b>Příloha 12:</b> Hmotnostní spektrum p,p'-DDE v režimu SCAN .....	62
<b>Příloha 13:</b> Hmotnostní spektrum dieldrin v režimu SCAN .....	63
<b>Příloha 14:</b> Hmotnostní spektrum endrin v režimu SCAN .....	63
<b>Příloha 15:</b> Hmotnostní spektrum endosulfan II. V režimu SCAN .....	63
<b>Příloha 16:</b> Hmotnostní spektrum p,p'-DDD v režimu SCAN .....	63
<b>Příloha 17:</b> Hmotnostní spektrum endrin aldehyd v režimu SCAN .....	64
<b>Příloha 18:</b> Hmotnostní spektrum endosulfan sulfát v režimu SCAN .....	64
<b>Příloha 19:</b> Hmotnostní spektrum p,p'- DDT v režimu SCAN .....	64
<b>Příloha 20:</b> Hmotnostní spektrum endrin keton v režimu SCAN .....	64
<b>Příloha 21:</b> Hmotnostní spektrum metoxychlor v režimu SCAN .....	65
<b>Příloha 22:</b> Hmotnostní spektrum DCB v režimu SCAN .....	65
<b>Příloha 23:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro TCMX .....	65
<b>Příloha 24:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro $\beta$ -BHC .....	66
<b>Příloha 25:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro lindan .....	66
<b>Příloha 26:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro $\delta$ -BHC .....	67
<b>Příloha 27:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro heptachlor .....	67

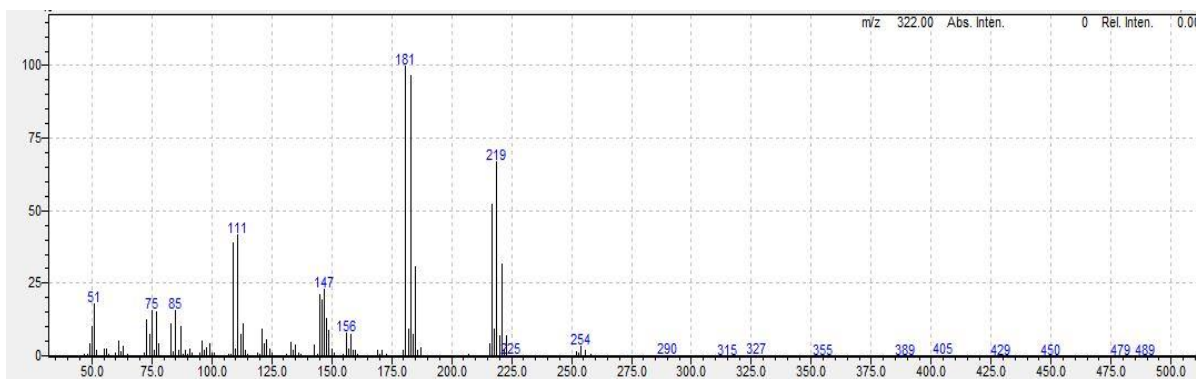
<b>Příloha 28:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro aldrin.....	68
<b>Příloha 29:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro heptachlorepoxid .....	68
<b>Příloha 30:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro trans-chlordan .....	69
<b>Příloha 31:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan I.....	69
<b>Příloha 32:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro cis-chlordan.....	70
<b>Příloha 33:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p,p'-DDE .....	70
<b>Příloha 34:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro dieldrin.....	71
<b>Příloha 35:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin.....	71
<b>Příloha 36:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan II. ....	72
<b>Příloha 37:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p,p'-DDD.....	72
<b>Příloha 38:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin aldehyd.....	73
<b>Příloha 39:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan sulfát .....	73
<b>Příloha 40:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p,p'-DDT .....	74
<b>Příloha 41:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin keton .....	74
<b>Příloha 42:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro metoxychlor .....	75
<b>Příloha 43:</b> Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro DCB.....	75
<b>Příloha 44:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku $\delta$ -BHC .....	76
<b>Příloha 45:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku heptachlor.....	76

<b>Příloha 46:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku aldrin .....	77
<b>Příloha 47:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku cis-chlordan .....	77
<b>Příloha 48:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku dieldrin .....	78
<b>Příloha 49:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku endosulfan II.....	78
<b>Příloha 50:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku p,p'-DDT.....	79
<b>Příloha 51:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku endrin keton.....	79
<b>Příloha 52:</b> Pozorované vs. předpovědi pro látku DCB .....	80
<b>Příloha 53:</b> Kalibrační křivka $\alpha$ -BHC.....	80
<b>Příloha 54:</b> Kalibrační křivka $\delta$ -BHC.....	81
<b>Příloha 55:</b> Kalibrační křivka heptachlor .....	81
<b>Příloha 56:</b> Kalibrační křivka aldrin.....	81
<b>Příloha 57:</b> Kalibrační křivka cis-chlordan .....	82
<b>Příloha 58:</b> Kalibrační křivka dieldrin.....	82
<b>Příloha 59:</b> Kalibrační křivka endosulfan II. ....	82
<b>Příloha 60:</b> Kalibrační křivka p,p'-DDT .....	83
<b>Příloha 61:</b> Kalibrační křivka endrin keton .....	83
<b>Příloha 62:</b> Kalibrační křivka DCB.....	83
<b>Příloha 63:</b> Plochy standardů a kontaminovaných vzorků .....	84

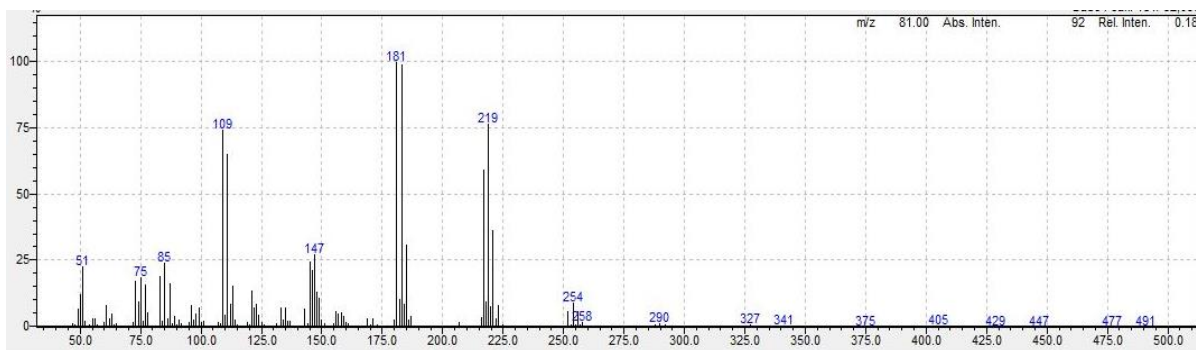
# PŘÍLOHY



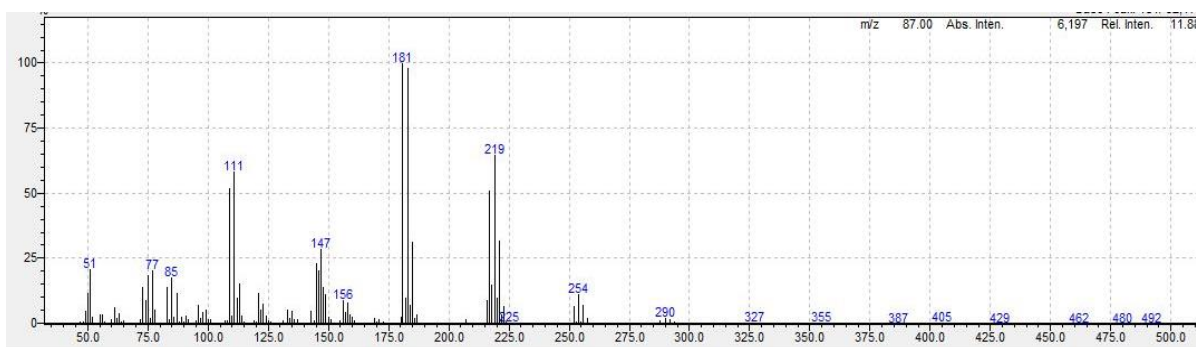
*Příloha 1: Hmotnostní spektrum TCMX v režimu SCAN*



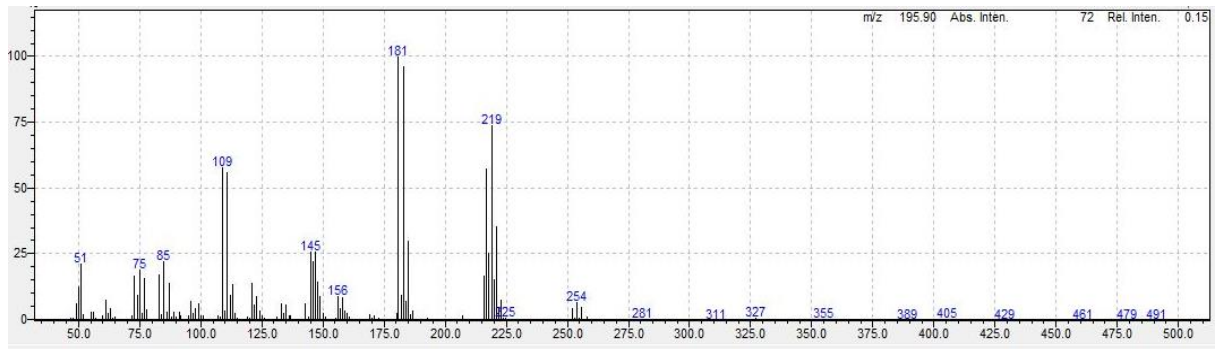
*Příloha 2: Hmotnostní spektrum  $\alpha$ -BHC v režimu SCAN*



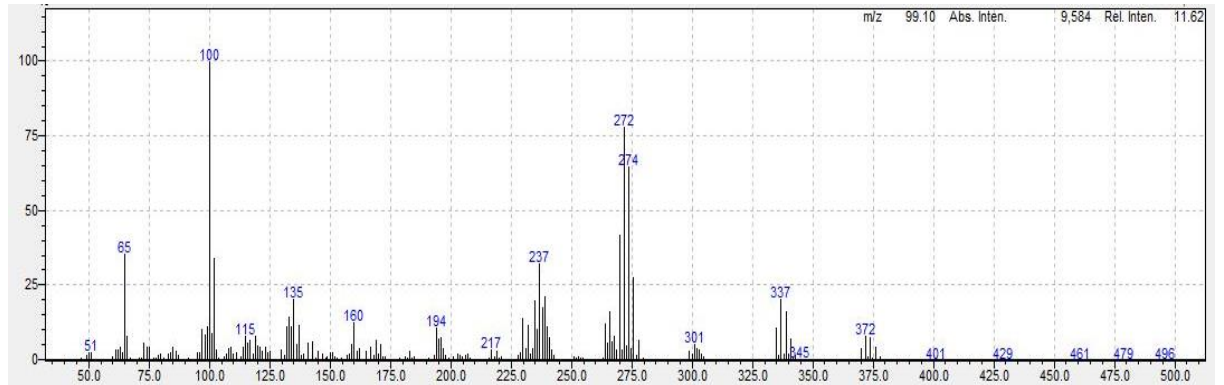
*Příloha 3: Hmotnostní spektrum  $\beta$ -BHC v režimu SCAN*



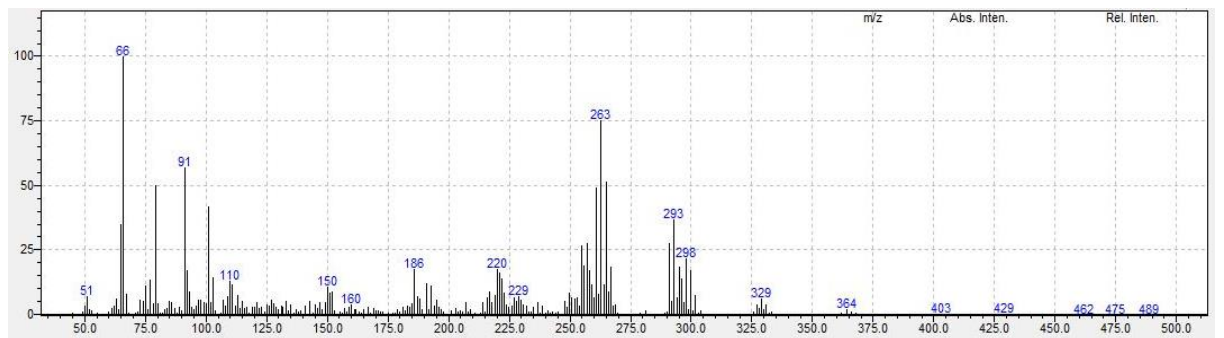
*Příloha 4: Hmotnostní spektrum lindanu v režimu SCAN*



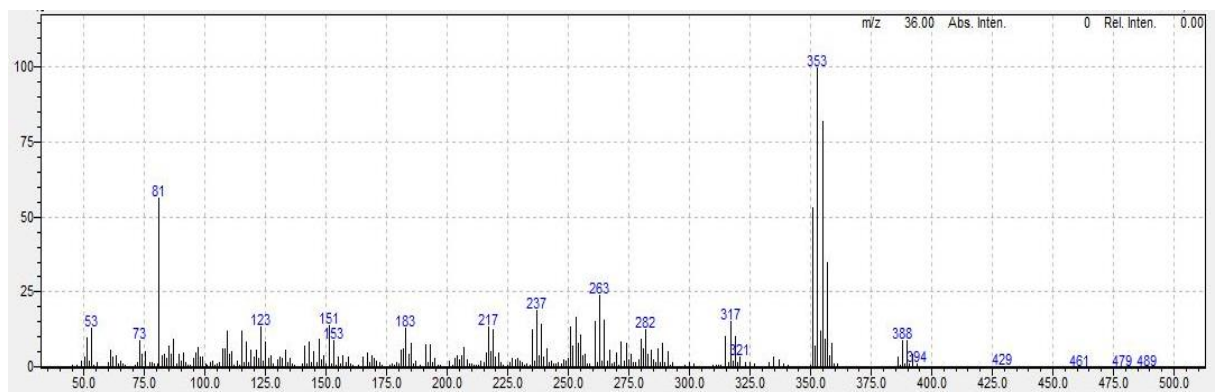
**Příloha 5: Hmotnostní spektrum  $\delta$ -BHC v režimu SCAN**



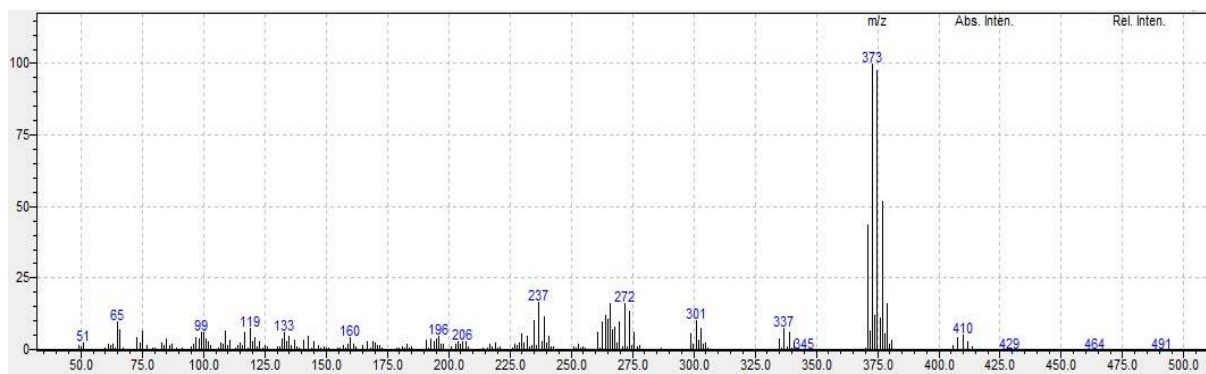
**Příloha 6: Hmotnostní spektrum heptachlor v režimu SCAN**



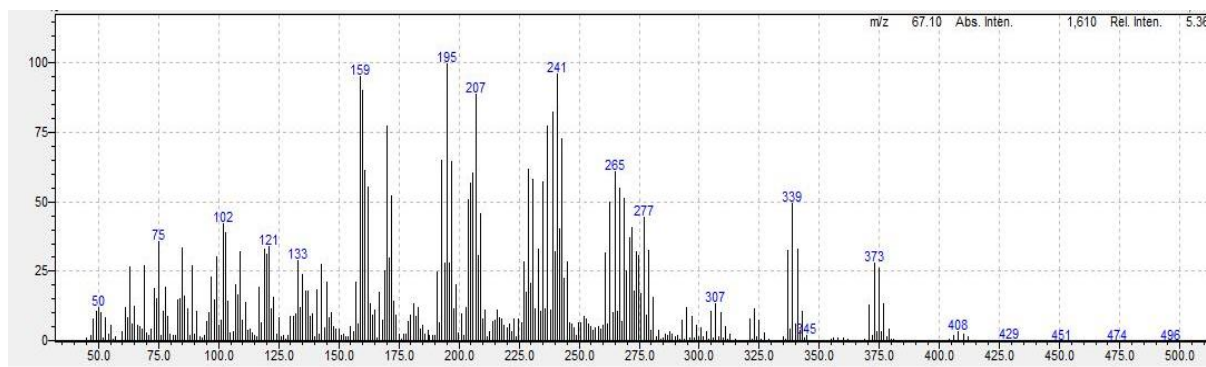
**Příloha 7: Hmotnostní spektrum aldrin v režimu SCAN**



