

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA PEDAGOGICKÁ

**Stanovení vybraných halogenovaných pesticidů
plynovou chromatografií**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

DOMINIK SLOUP

Vedoucí práce: Ing. Jan Hrdlička, Ph.D.

Plzeň 2023

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně
s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

V Plzni, 2023

.....
vlastnoruční podpis

Na tomto místě bych rád poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce Ing. Janu Hrdličkovi, Ph.D., za vstřícnost a čas, který mi věnoval, a za odborné rady, které mi poskytl, a přispěl tím k sepsání této práce. Také děkuji rodině a přátelům, kteří mě podporovali při psaní této práce i při celém studiu.

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK	6
ÚVOD	7
1 SEPARACE.....	8
2 CHROMATOGRAFIE	9
2.1 PRINCIP CHROMATOGRAFIE	9
2.2 DĚLENÍ CHROMATOGRAFICKÝCH TECHNIK.....	10
3 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE	12
3.1 PRINCIP PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE	12
3.2 DRUHY PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE	12
3.3 KOLONY	13
3.4 DETEKTOR	13
3.4.1 Druhy detektorů	14
3.5 VZOREK A JEHO DÁVKOVÁNÍ	14
3.6 ELUČNÍ CHROMATOGRAM	15
4 PESTICIDY	18
4.1 DĚLENÍ PESTICIDŮ	18
4.2 HISTORIE PESTICIDŮ	18
4.3 PESTICIDY OBSAŽENÉ VE STANDARDU	19
4.3.1 HCH	19
4.3.2 Heptachlor	19
4.3.3 Aldrin	20
4.3.4 Chlordan	20
4.3.5 Endosulfan	20
4.3.6 Dieldrin	20
4.3.7 Endrin.....	21
5 DDT.....	22
5.1 HISTORIE DDT	22
5.2 VLASTNOSTI DDT	22
6 ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ.....	24
6.1 DŮVOD MĚŘENÍ.....	24
6.2 DDT A ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ.....	24
7 LEGISLATIVA.....	25
7.1 OCHRANA NA EVROPSKÉ ÚROVNI	25
7.1.1 Schvalování pesticidů	25
7.1.2 Registrace	25
7.1.3 Předcházení závažným haváriím.....	25
7.2 OCHRANA NA NÁRODNÍ ÚROVNI	26
8 PLYNOVÝ CHROMATOGRAF	28
8.1 TYP CHROMATOGRAFU A KOLONY	28
8.2 NASTAVENÍ PROGRAMU V POČÍTAČI	28
9 POMŮCKY	29
10 CHEMIKÁLIE.....	31
11 MĚŘENÍ	32
11.1 PŘÍPRAVA VZORKŮ	32
11.2 PRŮBĚH MĚŘENÍ.....	32
11.3 SEPARACE PEVNÉHO VZORKU	33

11.4 SEPARACE KAPALNÉHO VZORKU	33
12 CHROMATOGRAM.....	36
12.1 CHROMATOGRAM STANDARDU	36
12.2 CHROMATOGRAM ALDRINU	37
12.3 CHROMATOGRAM DDT	37
12.4 CHROMATOGRAM ČISTÉHO DDT	38
12.5 CHROMATOGRAM NAŘEDĚNÉHO VZORKU CHLOROFORMEM.....	38
12.6 ČISTÉ DDT PO SEPARACI Z KAPALNÉ FÁZE	39
12.7 VÝPOČTY	39
13 MĚŘENÍ NEZNÁMÉHO VZORKU	41
13.1 VÝBĚR NEZNÁMÉHO VZORKU	41
13.2 SBĚR NEZNÁMÉHO VZORKU	41
13.3 ZPRACOVÁNÍ NEZNÁMÉHO VZORKU.....	42
13.4 HODNOTY NEZNÁMÉHO VZORKU	43
13.4.1 Vzorek z povrchu půdy	43
13.4.2 Vzorek půdy z hloubky deseti až patnácti centimetrů	44
13.5 ORIENTAČNÍ VÝPOČET MNOŽSTVÍ DDT V NEZNÁMÝCH VZORCÍCH.....	44
13.5.1 Výpočet množství DDT ve vzorku odebraném z povrchu půdy.....	44
13.5.2 Výpočet množství DDT ve vzorku odebraném z hloubky deseti až patnácti centimetrů.....	45
14 ZÁVĚR.....	46
15 RESUMÉ.....	47
16 SEZNAM ZDROJŮ.....	48
17 SEZNAM OBRÁZKŮ	52

SEZNAM ZKRATEK

DDE – dichlordifenyldichlorethan

DDT – 2,2-di-(4'-chlorfenyl) -1,1,1-trichlorethan

GLC – plynová rozdělovací chromatografie

GSC – plynová adsorbční chromatografie

JZD – jednotné zemědělské družstvo

OSN – Organizace spojených národů

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Úvod

V minulém století došlo k velkému rozvoji organické chemie a s tím i k rozvoji chemických látek, které jsou i dnes používány ve všech oblastech lidské činnosti. Jednou z oblastí, kde jsou organické chemické látky používány, je také odvětví zemědělství. Mezi nejčastěji používané látky patří například pesticidy, herbicidy a fungicidy, které slouží primárně k ochraně hospodářských zvířat a pěstovaných rostlin. Používání těchto chemických látek původně nebylo regulováno a při používání se nehledělo na jejich škodlivou stránku, proto měly mnohdy tyto látky negativní vliv na životní prostředí. V dnešní době je používání tohoto druhu látek zakázáno nebo omezeno, proto je důležité znát metody pro stanovení těchto látek v přírodě.

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou stanovení halogenovaných pesticidů za použití plynové chromatografie. Cílem této práce je představení metody EPA 8081A používané pro stanovení halogenovaných pesticidů na plynovém chromatografu.

V teoretické části se budeme obecně věnovat popisu separačních metod, zaměříme se speciálně na chromatografii, konkrétně na plynovou chromatografii. Budeme se zabývat druhy plynové chromatografie, jejím principem a jejími částmi. Také v této části budou rozepsané podrobnosti o pesticidech, se kterými se v práci setkáváme, zvláště o DDT.