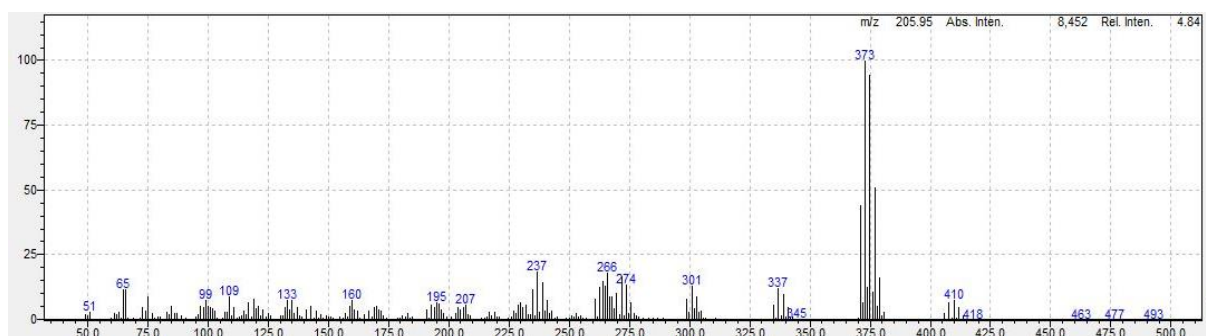
**Příloha 8: Hmotnostní spektrum heptachlor epoxid v režimu SCAN**



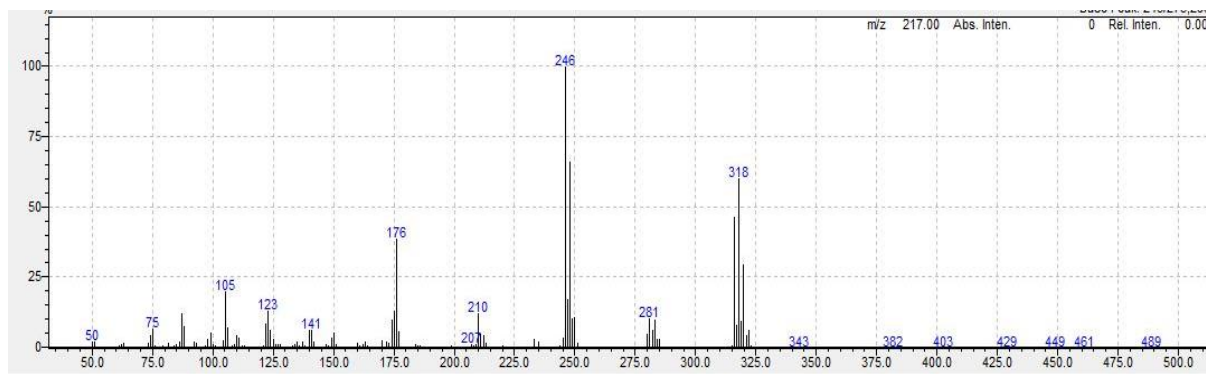
**Příloha 9:** Hmotnostní spektrum *trans*-chlordan v režimu SCAN



**Příloha 10:** Hmotnostní spektrum endosulfan I. v režimu SCAN

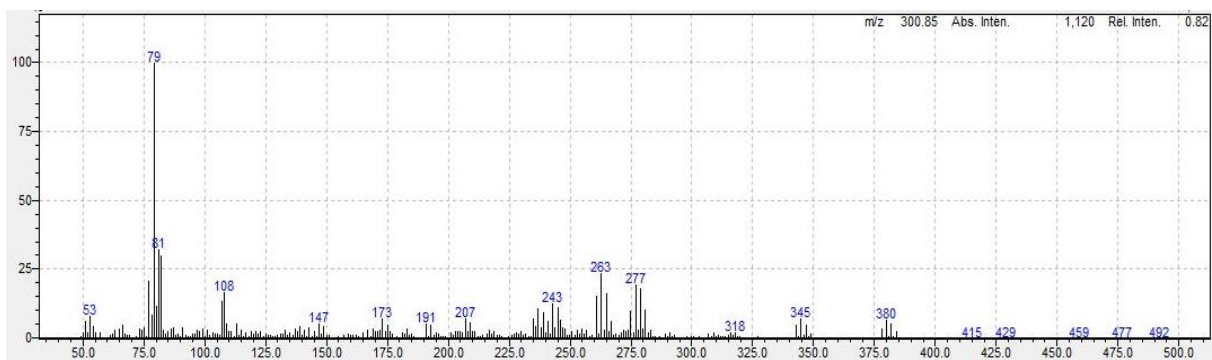


**Příloha 11:** Hmotnostní spektrum *cis*-chlordan v režimu SCAN

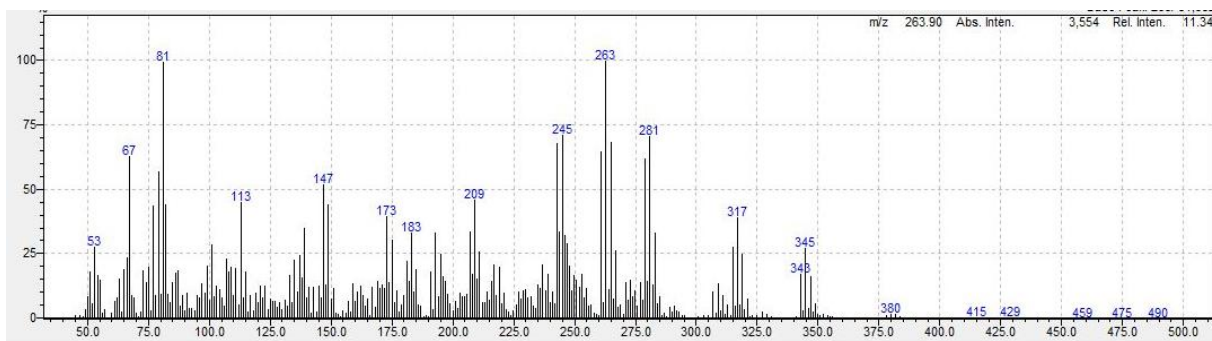


**Příloha 12:** Hmotnostní spektrum *p,p'*-DDE v režimu SCAN

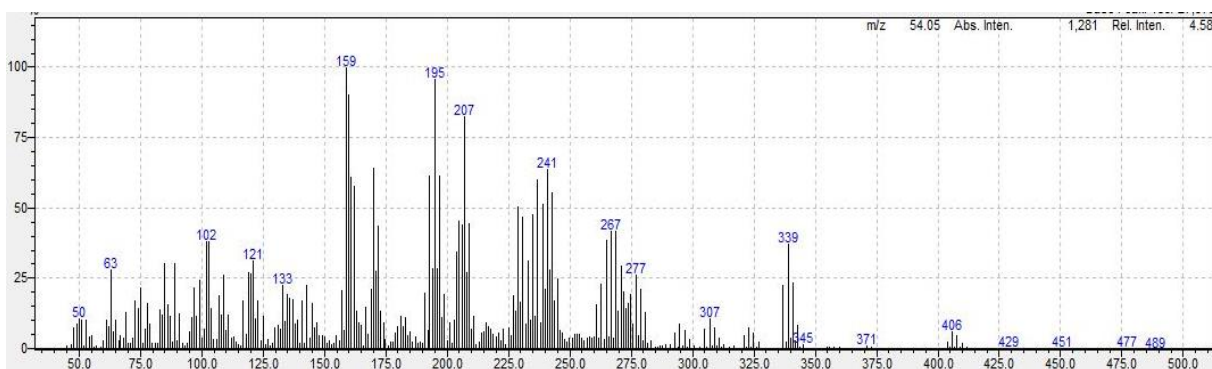




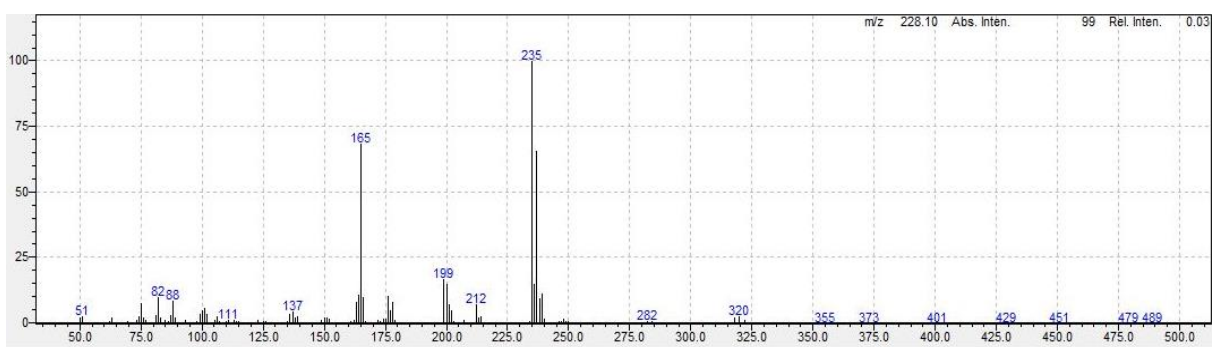
**Příloha 13:** Hmotnostní spektrum dieldrin v režimu SCAN



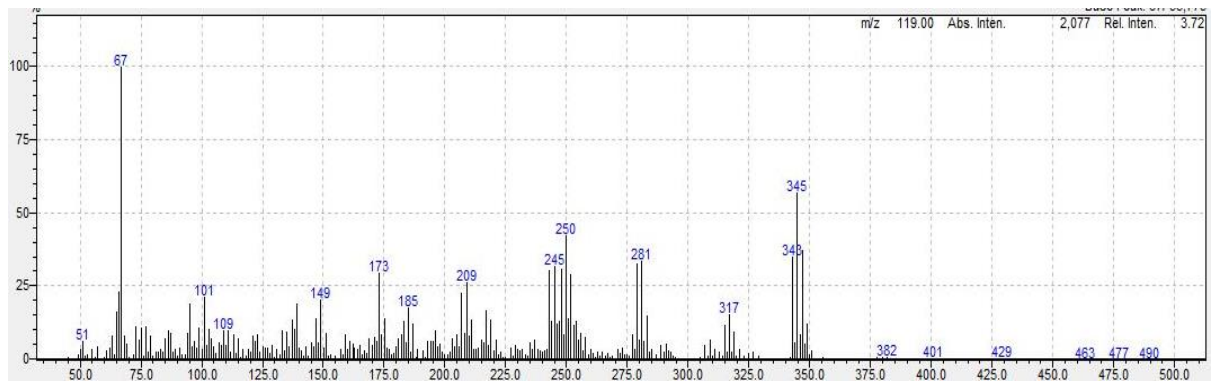
**Příloha 14:** Hmotnostní spektrum endrin v režimu SCAN



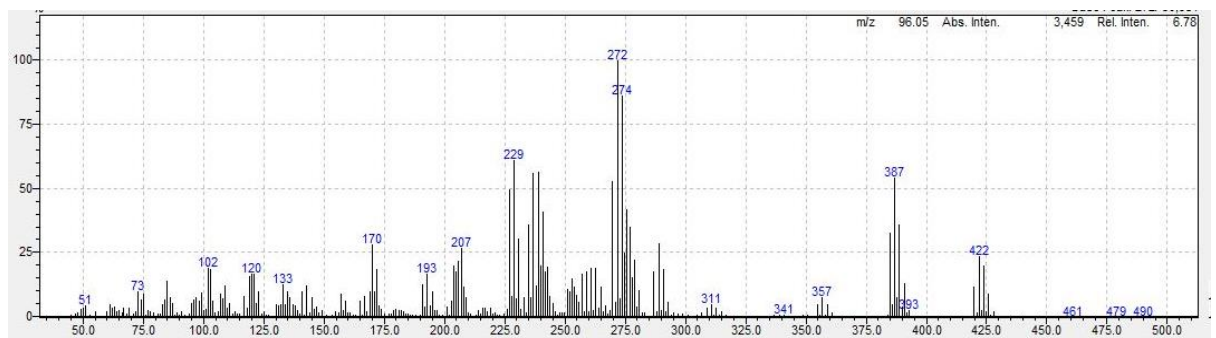
**Příloha 15:** Hmotnostní spektrum endosulfan II. V režimu SCAN



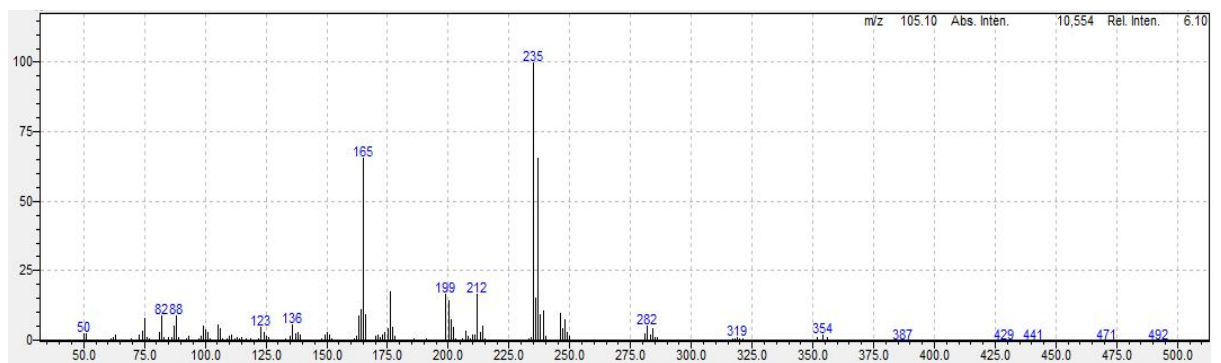
**Příloha 16:** Hmotnostní spektrum p,p'-DDD v režimu SCAN



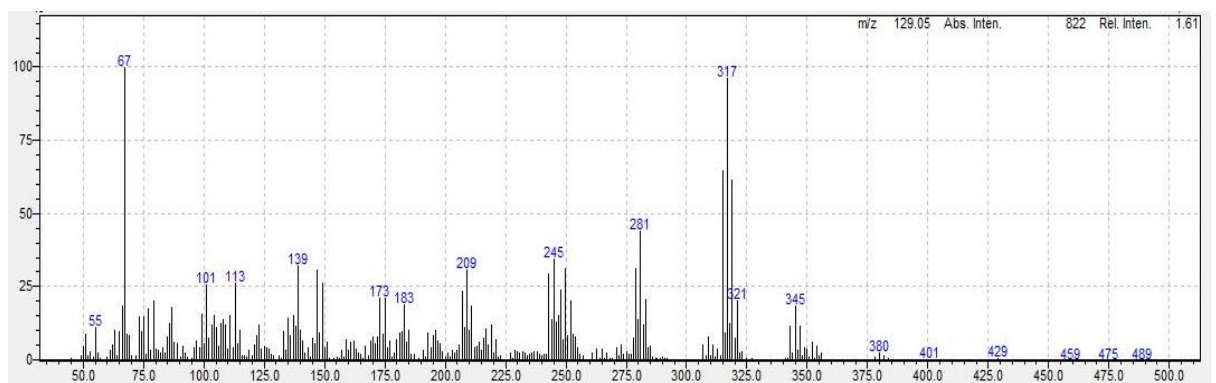
**Příloha 17: Hmotnostní spektrum endrin aldehyd v režimu SCAN**



**Příloha 18: Hmotnostní spektrum endosulfan sulfát v režimu SCAN**

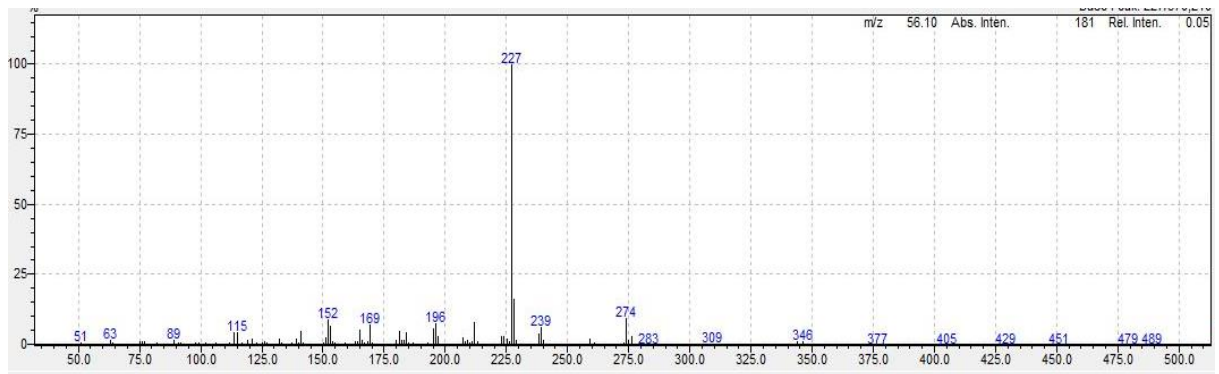


**Příloha 19: Hmotnostní spektrum p,p'- DDT v režimu SCAN**

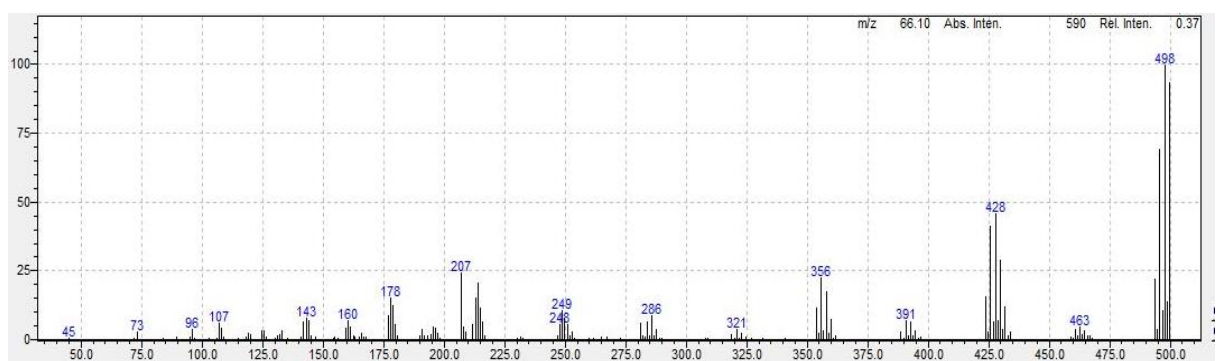


**Příloha 20: Hmotnostní spektrum endrin keton v režimu SCAN**

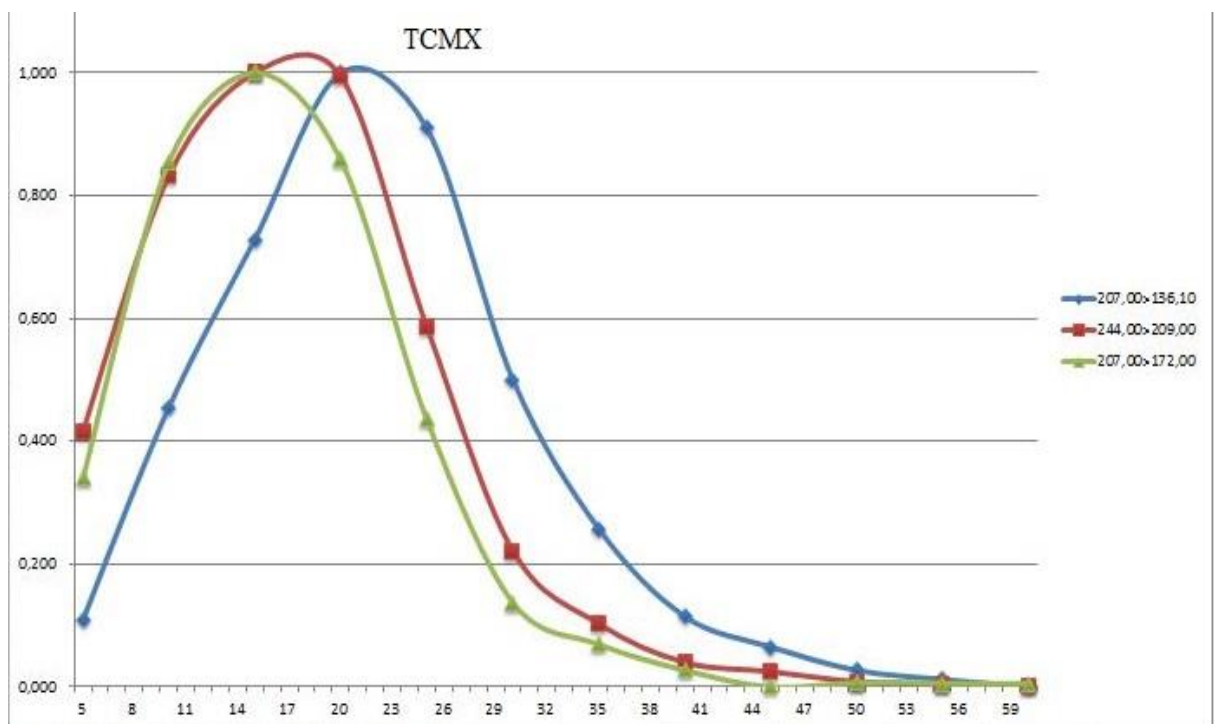




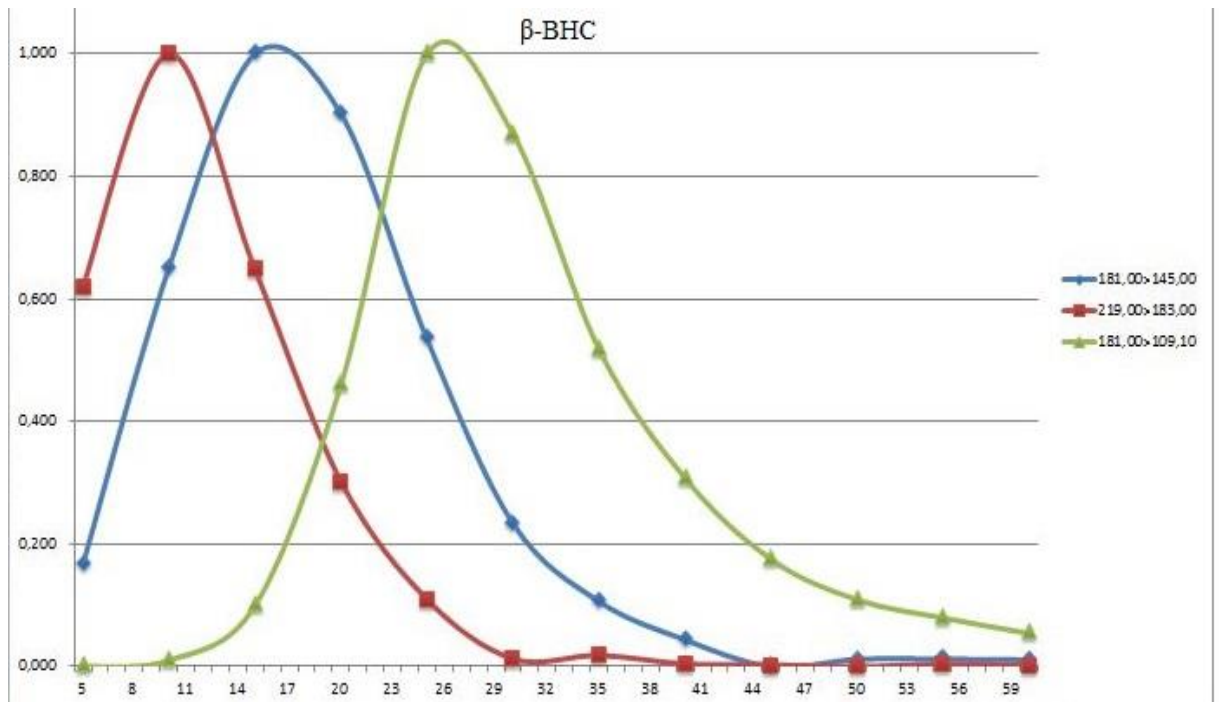
**Příloha 21:** Hmotnostní spektrum metoxychlor v režimu SCAN



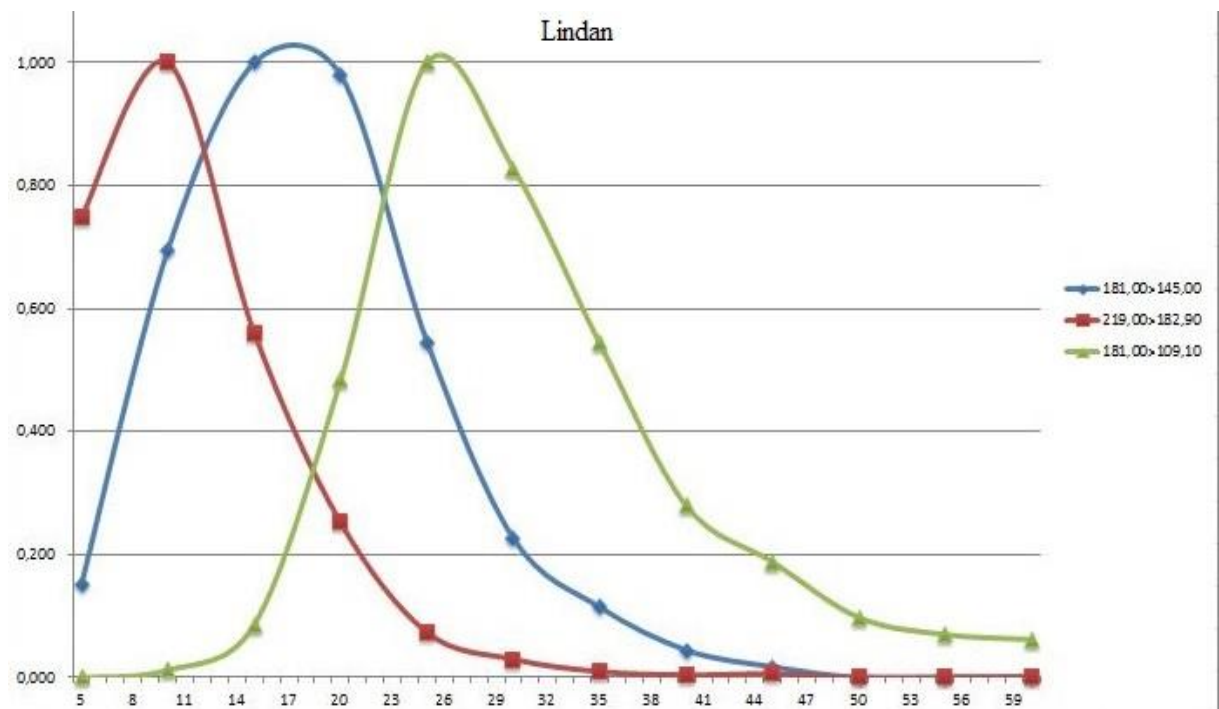
**Příloha 22:** Hmotnostní spektrum DCB v režimu SCAN



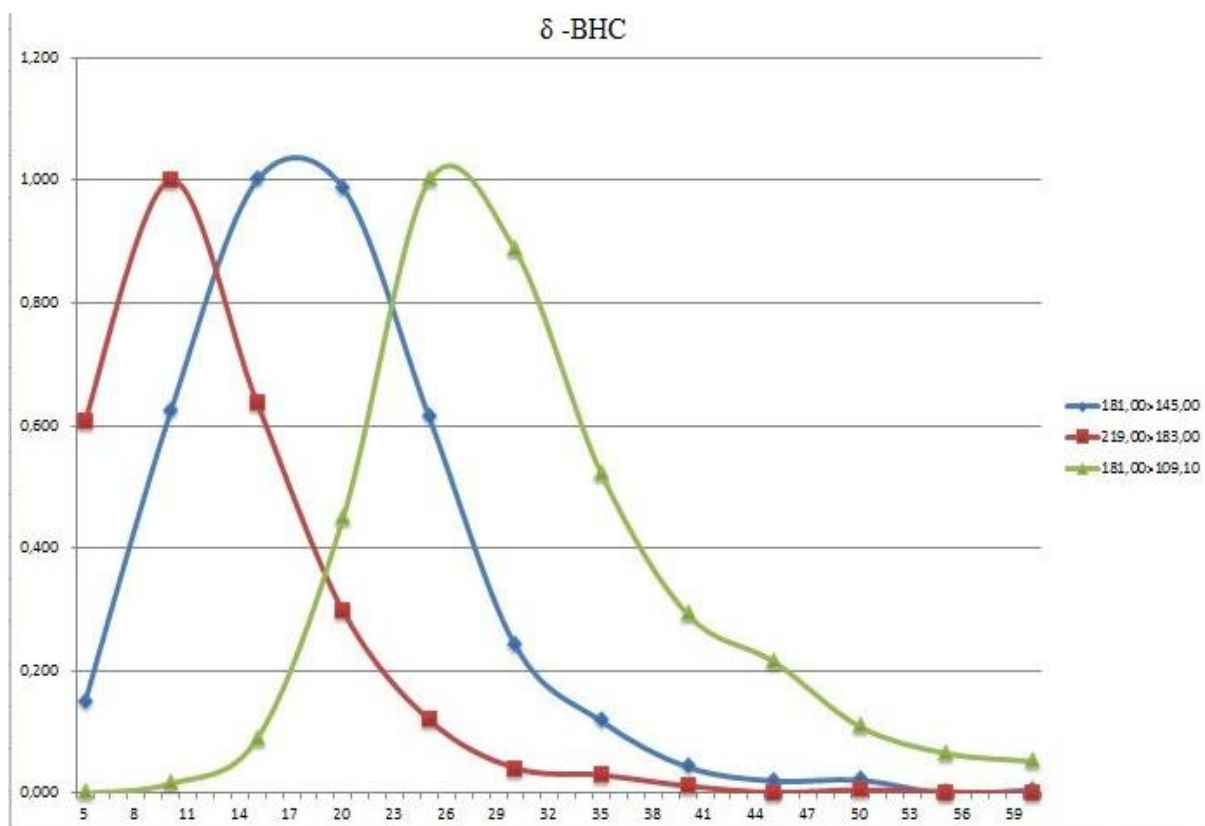
**Příloha 23:** Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro TCMX



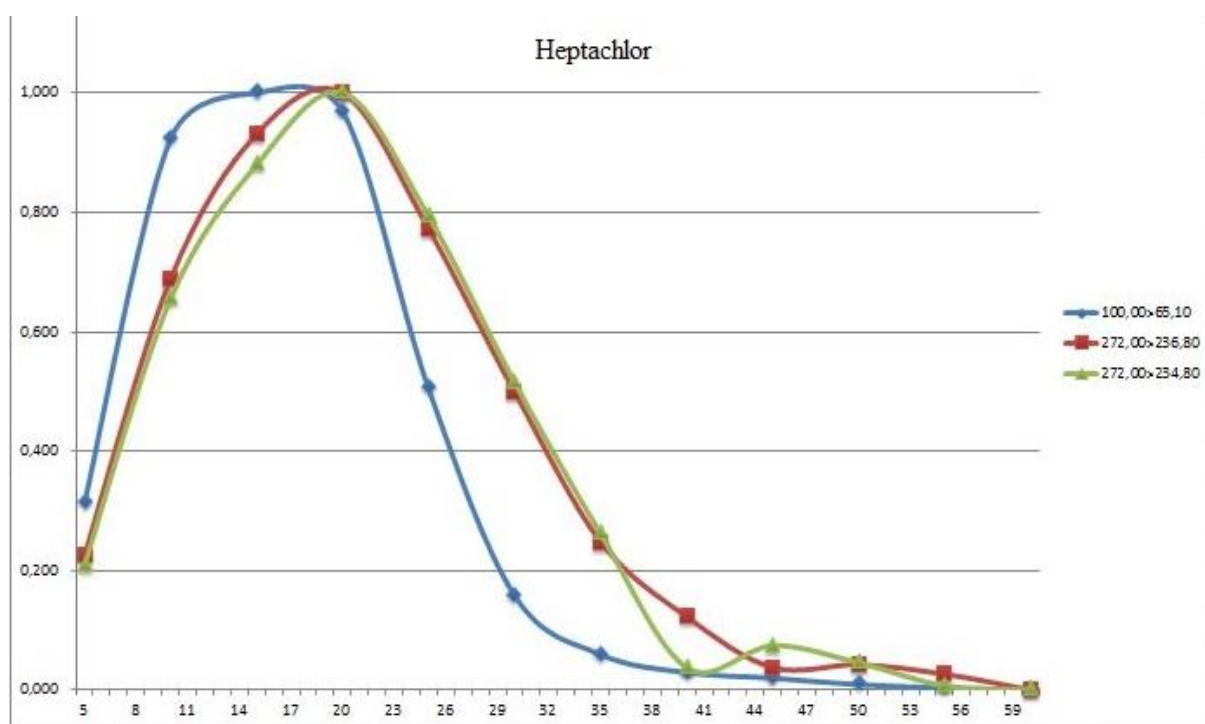
*Příloha 24: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro β-BHC*



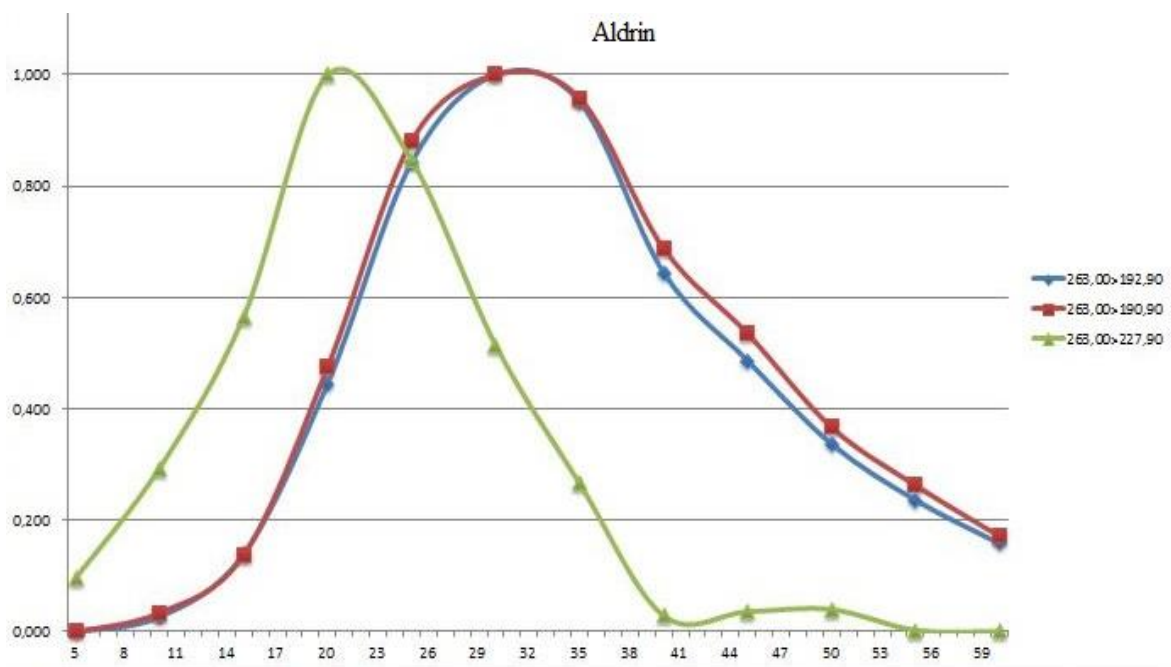
*Příloha 25: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro lindan*