V praktické části se budeme zaměřovat na přípravu a nastavení používaného plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph a popis konkrétní metody EPA 8081A. Dále vymezíme pomůcky potřebné k přípravě vzorku a k samotnému měření. V jedné kapitole se budeme zabývat naší prací v laboratoři, přípravou měření a stanovením halogenovaných pesticidů v neznámých vzorcích. Také zde popíšeme celkové měření a sběr neznámého vzorku, který byl použit pro ověření metody.

1 SEPARACE

Účelem separace je rozdělit vzorek alespoň na dva podíly odlišného složení. V ideálním případě má každý podíl ve svém složení pouze jednu složku.^[1] Díky velké rozmanitosti analyzovaných materiálů používáme k samotné separaci všech zákonitostí z oblasti chemie, biologie a fyziky. Většina separací obsahuje tři děje: transport analytu k mezifázi, převod přes mezifázi a transport od mezifáze. Mimo tyto kroky probíhá ve vzorku i mnoho jiných dějů, které jsou vyvolané s cílem podpořit fázový přechod. Každou separaci musíme být schopni popsat z termodynamického i kinetického hlediska pro případné úpravy separačních metod.^[2] Separační metody dělíme na metody, které jsou založené na rozdílech v rovnovážném šíření mezi dvě fáze a na metody, které separují samotný analyt podle rozdílu v rychlosti transportu přes semipermeabilní membránu nebo podle rychlosti pohybu v elektrickém, magnetickém a gravitačním silovém poli.^[1] K separacím se používá celá řada instrumentálních metod, které řadíme do významné skupiny v analytické chemii. Tyto metody jsou vhodné pro analýzu komplexních vzorků s velmi komplikovanou maticí.^[3] Samotná separace je velmi důležitá, protože na ní mnohdy závisí úspěšnost následné analýzy.^[4]

2 CHROMATOGRAFIE

V historii byl pojem chromatografie poprvé zmíněn biologem Michaiilem Semjonovičem Cvětem z Ruska už v devadesátých letech devatenáctého století^[3], kdy takto označil pozorovanou separaci petroletherového extraktu rostlinných barviv přes skleněnou kolonu, která byla naplněna práškovým uhlíčanem vápenatým.^[1]

Od té doby prošla chromatografie značnou evolucí a dnes je považována za stavební kámen separačních metod nejen v analytických, ale i v průmyslových laboratořích.^[1] Samotný pojem chromatografie můžeme definovat jako vědu o intermolekulárních interakcích a transportu molekul nebo částic v systému dvou omezeně se mísitelných fází, kde se v daném systému různé molekuly nebo částice pohybují různou rychlostí.^[5] Chromatografie se řadí do skupiny separační metod, které jsou založeny na rozdílech v rovnovážné distribuci složek mezi dvě fáze, při této metodě jsou využity jak chemické, tak fyzikální jevy.^[5]

2.1 PRINCIP CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je analytická metoda kvantitativní a kvalitativní, která využívá dělení mezi dvěma fázemi. První fáze je označena jako mobilní (pohyblivá) a druhá fáze jako stacionární (nepohyblivá). Tyto dvě fáze jsou vzájemně nemísitelné. Mobilní fáze může být pouze kapalina nebo plyn, stacionární fáze může být také kapalina, ale též například částičky pevné hmoty velké jednotky až stovky mikrometrů. Jakákoliv forma stacionární fáze je nadále označovaná jako sorbent.^[6]

Celá kolona může být naplněna sorbentem celá, nebo jen na stěnách kapiláry a tímto sorbentem poté prostupuje mobilní fáze. Na začátek kolony se nanáší vzorek, který putuje kolonou až ke konci, ale rychlost průchodu přes sorbent je menší než u mobilní fáze. Při průtoku vzorku kolonou se začnou oddělovat části vzorku, které mají odlišné složení. To je zapříčiněno tím, že molekuly vzorku buď putují s mobilní fází, nebo se uchytí na sorbentu. Molekuly se při cestě ze začátku na konec kolony mnohokrát přesouvají z povrchu sorbentu do mobilní fáze a obráceně, z mobilní fáze na povrch sorbentu.^[1] Při tomto jevu je nutné, aby byl systém v rovnovážném stavu, kdy je počet desorbovaných částic podobný počtu sorbovaných částic. Samotné dosažení rovnováhy lze popsat distribuční konstantou K_D ,

kteřá je definována jako poměr rovnovážných koncentrací složky ve dvou koexistujících fázích, fázi stacionární a mobilní.^[6]

$$K_D = \frac{[A]_s}{[A]_m} = \frac{(n_A)_s V_m}{(n_A)_m V_s}$$

Písmena V_s a V_m označují objemy fází, $(n_A)_s$ a $(n_A)_m$ označují látková množství látky A ve stacionární a mobilní fázi. Čím více interakcí má část vzorku se stacionární fází, tím později z kolony vychází, tomuto času říkáme retenční čas.^[6]

Samotná hodnota K_D se odvíjí jak od charakteru látky samotné, tak i od vlastností mobilní a stacionární fáze. S rostoucí hodnotou K_D je látka více zadržována stacionární fází a v důsledku toho se pomaleji pohybuje separačním prostorem.^[1]

2.2 DĚLENÍ CHROMATOGRAFICKÝCH TECHNIK

Jak bylo řečeno výše, chromatografie je velice široká separační metoda, která se nedá jednoduše rozdělit. Chromatografické metody se mohou dělit podle skupenství mobilní a stacionární fáze, viz Obrázek 1.^[1] Další způsob dělení je podle toho, jak je vzorek vnášen do separačního systému, a podle následné separace. Takto metody dělíme na eluční, vytěšňovací a frontální techniku.^[1]

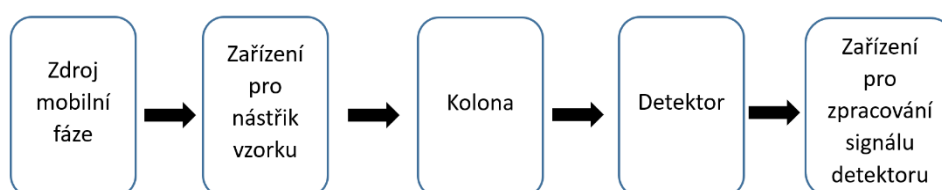
Nejběžnější separací podle vnášení vzorku do separačního systému je eluční technika. Do proudu mobilní fáze se nastříkne malé množství vzorku, jehož složky se navážou na stacionární fázi. Každá část vzorku si ustanoví svou vlastní rovnováhu ve stacionární a mobilní fázi, za pomoci průtoku mobilní fáze se rovnováha přeruší a část vzorku se uvolní ze stacionární části do mobilní části. Tento proces vzniku a zániku rovnovážného stavu proběhne několikrát za průtok kolonou, tak vznikají části vzorku, které mají jiné vlastnosti a odlišný časový úsek strávený v koloně. Tyto časové odchylky se zaznamenávají do chromatogramu.^[4]