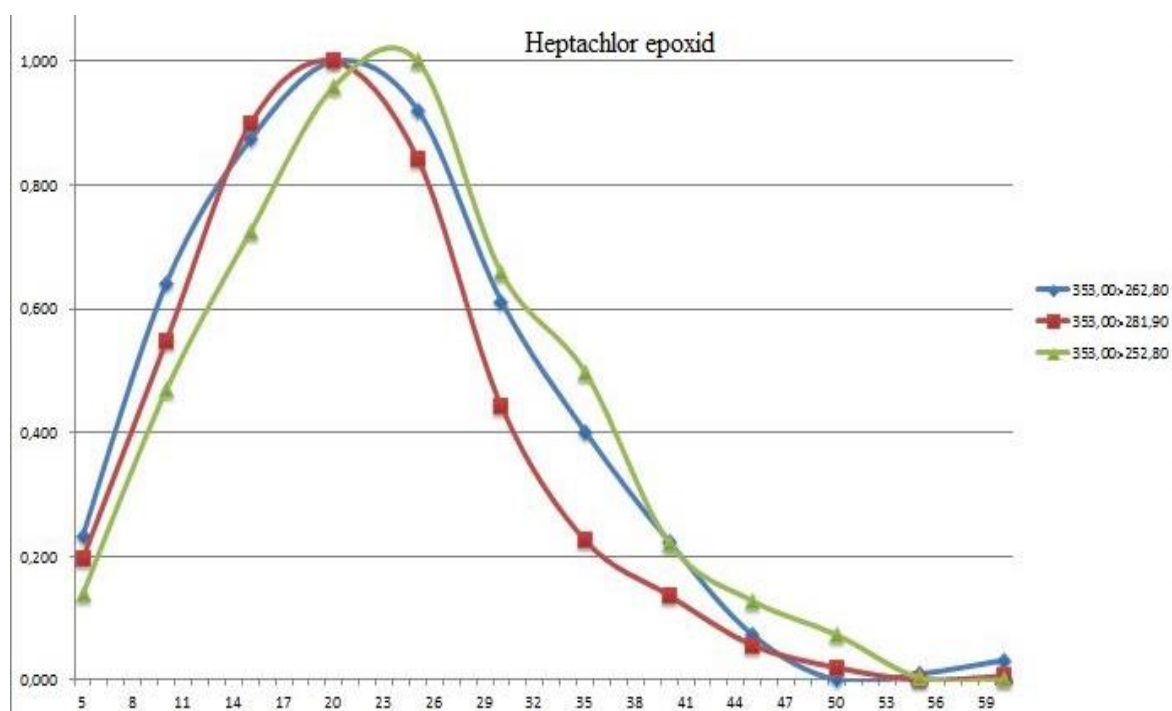
*Příloha 26: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro δ-BHC*



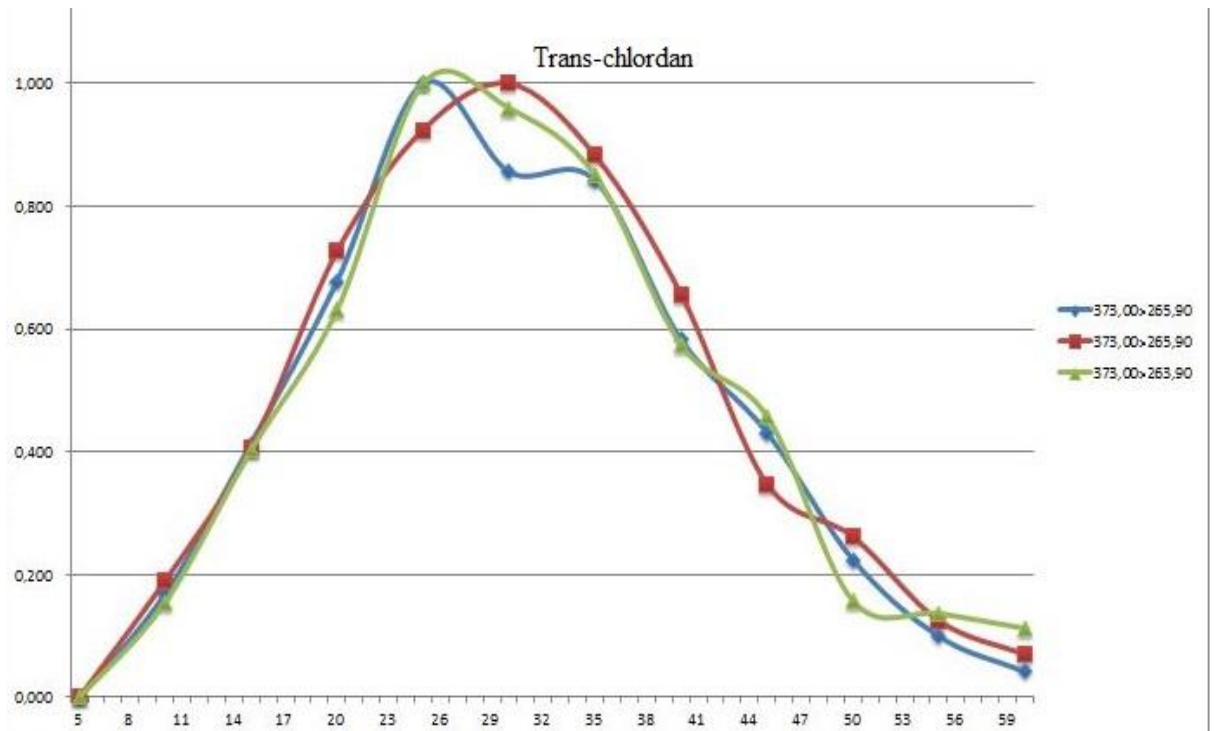
*Příloha 27: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro heptachlor*



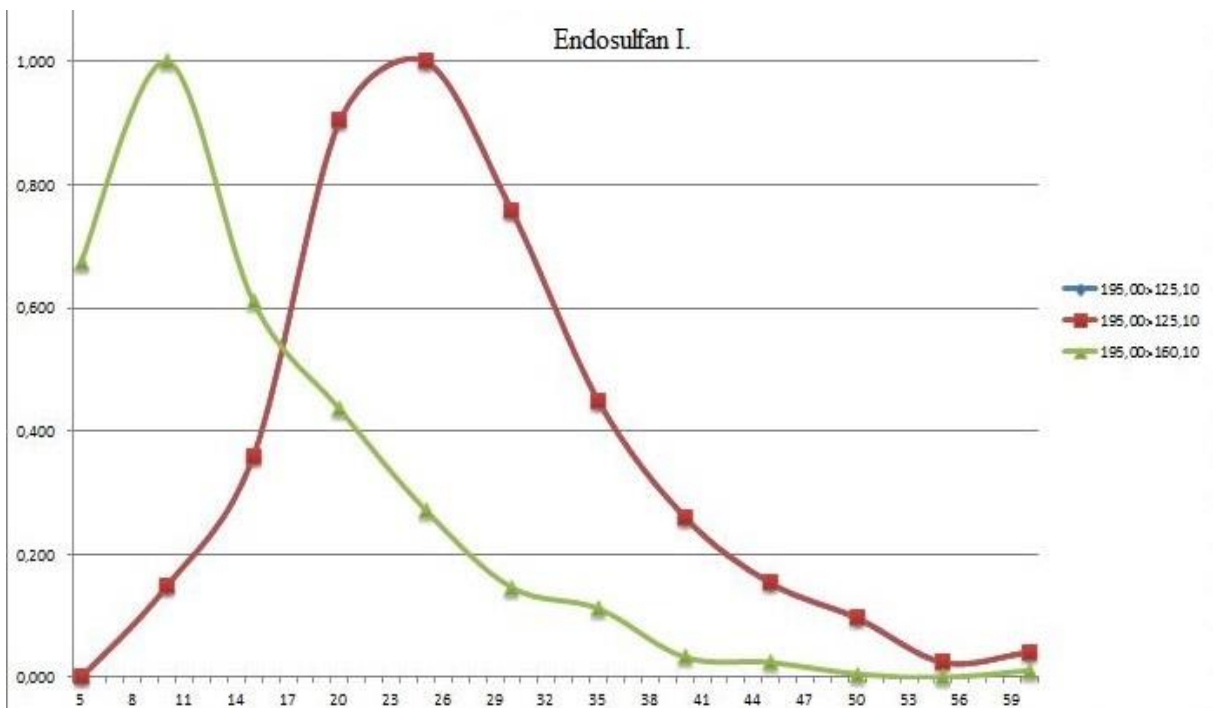
*Příloha 28: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro aldrin*



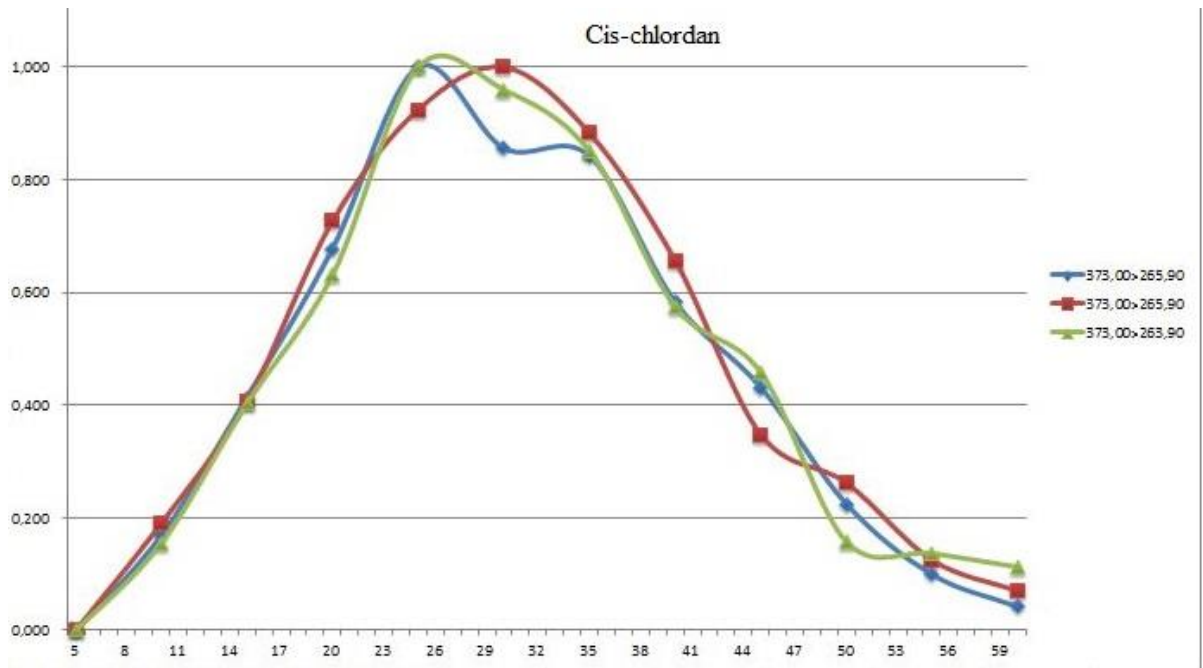
*Příloha 29: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro heptachlorepoxid*



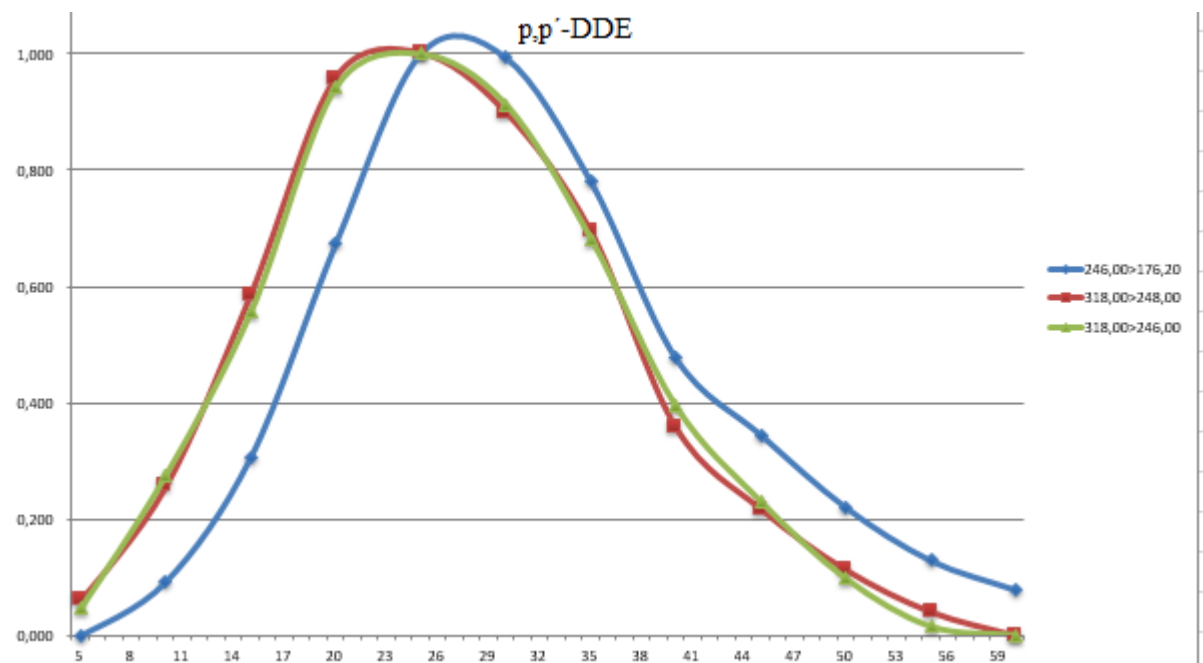
Příloha 30: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro trans-chlordan



Příloha 31: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan I.

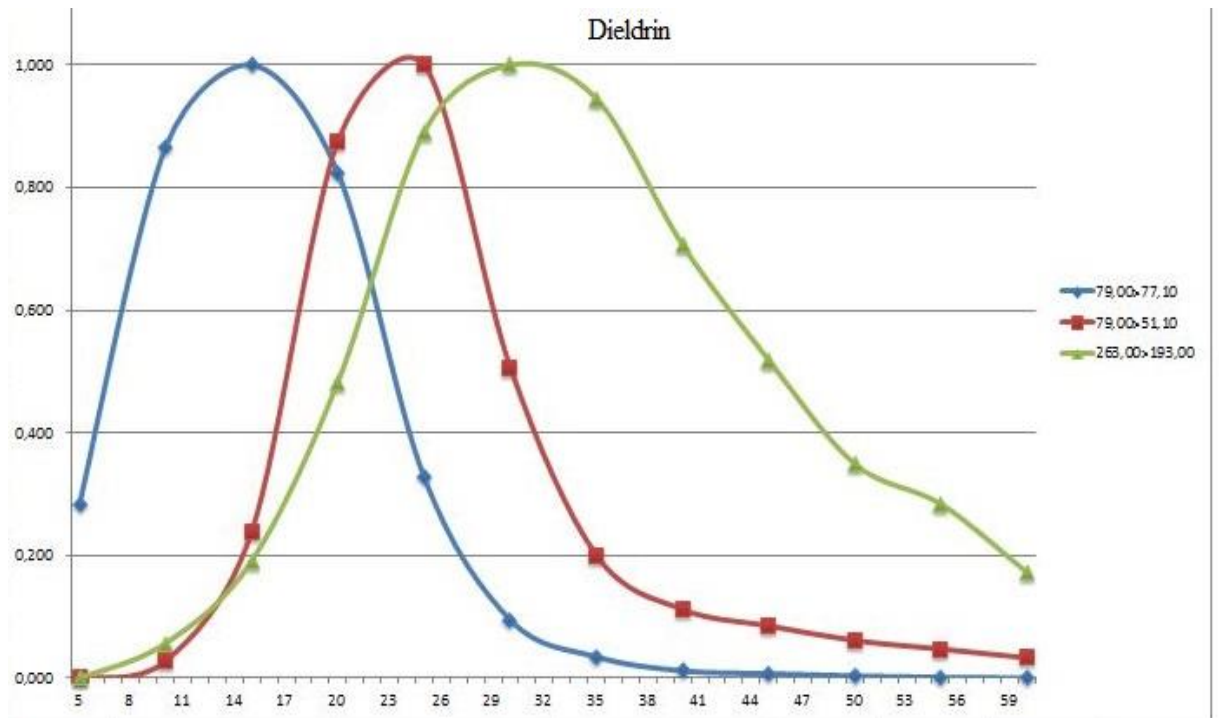


*Příloha 32: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro cis-chlordan*

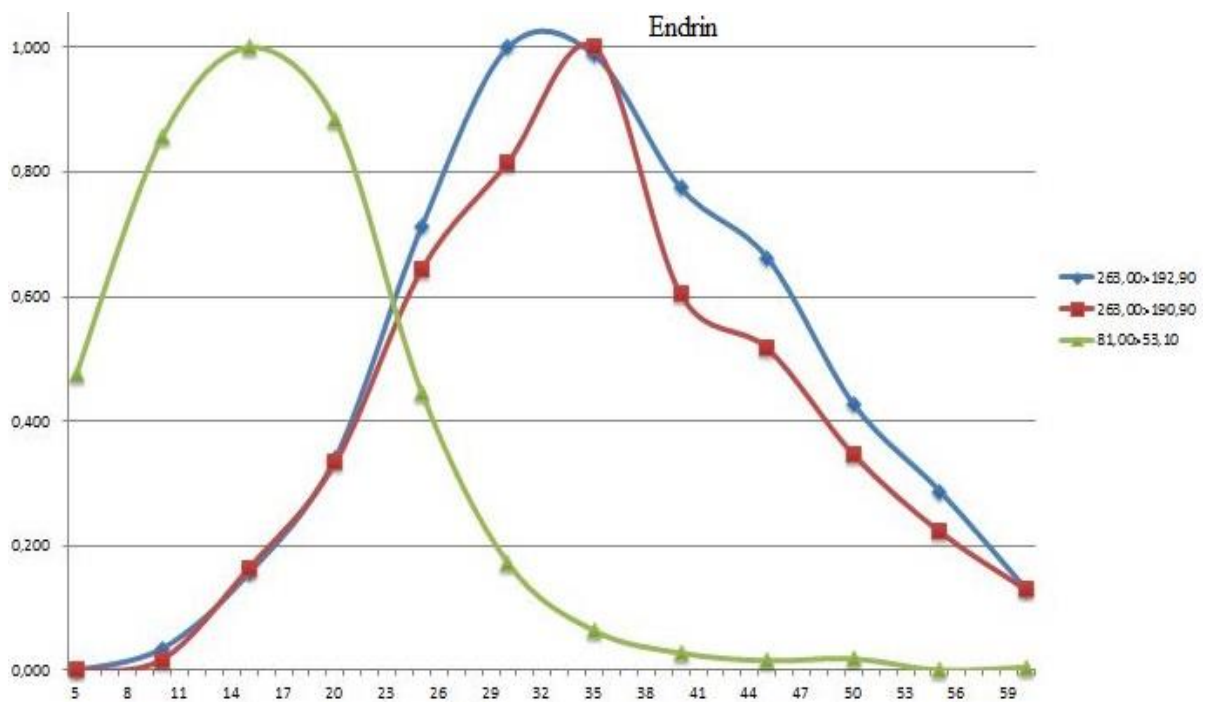


*Příloha 33: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p,p'-DDE*

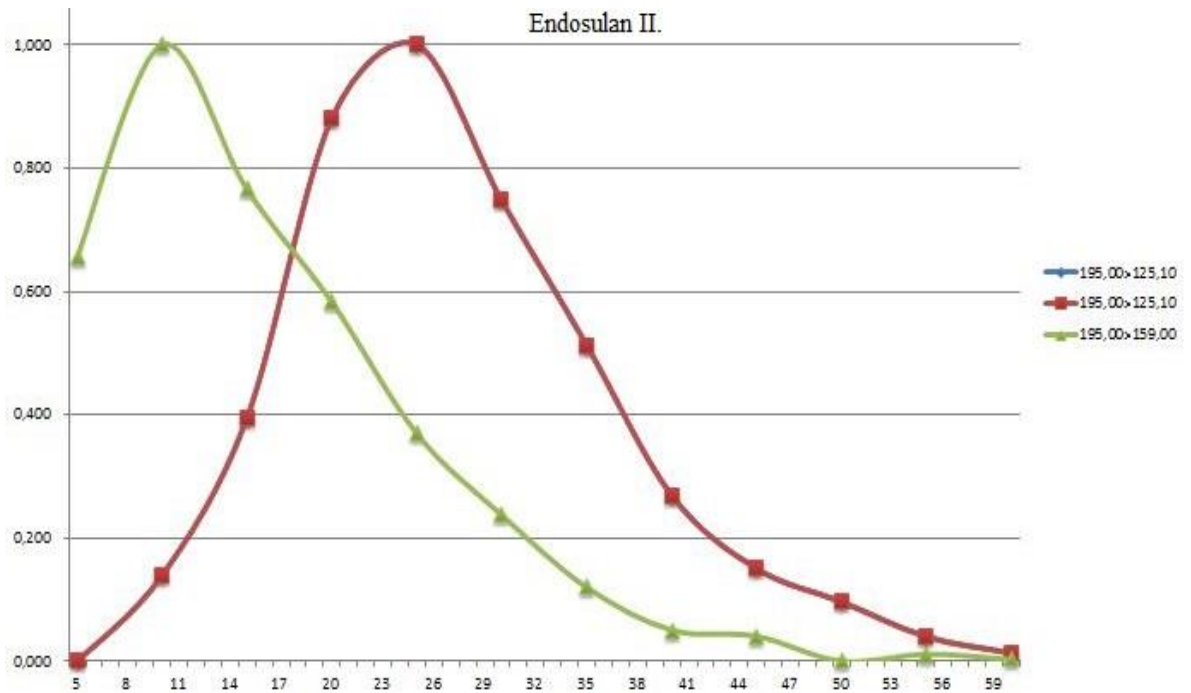




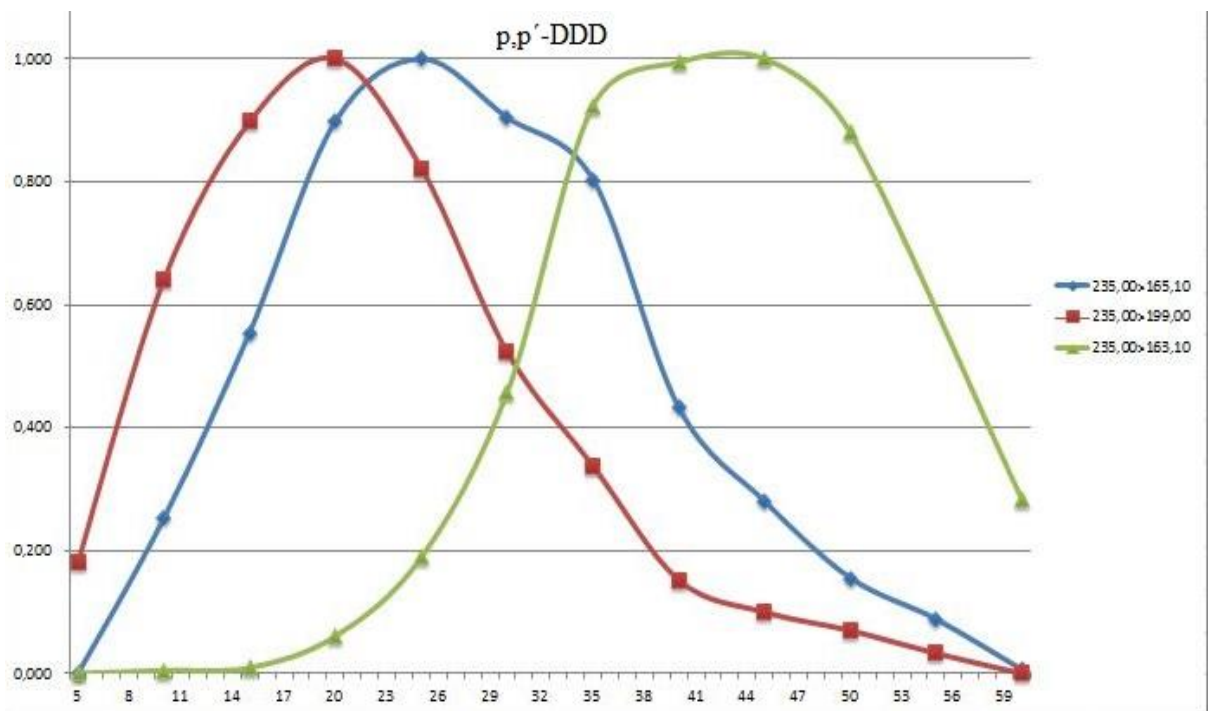
*Příloha 34: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro dieldrin*



*Příloha 35: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin*

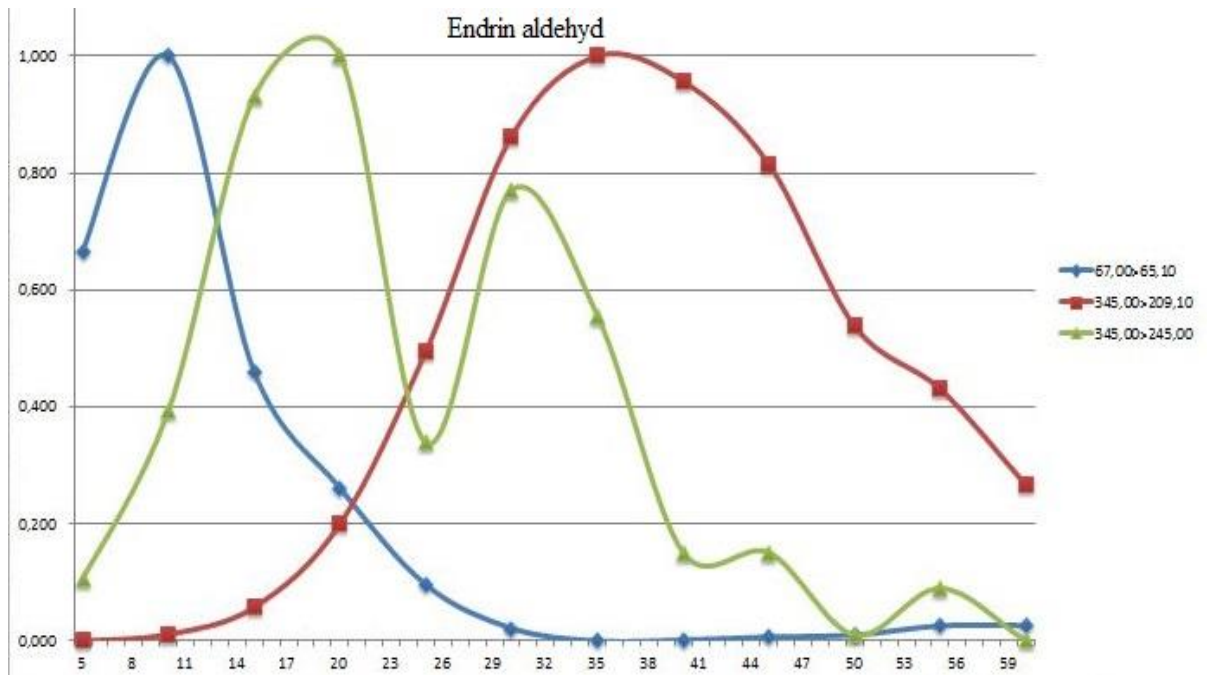


Příloha 36: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan II.

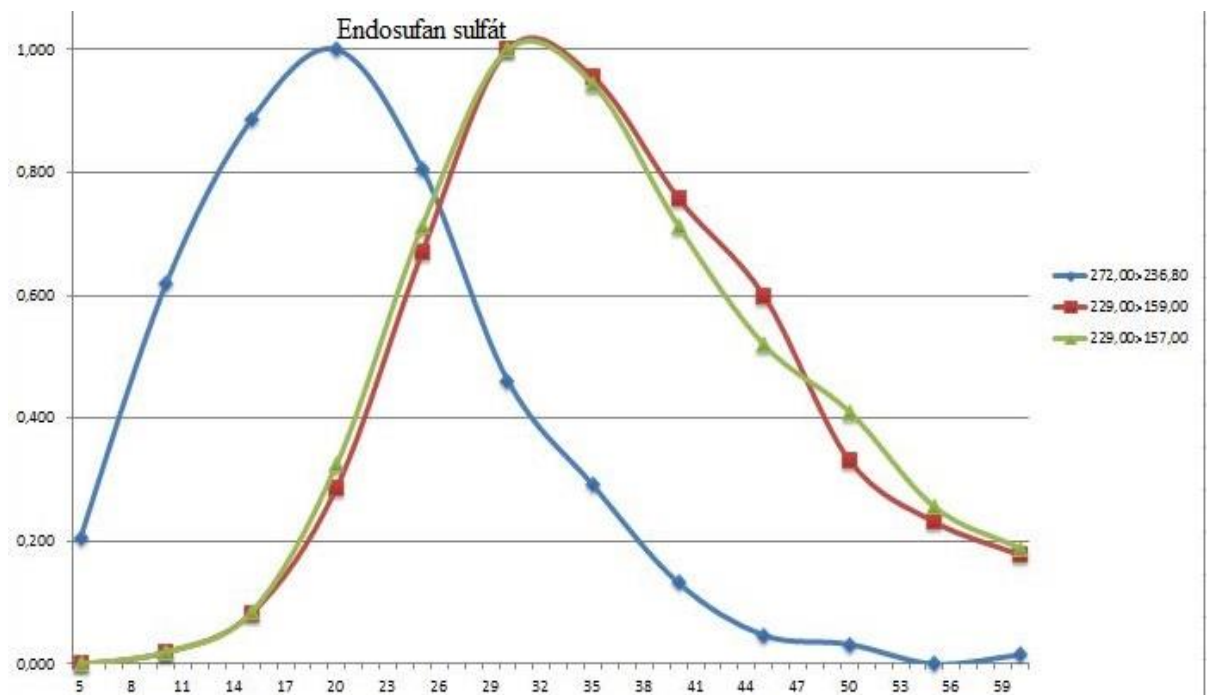


Příloha 37: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p.p'-DDD

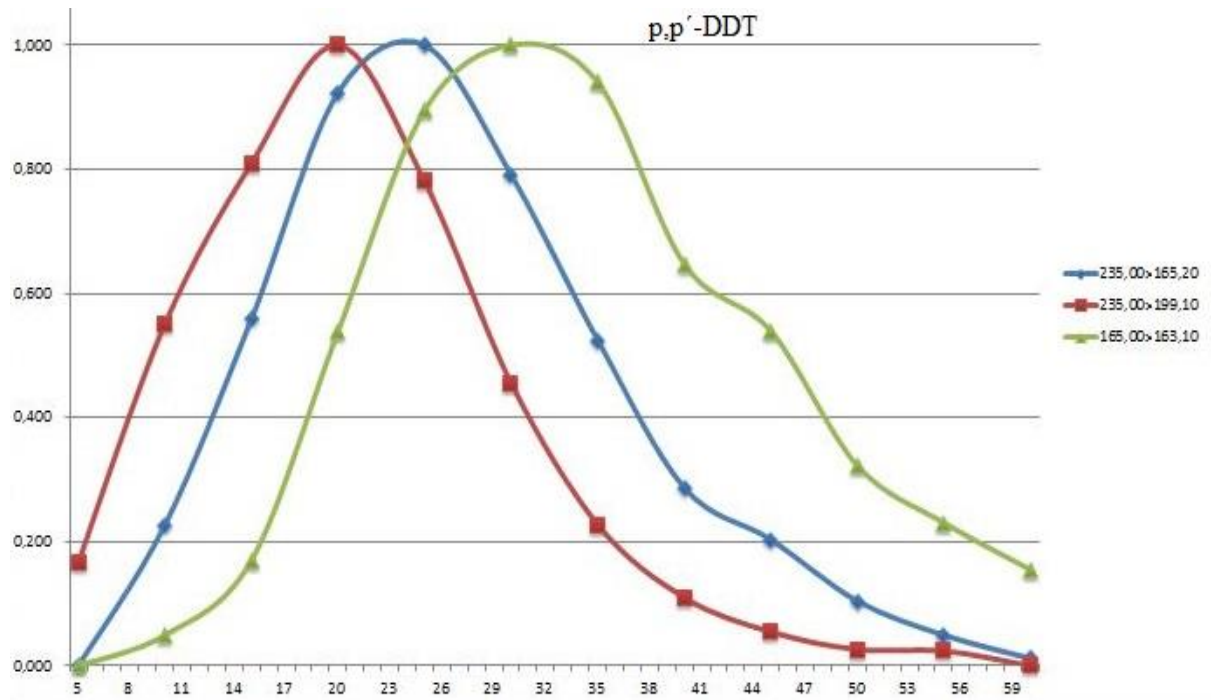




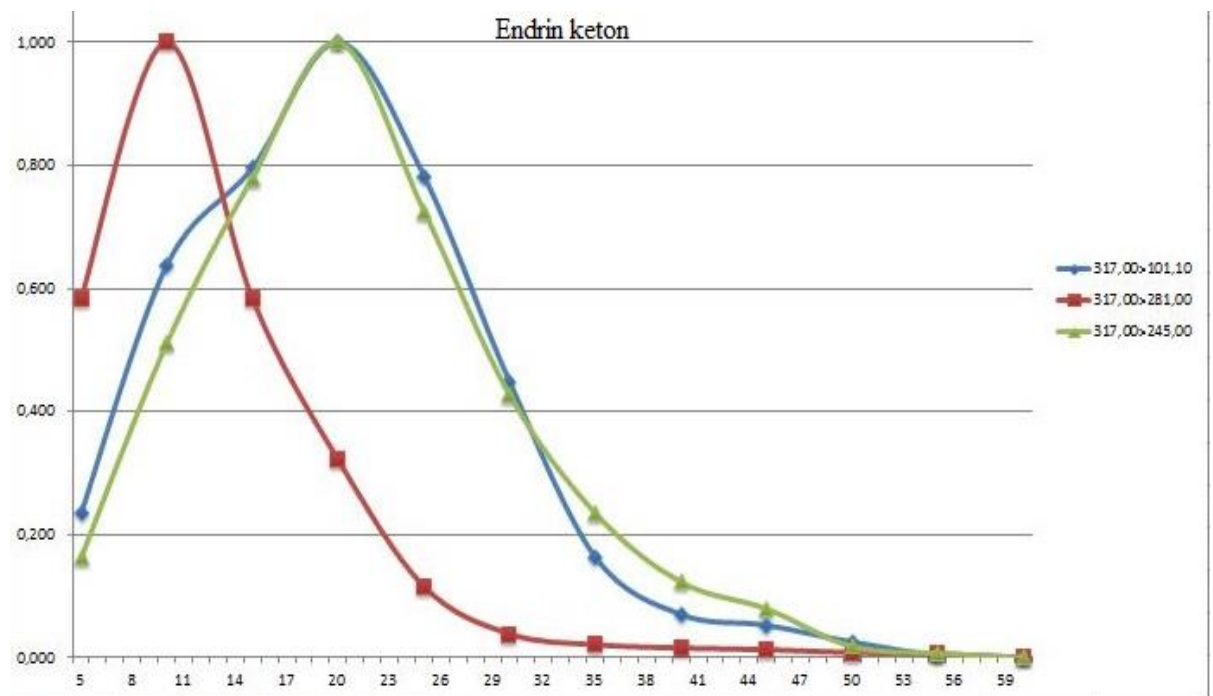
Příloha 38: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin aldehyd