Vytěšňovací technika je založena na absorpci vzorku na stacionární fázi tak, aby nebyla vymývána mobilní fází. Poté se změní mobilní fázi tak, aby vymyla buď jen složku vzorku, kterou chceme měřit, nebo aby se části vzorku vymývaly postupně. Výhodou této techniky je, že lze zanalyzovat objemné vzorky. Tato metoda má své uplatnění v afinitní chromatografii nebo třeba při selektivní prekoncentraci kovových iontů ve stopovém množství.^[2]

Frontální technika pracuje se závislostí na rozdělovacích poměrech. Na kolonu je zaváděna kontinuálně směs látek s konstantní koncentrací. Látky se postupně dělí podle zmiňovaných rozdělovacích poměrů a vytváří se tak chromatogram, kde první stupeň odpovídá složce s nejmenším rozdělovacím poměrem, čisté složce. Další stupně jsou kontaminovány všemi složkami z předchozích stupňů. Poslední stupeň odpovídá směsi, která je zaváděna na kolonu. Tato technika má ze všech technik nejmenší využití v praxi.^[2]

Mobilní fáze	Stacionární fáze	Chromatografie	Zkratka
Plyn	Tuhá látka	Plynová adsorbční	GSC
Plyn	Kapalina na nosiči	Plynová rozdělovací	GLC
Kapalina	Tuhá látka	Kapalinová adsorpční	LSC
Kapalina	Kapalina (polymer) vázaná na nosiči	Kapalinová rozdělovací	LLC
Kapalina	Kapalina v pórech sorbentu	Gelová permeační	GPC
Kapalina	Tuhá látka	Iontově výměnná	IEC
Tekutina v nadkritickém stavu	Kapalina (polymer) vázaná na nosiči	S MF v nadkritickém stavu	SFC

Obrázek 1 Dělení chromatografických metod podle typu fází



Obrázek 2 Schéma chromatografu

3 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Své označení plynová chromatografie nese podle skupenství mobilní fáze. Plynová chromatografie je separační metoda, která separuje plyny a páry, které jsou unášeny mobilní fází chromatografickou kolonou, kde je touto mobilní fází inertní plyn.^[1] Jako inertní plyn se využívá dusík, vodík, argon nebo helium.^{[2][4][6]}

3.1 PRINCIP PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE

Tato separační metoda využívá rozdělení koncentrace analytu na základě adsorpce mezi mobilní a stacionární fází. Předpokládá se, že toto rozdělení je rovnovážné.^[2]

Mobilní fáze využívá tlakový spád a nereaguje se vzorky, proto se nepoužívá např. kyslík, který by mohl oxidovat části vzorku. Přesný průtok mobilní fáze je možné regulovat jehlovým ventilem na hodnoty, které se různí podle typu kolony. Samotný jehlový ventil nalezneme na chromatografu.^[1]

Stacionární fáze je uspořádaná v chromatografické koloně a tvoří ji nejrůznější látky od nepolárních po vysoce polární. Kolonu vybíráme podle typu separace, protože různé složky mají odlišné schopnosti se poutat na stacionární fází.^[1]

3.2 DRUHY PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE

Plynová adsorpční chromatografie (GSC) je mechanismus separace, která probíhá na pevném sorbentu uvnitř náplňové kolony. Při vyšších teplotách účinnost adsorpce klesá, takže se tato metoda používá při analýze plynů nebo velmi těkavých kapalin. Je konečnou fází elementární organické analýzy, kde jsou jednotlivé prvky převedeny na odpovídající množství jejich plynů.^[1] U této metody jde o rovnováhu mezi povrchem adsorbentu a fází o daném objemu. Samotné objemy fází, mezi kterými probíhá partiční proces, mají vliv na výpočty.^[6]

Druhým mechanismem je plynová rozdělovací chromatografie (GLC), která rozděluje složky na základě rozpustnosti v kapalně stacionární fází imobilizované na částicích nosiče, nebo na stěně kapilární kolony. Tento mechanismus se využívá se vzorky kapalin s teplotami varu do 400 °C.^[1] V ideálním případě platí Raoultův zákon, podle kterého rozpustnost složky v kapalně fází závisí pouze na tlaku par čisté složky a parciálním tlaku.^[6]

3.3 KOLONY

Na probíhající rovnováhu vzorku mezi stacionární a mobilní fází má vliv teplota. Proto jsou kolony uloženy v termostatu, kde je možné nastavovat teplotu až do hodnot, ve kterých už se stacionární fáze nerozkládá. Teplota se v průběhu metody zvyšuje a je nutné nastavit vhodný teplotní program. Existují dva základní typy kolon.^[1]

Náplňové kolony, které mají vnitřní průměr 2 až 3 milimetry a délku od 2 do 6 metrů, jsou vyráběny ze skla, nerezové oceli nebo jiných druhů kovů.^[1] Uvnitř jsou naplněny granulovaným materiálem.^[6] Kolony jsou plněny inertním a porézním nosičem o průměru částic 40 až 350 mikrometrů. Náplňovou kolonou můžeme oddělit přibližně 20 složek, v některých případech i více.^[1]

Kapilární kolony mají vnitřní průměr od 0,1 do 0,7 milimetru a jejich délka je od 10 až do 100 metrů. Jsou tvořeny křemennou kapilárou, která obsahuje na vnějším povrchu malou vrstvu ochranného polymeru. Rozlišujeme dva druhy těchto kolon podle umístění stacionární fáze. Prvním druhem kolon jsou kolony s potaženou vnitřní stěnou, které mají na vnitřní straně stěny kapiláry nanesenou stacionární fázi v tenké vrstvě (WCOT, wall-coated open tubular). Druhým typem jsou kolony, které mají na vnitřní straně kapiláry nanesenou imobilizovanou tenkou vrstvu materiálu, na jehož povrchu je stacionární fáze adsorbována (SCOT, support-coated open tubular).^[4] Kapilární kolony se na rozdíl od náplňových kolon vyznačují vysokou separační schopností a mohou separovat více než 100 složek vzorku.^[1]