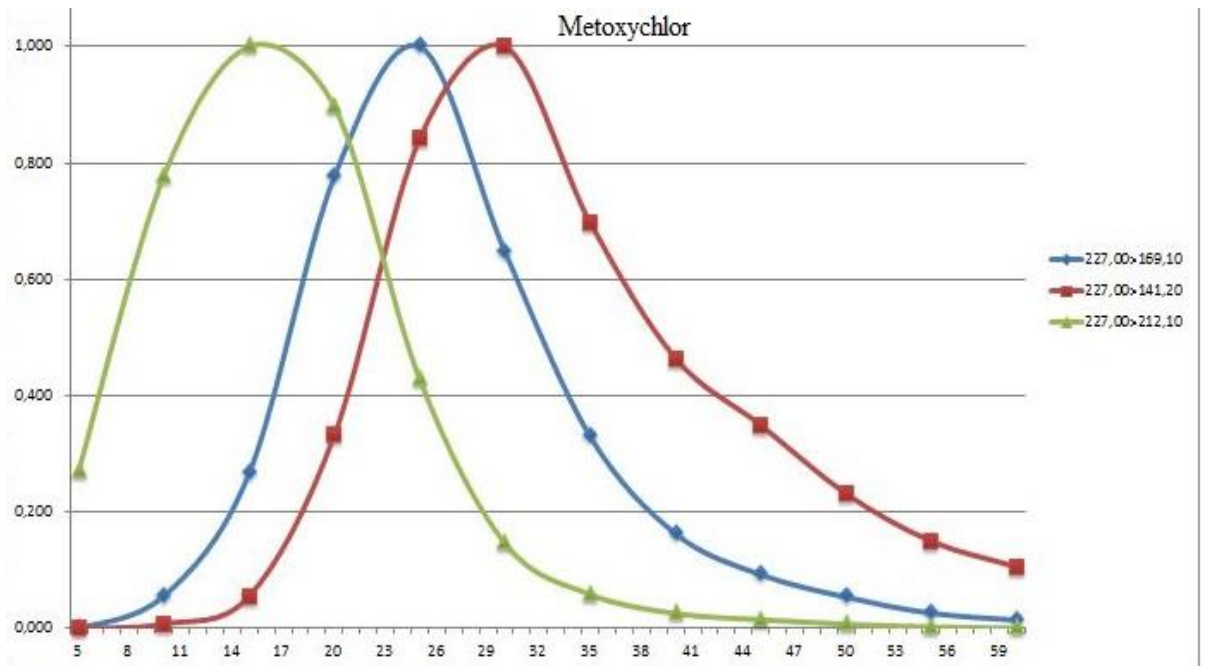
Příloha 39: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endosulfan sulfát



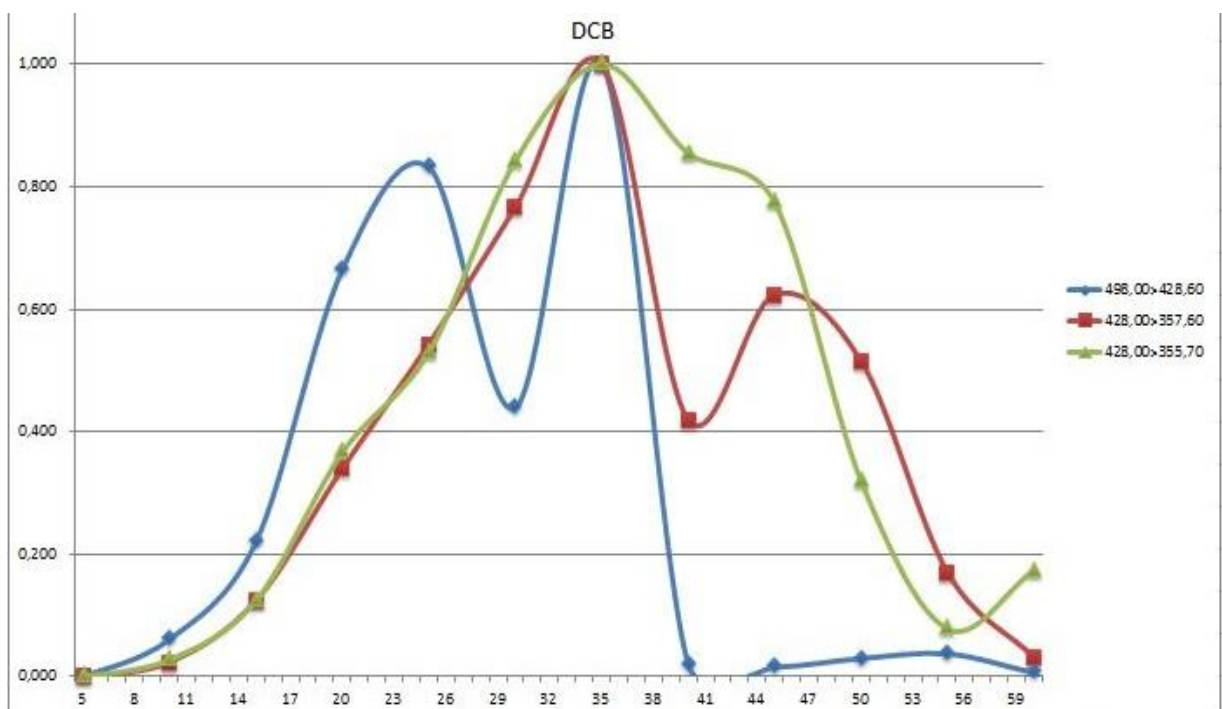
**Příloha 40:** Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro p,p'-DDT



**Příloha 41:** Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro endrin keton

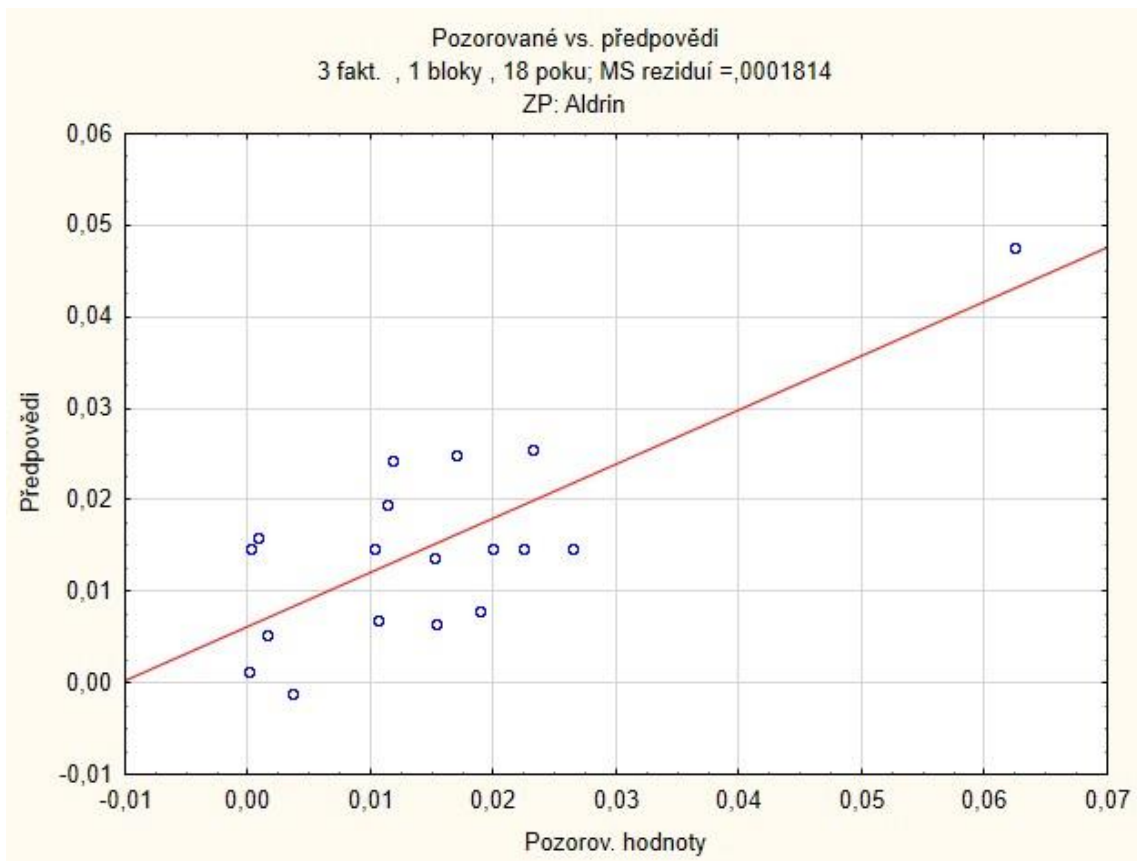


Příloha 42: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro metoxychlor

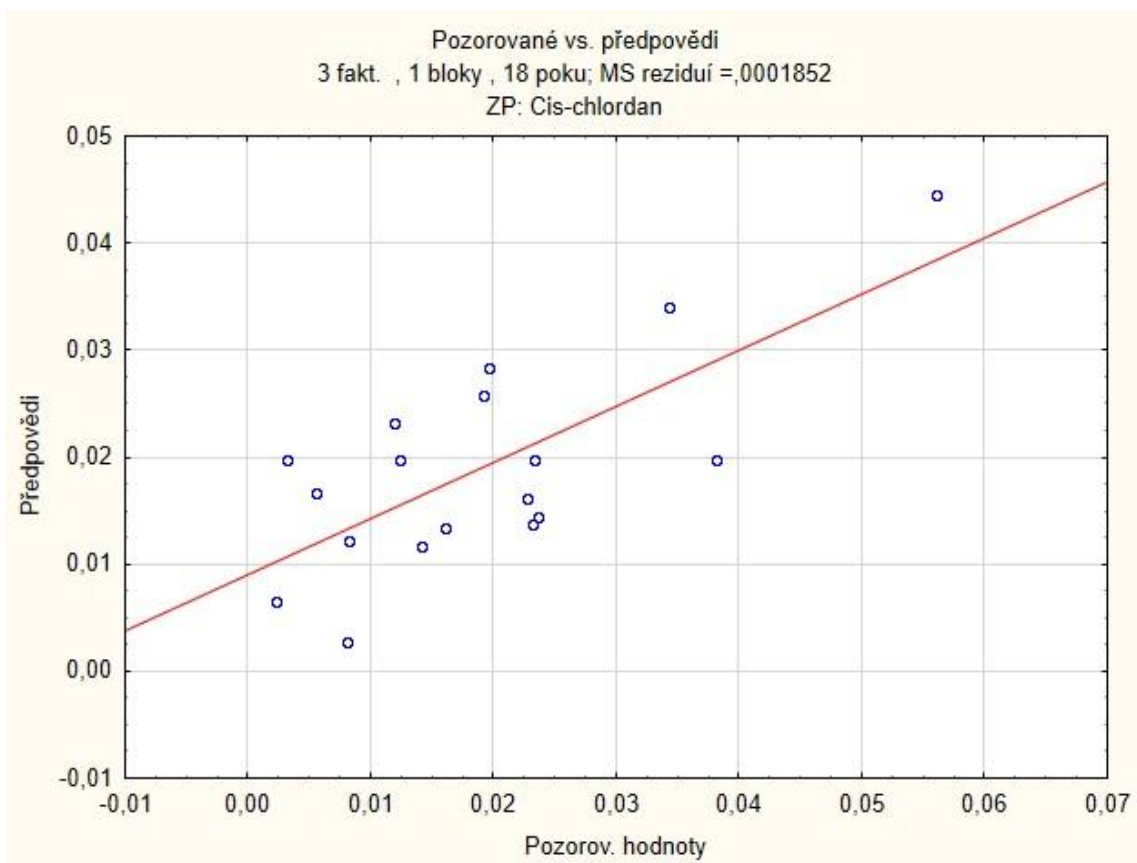


Příloha 43: Grafické znázornění vybraných přechodů a kolizních energií pro režim MRM pro DCB



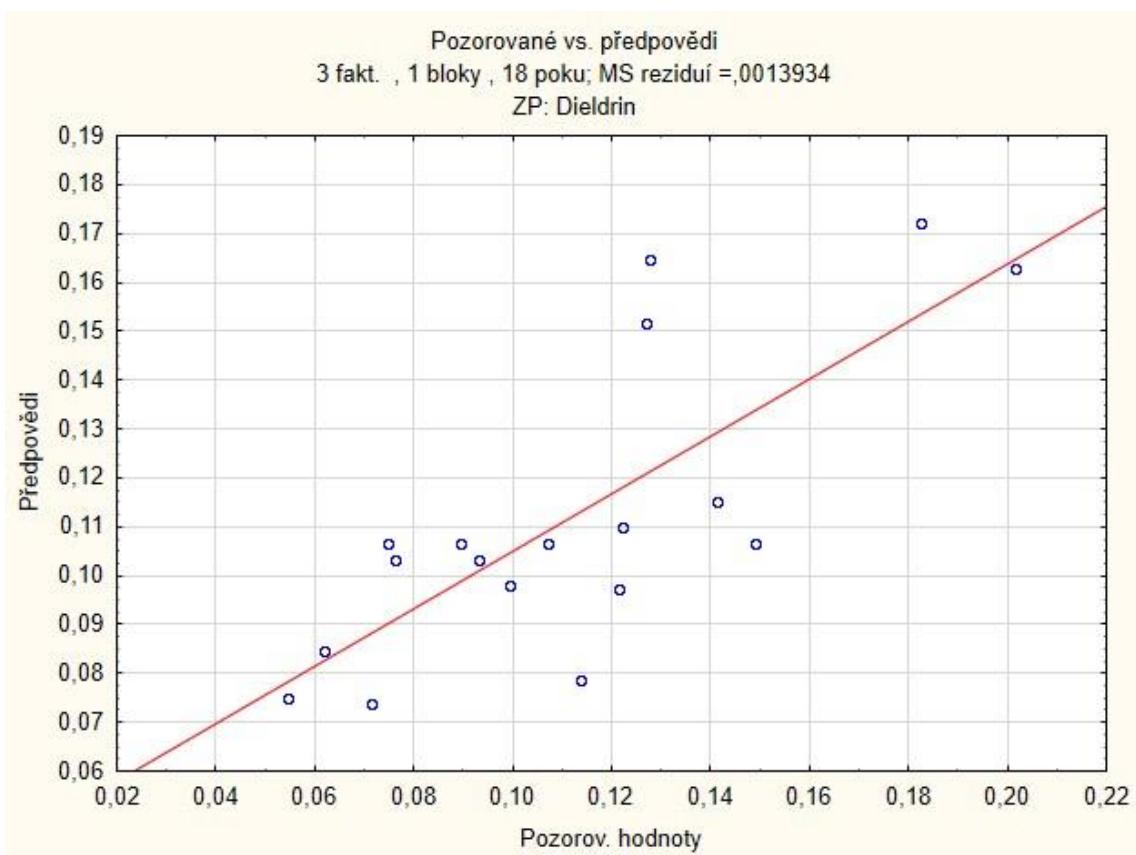


*Příloha 46: Pozorované vs. předpovědi pro látku aldrin*

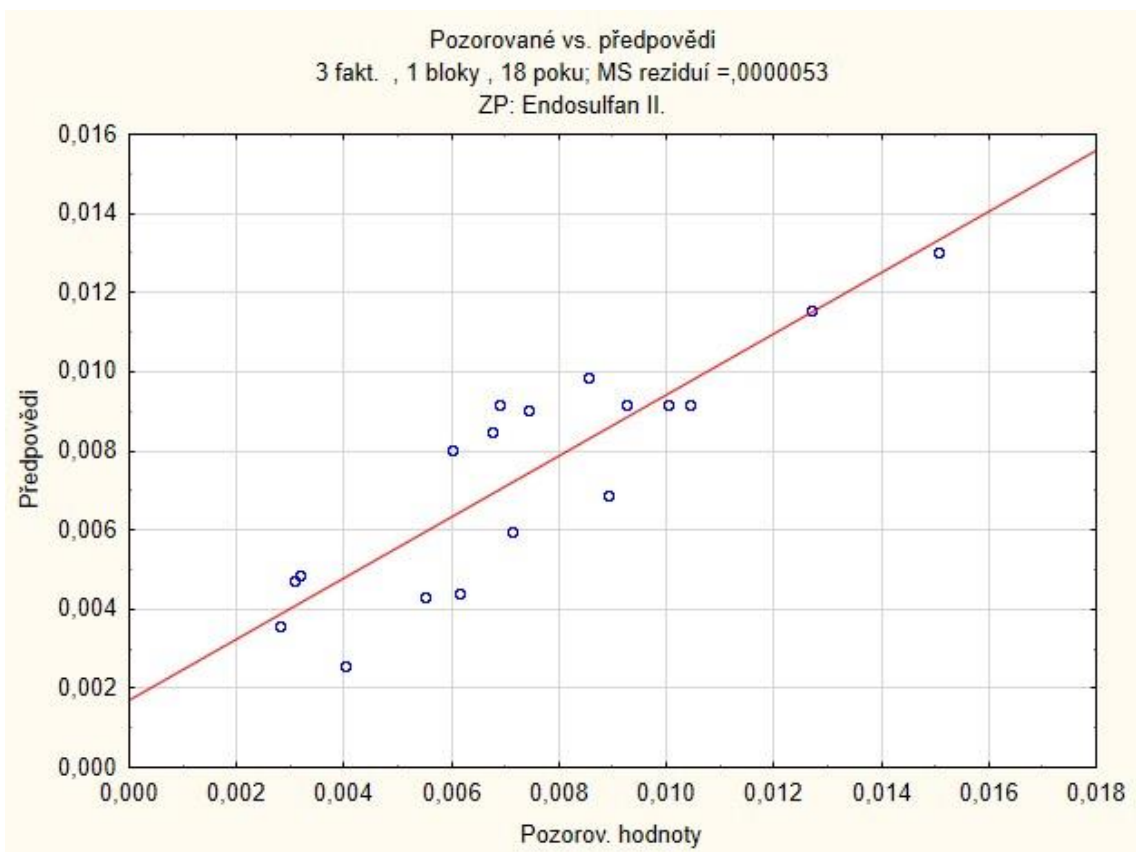


*Příloha 47: Pozorované vs. předpovědi pro látku cis-chlordan*

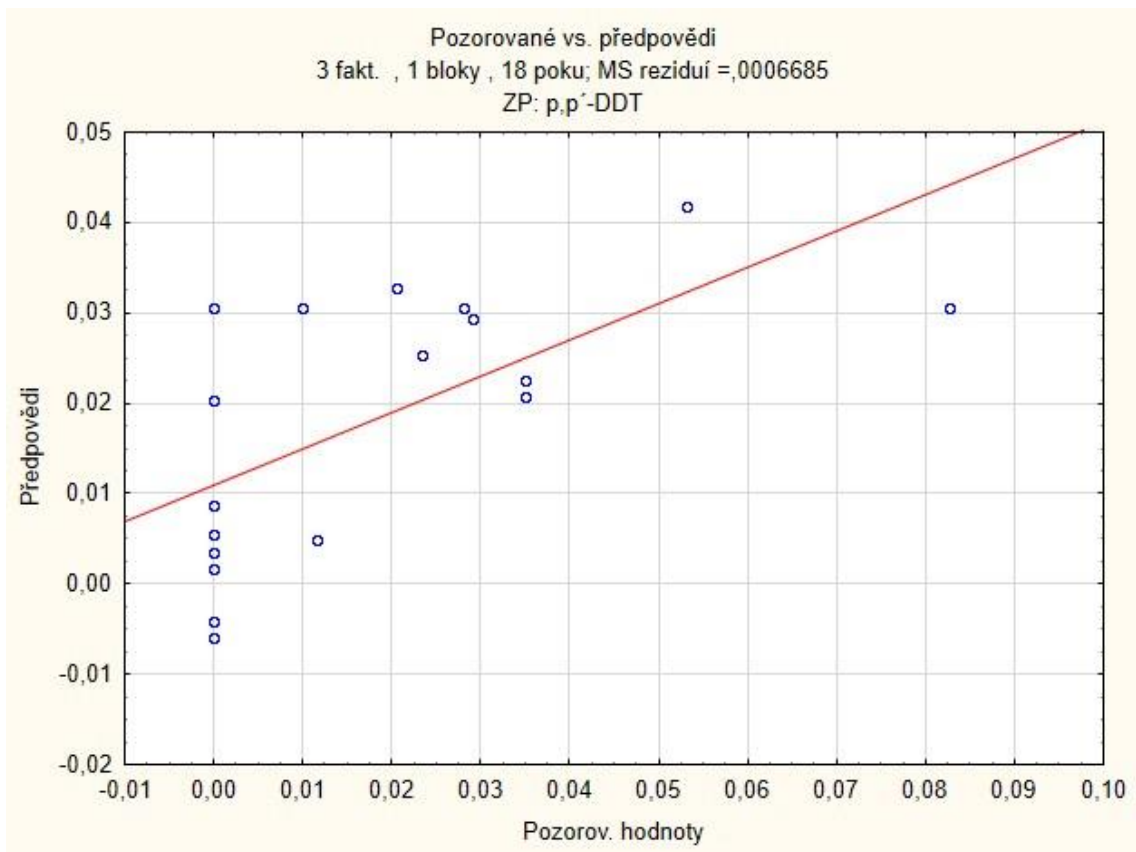




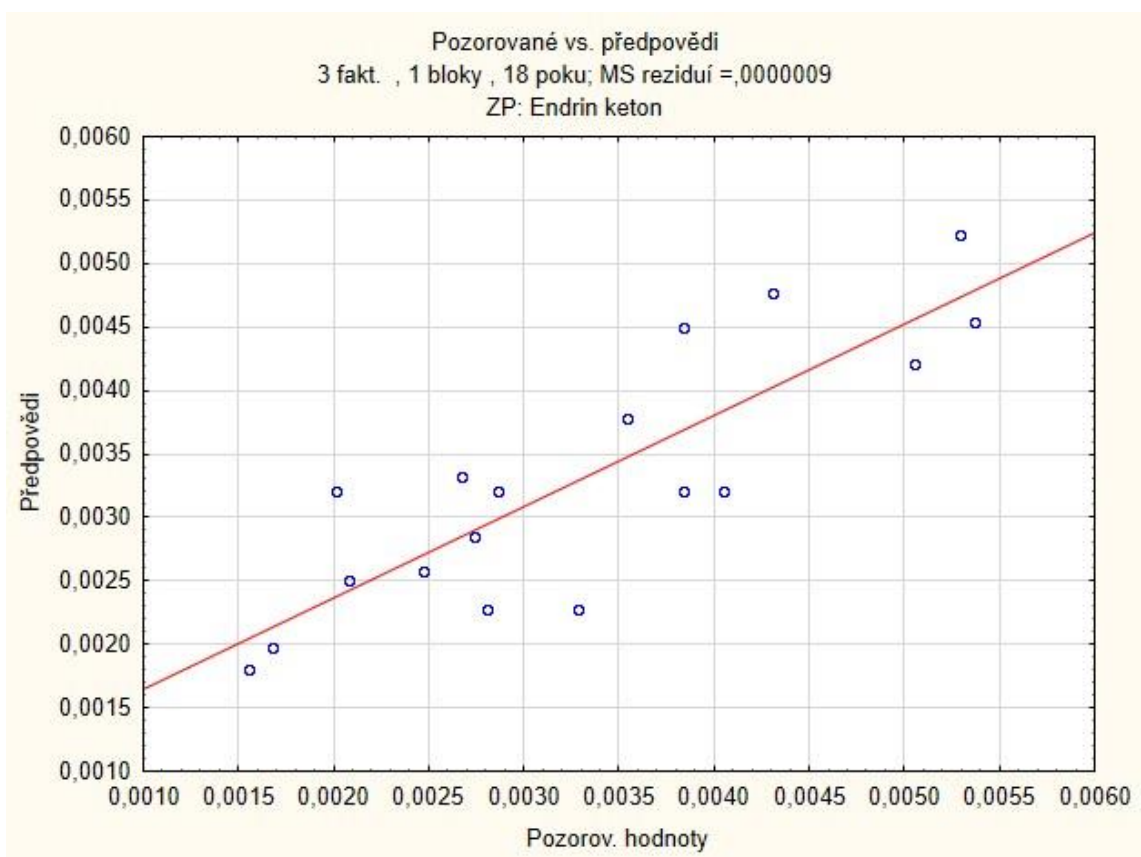
*Příloha 48: Pozorované vs. předpovědi pro látku dieldrin*



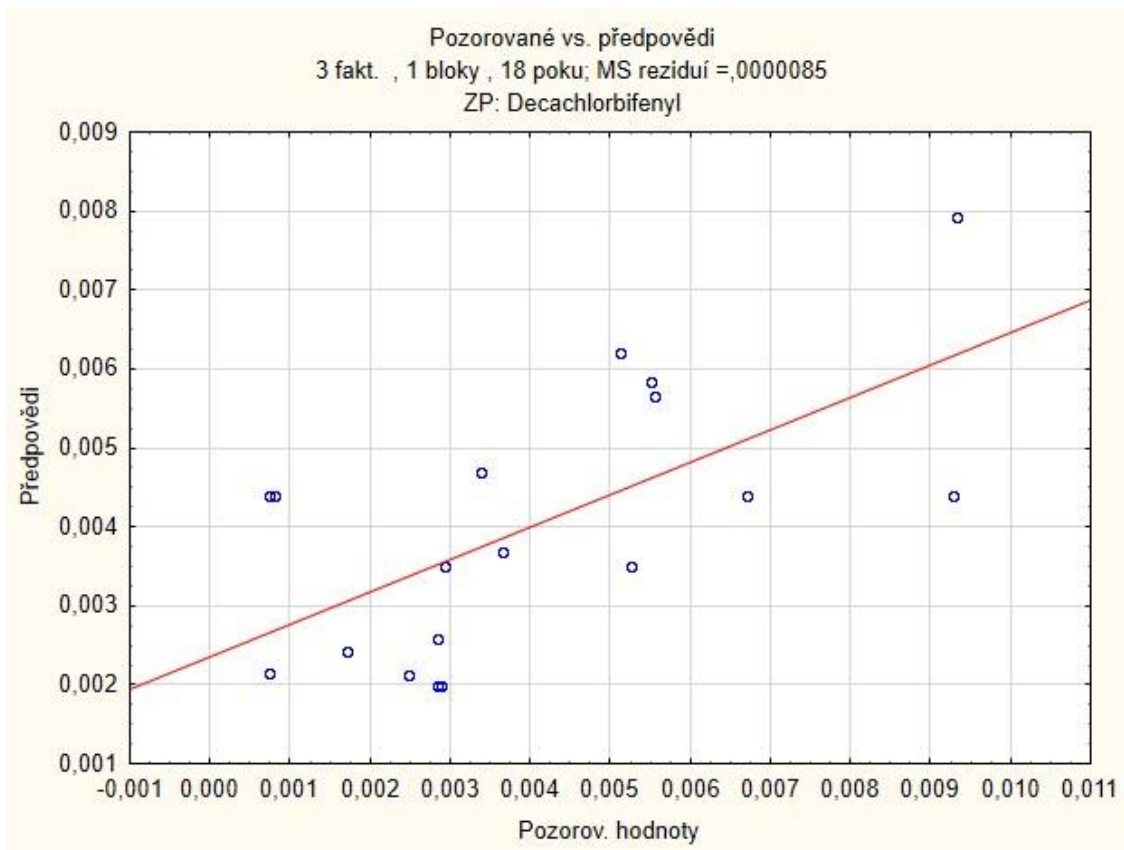
*Příloha 49: Pozorované vs. předpovědi pro látku endosulfan II.*



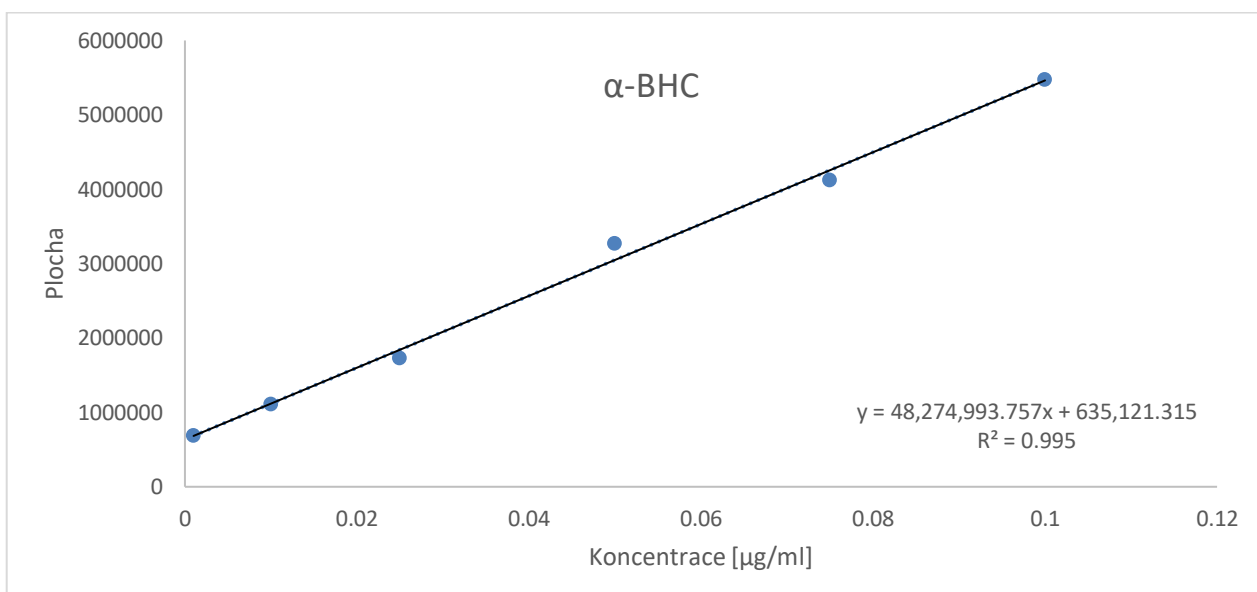
*Příloha 50: Pozorované vs. předpovědi pro látku p,p'-DDT*