3.4 DETEKTOR

Nosný plyn prochází detektorem, který reaguje na analyt a posílá signály, které zaznamenává do sběrnice dat, kde je společně s daty zaznamenáván i čas.^[4] Samotný detektor by měl mít co nejmenší vnitřní objem, aby nepřispíval k rozmytí elučních zón separovaných látek. Detektor by měl vysílat stabilní a reprodukovatelný signál, který má minimální úroveň šumu. Mez detekce by měl mít co nejnižší a směrnice závislosti odezvy na koncentraci co nejvyšší.^[1] Důležitá je také teplota, detektor musí mít vyšší teplotu než plyny, které vycházejí z kolony. Kdyby teplota byla nižší, mohlo by dojít ke kondenzaci některých druhů analytu.^[3]

3.4.1 DRUHY DETEKTORŮ

Prvním detektorem je tepelně vodivostní detektor (TCD, thermal conductivity detector). Uvnitř detektoru je odporové vlákno nebo termistor v termostatovaném bloku, tato část je omývána efluentem. Jako mobilní fáze je zde využíván vodík nebo helium, hlavně díky vysoké tepelné vodivosti, kterou tyto látky nabízejí oproti organickým látkám. Změna složení efluentu se projeví změnou tepelné vodivosti, kdy čistá mobilní fáze omývá vlákno, které ochladí.^[1] Tento detektor má výhodu v tom, že dokáže detekovat všechny látky. Je ale méně citlivý, což je naopak nevýhodou.^[1]

Dalším detektorem je plamenově ionizační detektor (FID, flame ionization detector), který patří mezi vůbec nejrozšířenější detektory. Tento detektor využívá spalování a hydrogenaci látek, které vystupují z kolony ve vodíkovém plameni. Při tomto ději vznikají elektrony a ionty, které vedou elektrický proud mezi dvěma elektrodami s vloženým stejnosměrným napětím.^[1] Je citlivý zejména na uhlovodíkové látky, které mají signál často úměrný počtu uhlíkových atomů.^[1]

Obdobou FID je dusíko-fosforový detektor (NPD), který je za přítomnosti keramické vrstvy s obsahem rubidia a cesia selektivní k látkám, které obsahují dusík nebo fosfor.^[1]

Čtvrtým detektorem je pro tuto práci důležitý detektor elektronového záchytu (ECD, electron capture detector), který je citlivý na halogenové sloučeniny. Detektor funguje tak, že zářič ^{63}Ni , který je radioaktivní a svým vyzařováním proudu rychlých elektronů ionizuje molekuly nosného plynu, kterým je dusík, vyvolává ionizační proud. Díky tomuto jevu se uvolňují pomalé elektrony, které zachycují elektronegativní atomy složek, a tím snižují ionizační proud.^[4] Je selektivní na látky, které obsahují elektronegativní atomy včetně halogenů.^[1]

Posledním typem detektorů je plamenový fotometrický detektor (FPD, flame photometric detector), jehož princip je založen na tom, že některé atomy jsou excitovány ve vodíkovém plameni po rozkladu látek, a poté vyzařují charakteristické záření.^[1] Tento detektor je citlivý na látky, které obsahují síru, dusík a fosfor.^[1]

3.5 VZOREK A JEHO DÁVKOVÁNÍ

Vzorek může být v kapalném nebo plynném skupenství, musí být v dostatečné koncentraci, při procesu separace nesmí docházet k tepelné degradaci. Také musíme

vzorek upravit tak, aby nezničil kolonu společně se stacionární fází. Abychom předešli jakémukoliv poškození, musíme zajistit, aby veškeré části vzorku byly dostatečně těkavé, obvykle musíme odstranit vodu.^[1]

Pro dávkování vzorku v plynném skupenství se využívají dávkovací ventily. Pro vzorky v kapalném skupenství se využívají injekční stříkačky, jejichž obsah se rychle vstříkne do vyhřívané dávkovací komory přes septum ze silikonové gumy. Všechny procesy dávkování vzorku musí být provedeny rychle, aby se zamezilo zkreslení elučních zón.^[1]

3.6 ELUČNÍ CHROMATOGRAM

Chromatograf je záznam odezvy detektoru v čase a vzniká při použití kolonové chromatografie s detektorem. Je to zjednodušeně graf, kde je na jedné ose zaznamenáván čas a na ose druhé signál detektoru, viz Obrázek 3.^[4]

Písmeno h znázorňuje výšku píku, tedy od maxima píku po jeho nulovou linii měřenou ve směru kolmém na osu času, Y šířku píku v základně, $Y_{\frac{1}{2}}$ šířku píku v polovině výšky, A plochu píku. Značka t_R znázorňuje retenční čas, to je čas, který molekula části vzorku stráví v koloně od nástřiku do okamžiku detekce, odpovídající průchodu maximální koncentrace detektorem. První druh retenčního času je mrtvý retenční čas t_M , který znázorňuje čas od nástřiku vzorku do detekce maximální koncentrace složky, která není zadržována stacionární fází. Díky těmto hodnotám můžeme vypočítat další veličiny.^{[4][3]}

Druhým typem retenčního času je redukovaný retenční čas t'_R , znázorňuje čas, kdy jsou molekuly vzorku zachyceny na stacionární fází.^[4]

$$t'_R = t_R - t_M$$

Retenční faktor k

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_m} = \frac{t'_R}{t_M}$$

Rozlišení R_S

$$R_S = \frac{t_{R,2} - t_{R,1}}{0,5(Y_2 + Y_1)}$$

V tomto vzorci hodnoty $t_{R,2}$ a $t_{R,1}$ představují retenční časy dříve nebo později eluující složky. Y_1 a Y_2 představují šířku píku obou složek u základny. R_S znázorňuje rozlišení, které

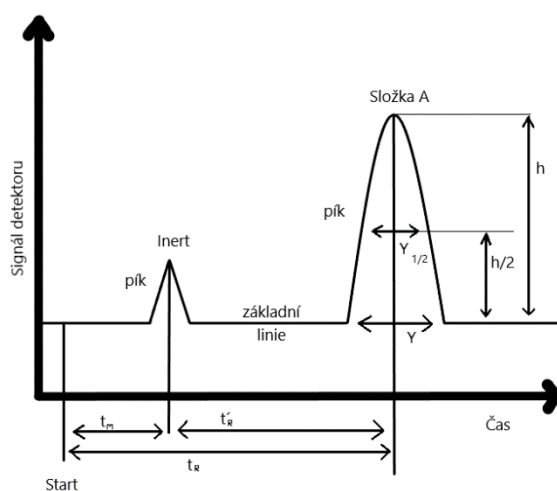
umožňuje číselně vyjádřit úroveň separace. Látky jsou zcela oddělené, pokud platí $R \geq 1,5$. Pokud jsou hodnoty nižší, tak se chromatografické píky mohou částečně překrývat.^[3]

Lineární rychlost mobilní fáze u :

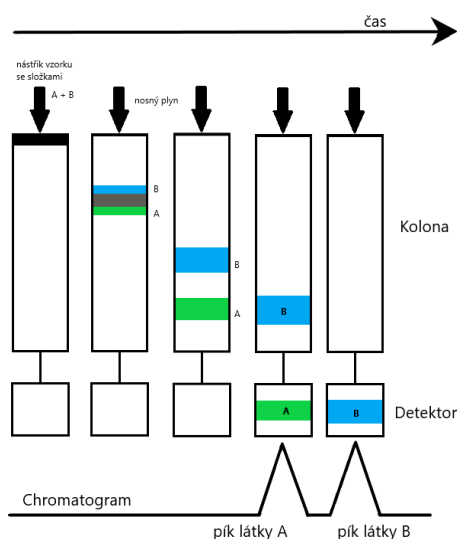
$$u = \frac{L}{t_M}$$

$$u(A) = \frac{L}{t_R(A)}$$

L označuje délku kolony a $u(A)$ označuje lineární rychlost zadržované složky.



Obrázek 4 Chromatogram při eluční metodě



Obrázek 3 Schéma eluční metody

Určitými parametry jsou zde výška teoretického patra H a počet teoretických pater N . Mezi nimi platí vztah:

$$H = \frac{L}{N}$$

L znázorňuje délku chromatografické kolony a N znázorňuje počet teoretických pater. Tento vztah je definován jako

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_h} \right)^2$$

Z tohoto vztahu vyplývá, že pokud N roste, tak šířka píku klesá. Účinnost chromatografické kolony je závislá na retenčním čase, u plynové chromatografie klesá pro později eluující složky. V ideálním případě by byl vzorek nadávkován v jeden okamžik a rovnováha mezi stacionární a mobilní fází by ustala okamžitě, výška patra H by se blížila nule a objevil by se úzký pík, ale tato modelová situace je téměř nemožná na provedení, takže kvůli nerovnoměrnosti toku mobilní fáze a nedostatečnému ustanovení rovnováhy se shledáváme s rozšířením chromatografického píku.^[1]

Kvantitativní analýza ukazuje množství nebo koncentraci složek vzorku. V chromatografu toto představuje plocha celého píku.

4 PESTICIDY

Pesticidy jsou chemikálie používané proti živočichům, plevelům a parazitickým houbám škodícím a parazitujícím na zemědělských produktech, rostlinách, průmyslových materiálech, hospodářských zvířatech nebo dokonce na člověku.^{[7][8]}

4.1 DĚLENÍ PESTICIDŮ

První skupinou jsou insekticidy, které jsou určeny proti hmyzu, který škodí na zemědělských plodinách nebo například přenáší pro člověka nebezpečné choroby. Těmito látkami jsou například chlorované uhlovodíky, jako třeba DDT, organofosfáty nebo karbamáty a jsou pro člověka nejméně škodlivé. Zoocidy jsou jedny z nejvýznamnějších pesticidů, kam dále patří akaricidy (proti roztočům), nematocidy (proti háďátkům), moluskocidy (proti měkkýšům) nebo třeba rodenticidy (proti hlodavcům).^[7]

Druhou skupinou jsou fungicidy, které jsou používány pro boj s parazitickými houbami, které kvůli absenci chlorofylu nemají možnost si samy vytvářet živiny, musí je tedy čerpat paraziticky z žijících rostlin nebo z organického materiálu. Chemickými látkami, které jsou takto používány, jsou například triazoly nebo thiokarbamáty.^[7]

Další a poslední z nejrozšířenějších a nejpoužívanějších skupin pesticidů jsou herbicidy, které jsou používány proti plevelům. Můžeme je použít k hubení vyšších rostlin, které jsou v porostech kulturních rostlin, nebo jako totální herbicidy, které používáme k hubení všech plevelů na nezemědělských plochách. Mohou sloužit také k defoliaci (odlistění) nebo desikaci (zasychání zelených částí rostliny). Látky, které jsou používány jako herbicidy, jsou například deriváty močoviny, glyfosfáty, sulfonylmočovina nebo methylbromid.^[7]

4.2 HISTORIE PESTICIDŮ

Už v roce 1000 před naším letopočtem se Homér zmiňuje o použití oxidu siřičitého formou fumigantu, který měl sloužit jako prostředek k hubení hmyzu a potírání chorob rostlin. V roce 79 našeho letopočtu navrhl válečník a filozof Plinius použít arsenik jako insekticid. V 17. století byl poprvé použit nikotin ve formě extraktu z tabákových listů jako insekticidní látka k boji proti zobonosce slívové a sítěnce řepné. Tyto rané pokusy jsou výsledkem pozorování účinků mnohdy chybných aplikací, které byly založeny na pověrách. Z archeologických nálezů víme, že zde existovaly různé choroby a škůdci dávno před

člověkem. Teprve od poloviny devatenáctého století se začalo bojovat se škůdci a chorobami vědecky. Jako první přírodní insekticidy byly kolem roku 1850 zavedeny rotenon z kořenů derrisu a pyrethrum z květu chryzantém. Tyto dva insekticidy jsou dodnes používány. Od té doby prošlo toto chemicko-biologické odvětví velkým vývojem.^[8]

4.3 PESTICIDY OBSAŽENÉ VE STANDARDU

Samotný standard používaný ke kalibraci chromatografu obsahoval směs dvaceti pesticidů, mezi které patří například DDT, DDD, DDE, hyxechlorcyklohexan, heptachlor, aldrin, chlordan, endosulfan, dieldrin a endrin.