*Příloha 51: Pozorované vs. předpovědi pro látku endrin keton*

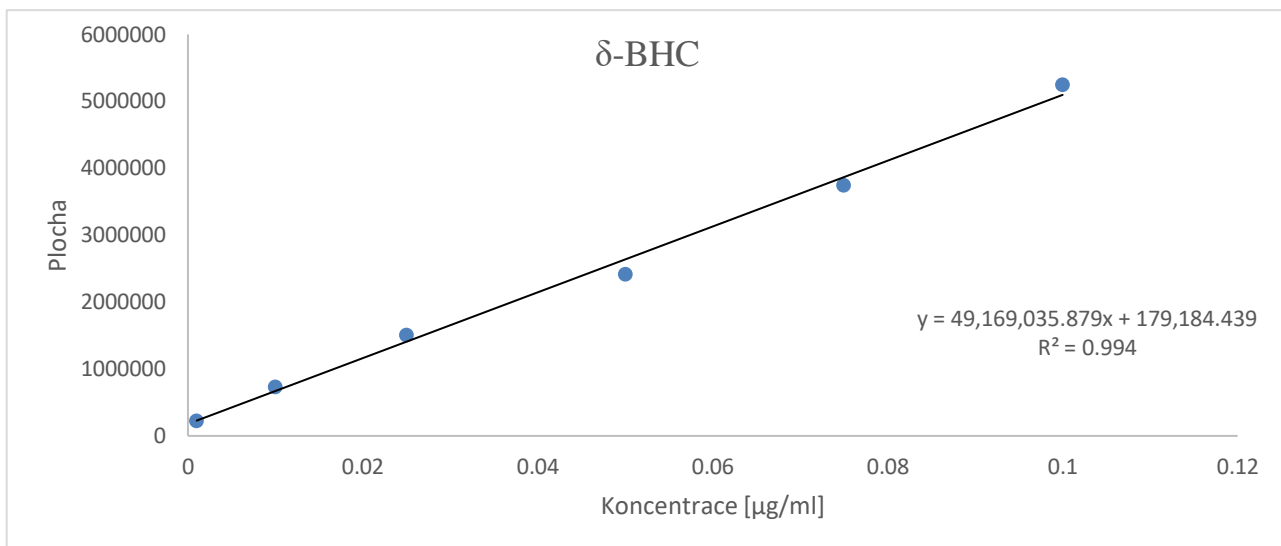


**Příloha 52:** Pozorované vs. předpovědi pro látku DCB

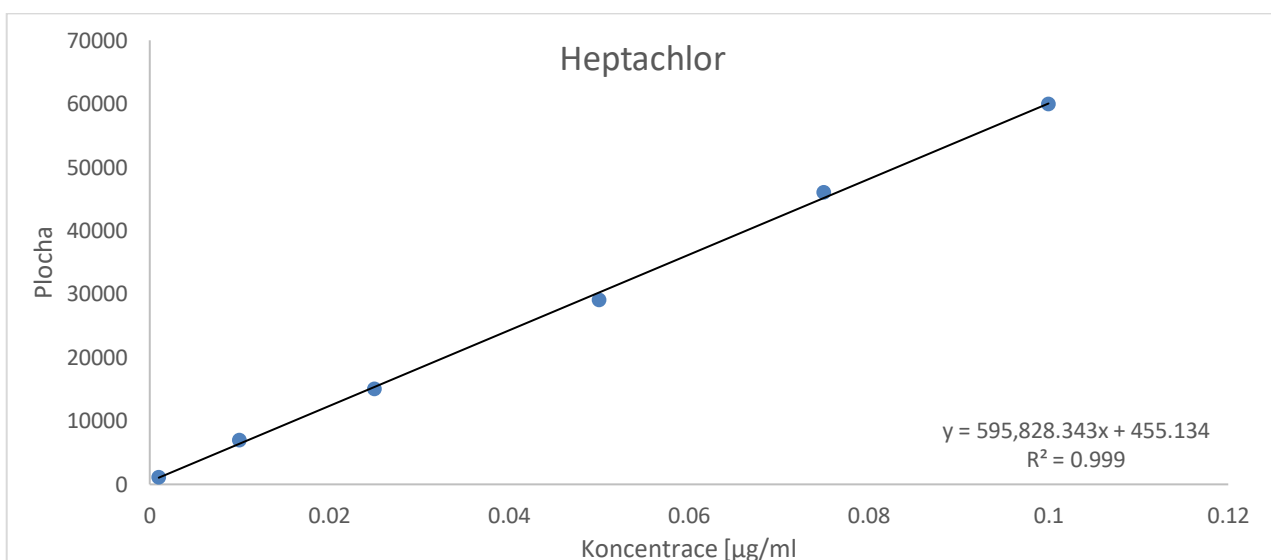


**Příloha 53:** Kalibrační křivka  $\alpha$ -BHC

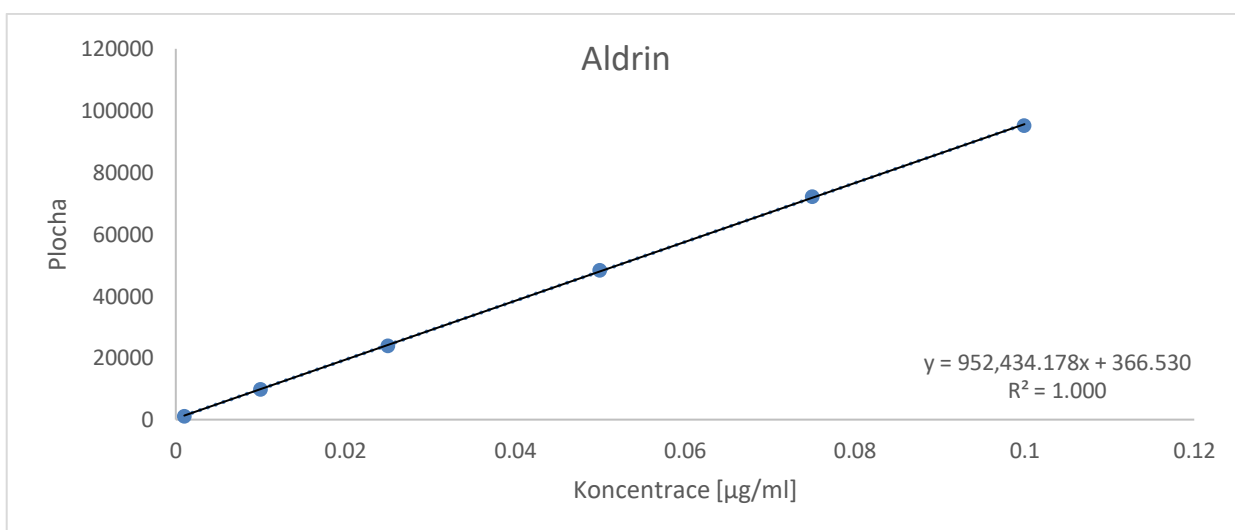




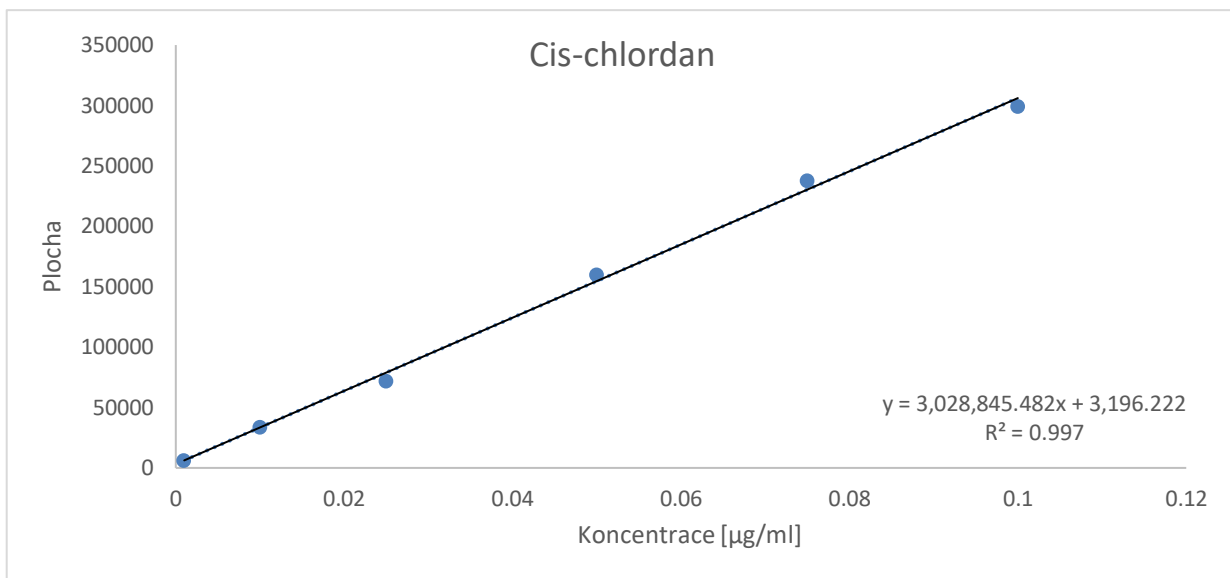
**Příloha 54:** Kalibrační křivka δ-BHC



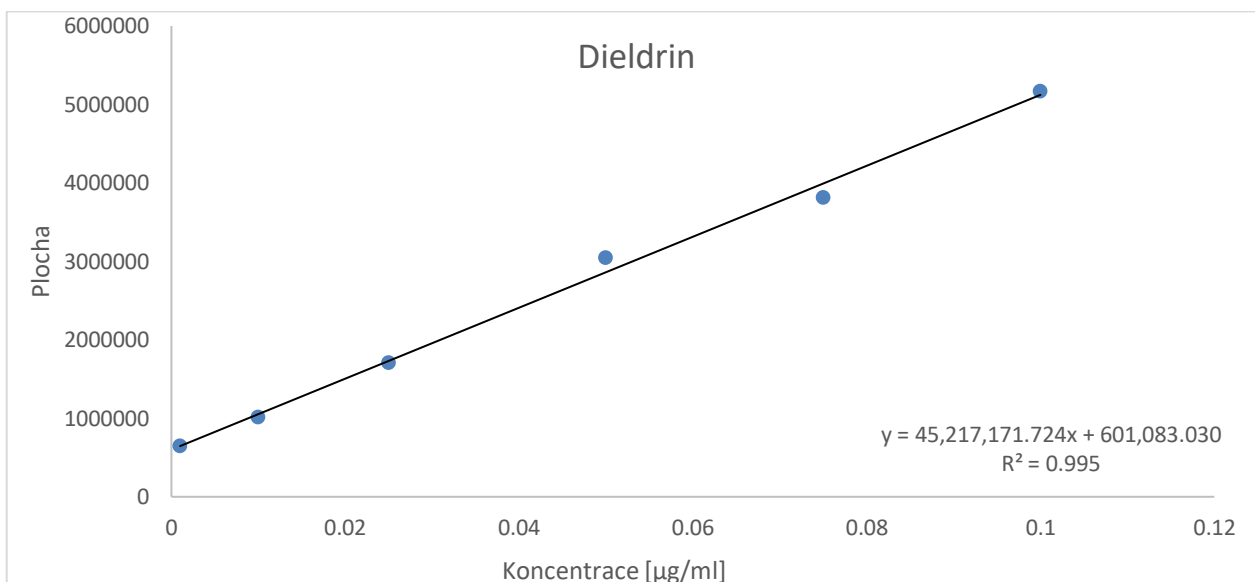
**Příloha 55:** Kalibrační křivka heptachlor



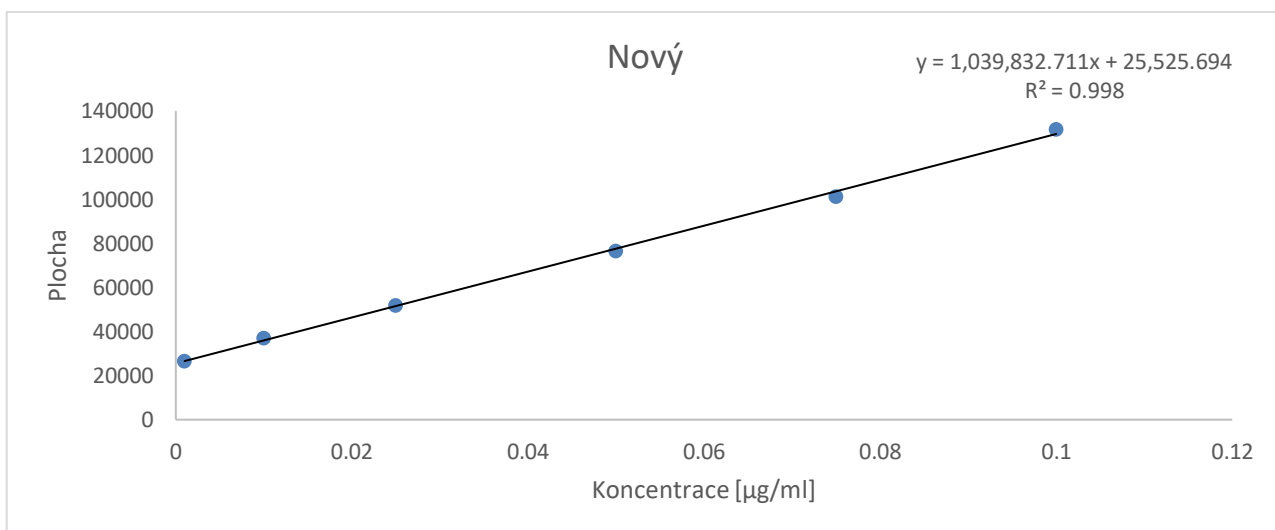
**Příloha 56:** Kalibrační křivka aldrin



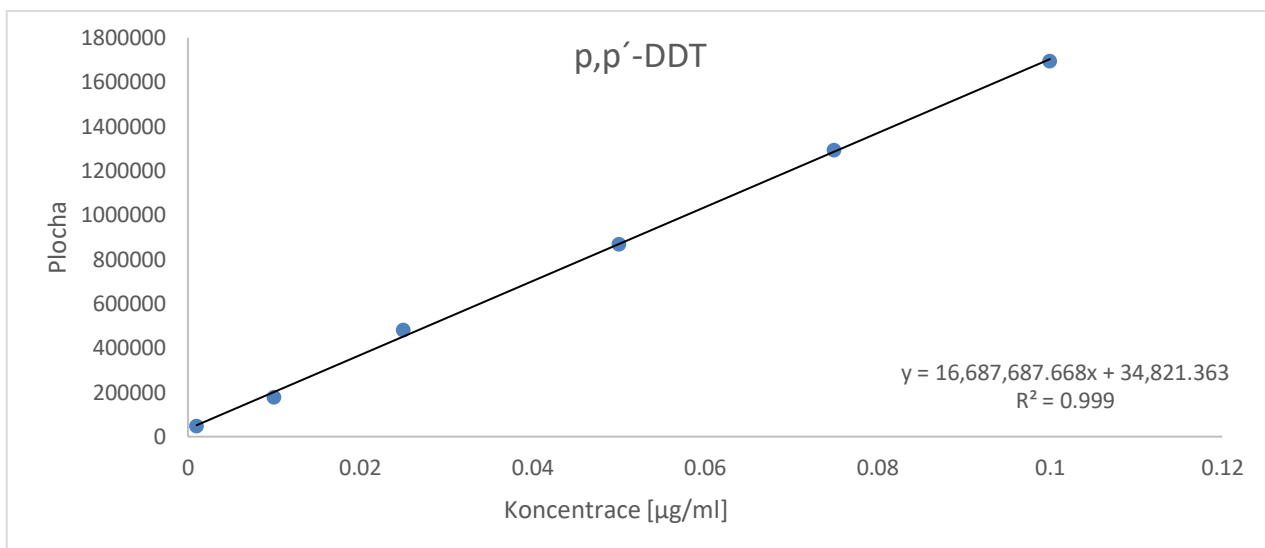
**Příloha 57:** Kalibrační křivka cis-chlordan



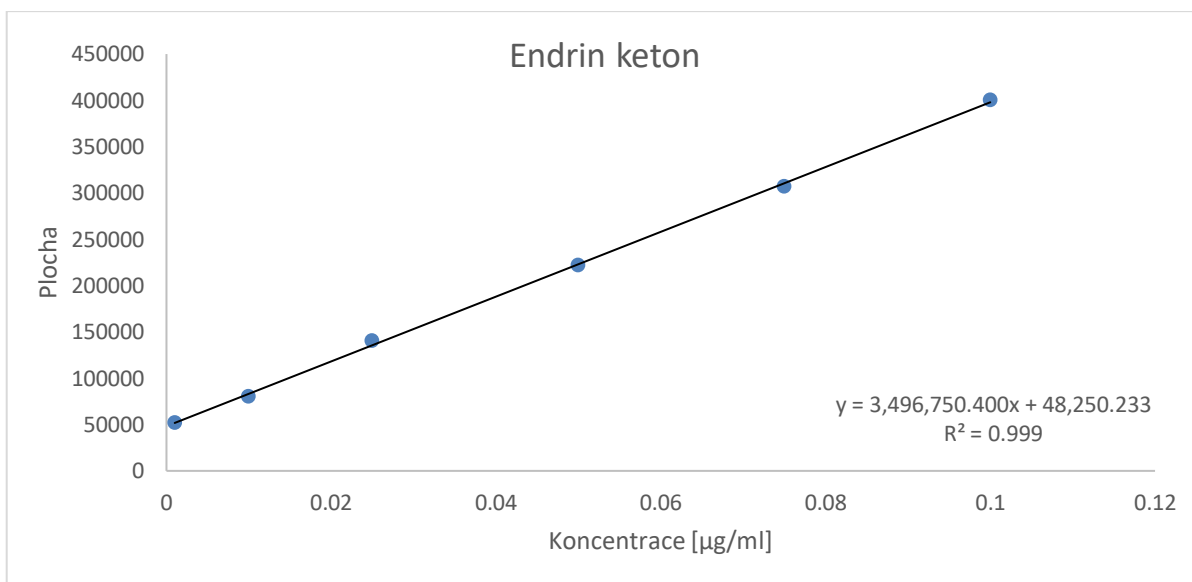
**Příloha 58:** Kalibrační křivka dieldrin



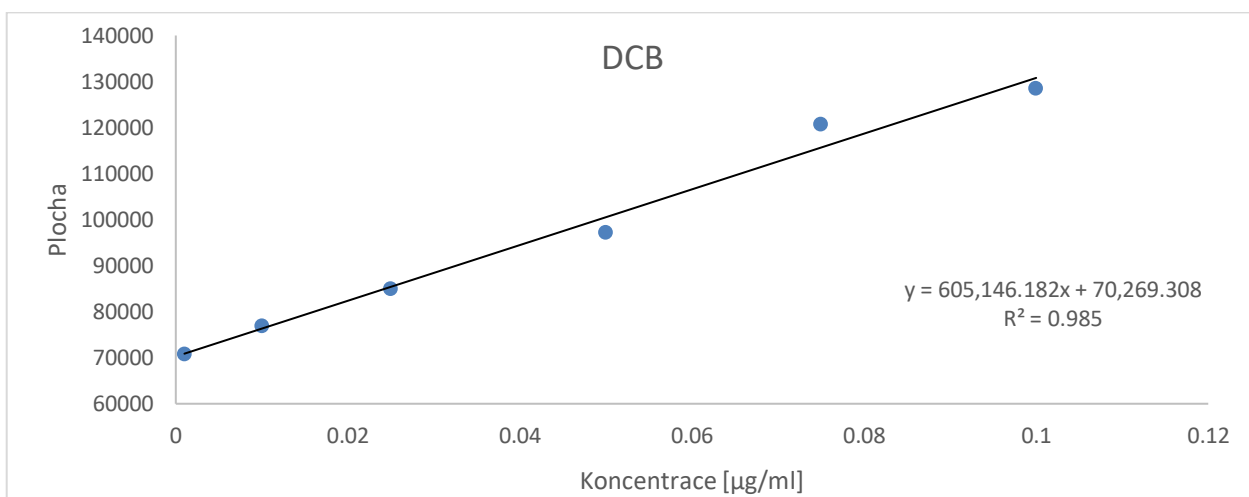
**Příloha 59:** Kalibrační křivka endosulfan II.



**Příloha 60:** Kalibrační křivka p,p'-DDT



**Příloha 61:** Kalibrační křivka endrin keton



**Příloha 62:** Kalibrační křivka DCB

Látka	0,025 [µg/ml]		0,05[µg/ml]		0,075[µg/ml]	
	Plocha kontamin. vzorku	Odchylka [%]	Plocha kontamin. vzorku	Odchylka [%]	Plocha kontamin. vzorku	Odchylka [%]
α-BHC	1664427	14,71	3325108	11,44	4492073	6,53
δ-BHC	1667329	21,06	2327560	12,61	3645921	5,99
Heptachlor	13292	13,82	29100	3,85	49938	10,73
Aldrin	23879	1,25	47208	1,64	77513	8
Cis-chlordan	76426	3,29	146852	5,14	263674	14,67
Dieldrin	1550009	16,06	3210268	15,41	3721594	7,98
Endosulfan II.	50755	2,95	67602	19,07	118097	18,7
p,p'-DDT	480606	6,85	887951	2,25	1354925	5,48
Endrin keton	132909	3,16	228233	2,94	272984	14,31
DCB	84561	5,53	98098	8,03	121056	11,9

*Příloha 63: Plochy standardů a kontaminovaných vzorků*