4.3.1 HCH

Hexachlorcyklohexan je bílá až nažloutlá syntetická chemická látka nepříjemného zápachu. Byla vyráběna hlavně pro své insekticidní účinky, které byly využívány při hubení lidských a zvířecích parazitů. Tento insekticid byl používán i k ošetřování zemědělských a lesních ploch. Když přijde s hexachlorcyklohexanem do kontaktu člověk, může dojít k poškození ledvin, štítné žlázy, jater nebo nervové soustavy. Je to také možný karcinogen a může poškodit i dýchací cesty.^[9] Tato látka má šest izomerů. Nejsilnější izomer je izomer gama, který se v 99% čistotě nazývá Lindan, ten byl používán ve směsi s DDT a po zákazu DDT se i nadále používal k moření osiva. Další izomery nemají samostatně takové účinky, a proto se používaly ve směsi jako tzv. technický HCH, který obsahoval 65–70% α -HCH, 6–8% β -HCH, 12–15% γ -HCH, 2–5% δ -HCH. Zbytek tvořily ostatní izomery. Dnes se hexachlorcyklohexan v České republice omezeně vyskytuje jako meziprodukt u chemických výrob.^[10]

4.3.2 HEPTACHLOR

Heptachlor je bílá až lehce nažloutlá krystalická látka, která byla používaná jako insekticid. Své uplatnění našel jak v průmyslovém, tak v domácím prostředí, kde se používal na hubení půdního hmyzu jako jsou například termiti nebo mravenci. Tento insekticid působí na centrální nervovou soustavu tak, že vyvolává křeče. Heptachlor je schopen bioakumulace, kdy se v těle metabolizuje na heptachloreoxid, který se ukládá v tukových tkáních. Tento insekticid je podezřelý jako lidský karcinogen^{[11][9]} a v roce 1989 bylo v České republice jeho použití pro zemědělské účely zakázáno.^[12]

4.3.3 ALDRIN

Aldrin je organochlorový insekticid bílé barvy, který byl hojně využíván mezi padesátými a sedmdesátými lety dvacátého století. Byl používán hlavně na ochranu zemědělských plodin, například brambor, obilnin, řepy nebo bavlny a také našel své využití jako ochrana dřevěných konstrukcí před termity. V životním prostředí se díky bakteriím a slunečnímu záření rozkládá na dieldrin, který je velmi stabilní. U člověka může poškodit imunitní a reprodukční systém, a proto je řazen na seznam „Dirty dozen“. Je podezřelý jako rakovinotvorný pesticid.^{[11] [13]}

4.3.4 CHLORDAN

Chlordan, celým názvem 1,2,4,5,6,7,8,8-oktachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoindan je vysoce toxická látka, která se používala jako kontaktní insekticid na ošetření obilí a citrusů a také proti termitům. Je to směs několika látek, mezi které patří například trans-chlordan, cis-chlordan nebo beta-chlordan. Protože tato látka není rozpustná ve vodě, byla nejčastěji využívána ve formě spreje. Chlordan je bioakumulační látka, která je řazena mezi potencionálně rakovinotvorné.^[11] Může poškodit játra, ledviny, rozmnožovací soustavu nebo vyvíjející se plod. Po kontaktu s pokožkou nebo vdechováním mohou u člověka nastat křeče a dokonce smrt.^[14]

4.3.5 ENDOSULFAN

Endosulfan je chlororganický, hnědý, jemně zapáchající pesticid používaný jako insekticid proti hmyzím škůdcům na ochranu zemědělských plodin, dřeva a také jako součást přípravků ve veterinářství. Je znám ve svých dvou izomerech α -endosíran a β -endosíran, které mají stejné biologické účinky a jejich směs poskytuje technický endosulfan, kde je zastoupení těchto izomerů v poměru 7 : 3. Tato látka je stále vyráběna a její produkce je odhadována na 18 až 20 tisíc tun ročně. Od roku 2011 dochází k postupné eliminaci této látky, protože je mnohem toxičtější než DDT a kvůli ukládání v tukové tkáni může docházet k chronickým otravám živočichů. Poškozuje centrální nervový systém, hormonální systém^[15] a u pracovníků v továrnách vyrábějících tuto látku byly objeveny také psychické potíže a výpadky paměti.^{[16] [17]}

4.3.6 DIELDRIN

Dieldrin je organochloridový insekticid, který byl poprvé syntetizován v roce 1948 a měl sloužit jako náhrada DDT. Byl využíván mezi padesátými a sedmdesátými lety

dvacátého století na ochranu zemědělských plodin, dřeva a dřevěných výrobků před hmyzem a roztoči. Technický dieldrin je hnědá látka, která na kovy působí korozivně. Při dlouhodobém kontaktu u člověka může poškodit imunitní a reprodukční systém, je také považován za rakovinotvorný.^{[18] [19]}

4.3.7 ENDRIN

Endrin je chemická látka příbuzná aldrinu a dieldrinu. Poprvé byl vyroben v roce 1950 a hojně se využíval proti hlodavcům, ptákům nebo rybám. Používal se také na polích s tabákem, bavlnou a obilovinami nebo například v ovocných sadech. Ve vyspělých zemích je dnes tato látka zakázaná, protože její bioakumulační faktor je především u vodních živočichů vysoký, endrin je pro ně tedy toxický. Při kontaktu s touto látkou může dojít k akutní otravě nebo křečím, při dlouhodobém vystavení dochází ke snížení plodnosti nebo k poškození imunitního systému.^[20]

5 DDT

5.1 HISTORIE DDT

Doktor Paul Müller objevil v roce 1939 silné insekticidní účinky dichlordifenyiltrichlorethanu (dále DDT), který byl poprvé použit proti mandelince bramborové ve Švýcarsku. Po této úspěšné „premiéře“ se roku 1943 začalo DDT vyrábět ve velkém a stalo se nejrozšířenějším insekticidem na světě.^[21] DDT účinně pomohlo proti komárům, kteří přenášeli malárii, nebo vším, které přenášely tyfus. Také přispělo k objevení dalších analogických látek, které se používaly jako insekticidy nebo jako chlorované látky, které jsou pro hmyz kontaktním jedem.

Protože se DDT hromadí ve všech tkáních, prochází placentou a přechází i do mateřského mléka, bylo během sedmdesátých let dvacátého století postupně ve vyspělých státech zakazováno.^[8] V dnešní době je DDT používáno jen v Indii.^{[8][21]}

5.2 VLASTNOSTI DDT

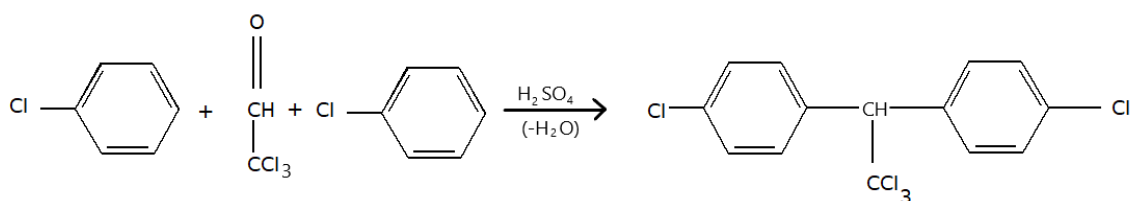
DDT je nejdůležitějším zástupcem organochlorových insekticidů. Celý název je 2,2-di-(4'-chlorfenyl)-1,1,1-trichlorethan. Poprvé tuto sloučeninu připravil v roce 1874 Othmar Zeidler, ale insekticidní účinky objevil o šedesát pět let později Paul Müller.^[8]

DDT se vyrábí kondenzací trichlorethanalu neboli chloralu s chlorbenzenem v přebytku kyseliny sírové^[8], viz Obrázek 5. Produkt této výroby obsahuje tři izomery. Z 80 % zastoupený p,p'-izomer, který má jako jediný význačné insekticidní vlastnosti, ve 20 % zastoupený o,p'-izomer a poslední o,o'-izomer, který je zastoupen pouze ve stopovém množství.

Roční produkce DDT na konci padesátých let dvacátého století převyšovala 100 000 tun, poté ale produkce klesala. Hlavními výhodami byly stabilita, nízké náklady na výrobu, široké spektrum insekticidní účinnosti a malá toxicita pro savce. DDT hubí vše od domácího hmyzu po moskyty, není účinné proti roztočům a létajícímu hmyzu.^[8]

Člověk je DDT vystaven hlavně v potravě. Při velkém vystavení může DDT poškodit nervový systém a narušit metabolismus steroidních hormonů, takže může dojít k poruše vývoje plodu nebo plodnosti. Také může zapříčinit rozvoj rakoviny. Metabolity DDT jsou velice stálé a v prostředí je rozkládáno jak chemickou, tak biologickou cestou osm až patnáct let.^[21]

Nejznámější metabolizace je dehydrochlorace za vzniku derivátu dichlorethylenu (DDE) účinkem nemikrosomálního enzymu DDT-dehydrochlorinasy. Samotné DDE je dále metabolisováno v těle ptáků a savců na karboxylovou kyselinu DDA. Ta už je velice dobře rozpustná ve vodě a z těla je vylučovaná.^{[8][21]}



Obrázek 5 Výroba DDT

6 ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

6.1 DŮVOD MĚŘENÍ

V lidské historii se objevilo velké množství milníků, které negativně ovlivnily přírodu kolem nás. Mezi ně patří například nukleární katastrofy (výbuch Černobylské jaderné elektrárny), průmyslové katastrofy (havárie chemičky u města Seveso), ropné katastrofy (havárie plošiny Deepwater Horizon), katastrofy spojené se zemědělstvím (Dust Bowl) nebo katastrofy z jiných příčin (smog v Londýně v roce 1952). S postupem času vyspělé společnosti dochází, že má kolem sebe jedinečnou přírodu, jejíž obnova by byla velice náročná, a proto se snaží životní prostředí chránit všemi možnými způsoby.

Mezi velké zásahy do životního prostředí můžeme řadit i nekontrolovatelné používání pesticidů, které bylo hlavně ve dvacátém století neregulované a nebyly zde kontrolovány negativní účinky, proto tyto látky škodily jak životnímu prostředí, tak i lidské populaci a následky jsou v krajině viditelné i dnes.

Proto dnes existují metody, díky kterým kontrolujeme hodnoty škodlivých pesticidů v půdě, ve vodě, v potravinách nebo v ovzduší, mezi ně patří i plynová chromatografie. Můžeme kontrolovat stav životního prostředí a předcházet tak dalším katastrofám a negativním dopadům na životní prostředí.

6.2 DDT A ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

V roce 1962 byla vydána kniha oceánoložky Rachel Carson s názvem Silent Spring (Tiché jaro), ve které autorka popisuje úbytek ptačích populací v USA, především drozdů stěhovavých a orlů bělohlavých. Tento úbytek přičítala masovému používání DDT, které bylo v té době velmi oblíbené. DDT působí neurotoxicky hlavně u hmyzu, kde narušuje transport vápenatých iontů přes buněčnou membránu neuronů, v důsledku toho také narušuje tvorbu vaječných skořápek, které obsahují uhličitan vápenatý. Skořápky nedržely tvar a byly velmi měkké, takže neudržely hnízdící samičku. Tato kniha americkou společností tak otřásla, že byla založena nová americká instituce Agentura pro ochranu životního prostředí. DDT bylo v USA okamžitě zakázáno a následně se toto omezení díky Stockholmské úmluvě rozšířilo do dalších zemí. Samotné DDT se dnes může používat pouze v oblastech velkého výskytu malárie, ale už v době největšího rozkvětu DDT existovaly látky, které byly také proti komárům účinné a mohly DDT nahradit.^[22]

7 LEGISLATIVA

Když se v roce 1972 konala Stockholmská konference o životním prostředí, mělo svá ministerstva nebo agentury pro životní prostředí sotva víc než deset států. Během prvních dvaceti let od této konference založilo instituty na ochranu životního prostředí přes sto států. Sice nemůžeme říct, že by svět vyřešil všechny otázky a problémy týkající se znečištění, ale zajisté udělal pokroky. Díky nově nastaveným pravidlům se například populace ptáků, kteří měli reprodukční problémy kvůli DDT, začaly zotavovat.^[23]

7.1 OCHRANA NA EVROPSKÉ ÚROVNI

7.1.1 SCHVALOVÁNÍ PESTICIDŮ

Žadatel o umístění svého pesticidu na trh nejprve požádá odpovědný úřad členského státu, který zkontroluje všechny dokumentace a vědecké podklady a poté informuje Komisi a Evropský úřad pro bezpečnost potravin a ostatní členské státy. Poté se zahájí posuzování žádosti o schválení pesticidů, do které se mohou zapojit také jiné členské státy. Posuzování žádosti může trvat až dvanáct měsíců a pokud žádost bude schválena, daná látka bude umístěna na seznam schválených pesticidů. Tento seznam je v online podobě a má k němu přístup kdokoli.^[24]

7.1.2 REGISTRACE

Evropská agentura pro chemické látky (ECHA) stanovila roku 2010 povinnost registrovat a) látky v množství 1 000 tun za rok nebo větší; b) látky vysoce toxické pro vodní prostředí v množství 100 tun za rok nebo větší; c) nejnebezpečnější látky vyráběné či dovážené v množství 1 tuna za rok nebo větší. V roce 2013 byl mezník pro registraci látek vyráběných nebo dovážených od 100 do 1 000 tun za rok. Celý proces byl uzavřen v roce 2018 registrací látek uváděných na trh od 1 do 100 tun za rok.^[25]

7.1.3 PŘEDCHÁZENÍ ZÁVAŽNÝM HAVÁRIÍM

Jedná se o řadu směrnic označených Seveso I až Seveso III, které stanovují opatření a povinnost podávání zpráv o bezpečnosti a vypracování havarijních plánů. Dnes aktuální směrnice Seveso III bere v úvahu klasifikace látek dohodnuté na úrovni OSN.^[25]

Udržitelné využívání pesticidů – Jako pesticidy označujeme všechny látky, které používáme k vymýcení, potlačení, vyhubení a k preventivní ochraně organismů, které jsou zároveň brány jako škodlivé. Pod tento termín spadají jak přípravky na ochranu rostlin

v zemědělství, zahradnictví, zahradách a v parcích, tak i látky biocidní, které slouží k jinému účelu, například k ochraně materiálu nebo jako dezinfekční prostředek. Dne 21. října 2009 byl pod zkratkou SUD schválen a přijat balíček předpisů, které se zabývaly pesticidy a jejich udržitelným používáním, který si bere za cíl snížit riziko pro životní prostředí a zdraví a společně s tím zachovat úroveň produkce plodin a zdokonalit používání a distribuci pesticidů a celkově rozšířit povědomí o nich. Také klade důraz na uvádění přípravků na trh a s tím stanovuje pravidla pro shromažďování informací o množství pesticidů, které jsou na trh uvedeny a použity v každém členském státu. Například zakazuje letecké postřiky.^[23]

Perzistentní organické znečišťující látky – Tyto látky jsou schopné dlouho přetrvávat v životním prostředí díky své odolnosti proti rozkladu. Mezi ně patří pesticidy (např. DDT), průmyslové chemické látky (např. polychlorované bifenoly) a nezáměrně vznikající vedlejší produkty (např. furany). Evropská unie se zavázala ke kontrole používání, dovozu a vývozu těchto látek v souladu s Ženevskou úmluvou a Stockholmskou úmluvou.

Stockholmská úmluva – V roce 2001 vznikla tato dohoda, jejíž signatáři se zavazují k eliminaci nejznámějších perzistentních organických látek (POPs). Tuto úmluvu dodnes ratifikovalo 184 zemí světa včetně České republiky. Tato úmluva spadá pod OSN a na seznamu je dnes 30 zakázaných látek nebo skupin látek. Všechny tyto látky se vyznačují toxicitou, perzistencí, bioakumulací a dálkovým přenosem v životním prostředí. Tyto látky nejsou považovány za bezprostřední jedy, které hned zabíjejí, ale za látky, které vážně poškozují zdravý organismus. Mezi prvních osm zakázaných pesticidů (tzv. „Dirty dozen“) patřil aldrin, dieldrin, endrin, HCB, heptachlor, chlordan, mirex a toxafen. DDT patří k tzv. vektorovému použití.^[26]

7.2 OCHRANA NA NÁRODNÍ ÚROVNI

Na přelomu osmdesátých a devadesátých let dvacátého století byla v tehdejší Československu velice zanedbaná ochrana životního prostředí před chemickými látkami. Celá záležitost ochrany životního prostředí byla rozptýlena pouze do několika málo právních předpisů, které nepostihovaly ani celé spektrum problémů, které vyplývaly z používání chemických látek v přírodě. Pokuty a ekonomické postihy, které byly zavedeny například za znečištění ovzduší, byly tak nízké, že se vyplatilo raději zaplatit tyto restriktce než předělávat celý průmysl. Bylo to výhodné, protože tyto poplatky mohly být započteny do nákladů výroby, v důsledku toho se odrazily i na konečné ceně pro zákazníka.^[27]

Od vzniku samostatné České republiky je v Ústavě v článku č. 7 uvedeno: „Stát dbá o šetrné využívání přírodních zdrojů a ochranu přírodního bohatství.“^[28] a v Listině základních práv a svobod je sepsáno, že každý má právo na příznivé životní prostředí, na úplné a včasné informace ohledně stavu životního prostředí a nikdo nemá právo při vykonávání svých vlastních práv ohrožovat, poškozovat nebo ničit životní prostředí, přírodní zdroje nebo druhové bohatství přírody a kulturní památky.^[28]

O povolení k umístění pesticidu na trh v České republice rozhoduje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Ministerstvo zdravotnictví a National Institute of Public Health.

8 PLYNOVÝ CHROMATOGRAF

8.1 TYP CHROMATOGRAFU A KOLONY

Po celou dobu měření byl využíván plynový chromatograf DANI Master GC Fast Gas Chromatograph vyrobený společností DANI Instruments SpA, viz Obrázek 6. Do tohoto přístroje se zapojila kolona od firmy Zebron Capillary GC Column typu ZB– XLB, která měří na délku 30 metrů a její vnitřní průměr je 0,25 milimetru. Samotná kolona má teplotní rozmezí od 30 °C do 360 °C, což je její velká výhoda, protože teplota varu je u pesticidů poměrně vysoká. S touto kolonou jsme používali metodu EPA 8081A pro chlorované pesticidy.



Obrázek 6 Plynový chromatograf DANI Master GC Fast Gas

8.2 NASTAVENÍ PROGRAMU V POČÍTAČI

Program, přes který jsme kolonu ovládali, se nazývá Clarity. Program jsme nastavili na metodu pro chlorované pesticidy EPA 8081A. Čas procesu byl nastaven na 18 minut, kdy se teplota zvyšovala z 110 °C na 320 °C. Jako detektor jsme použili detektor elektronového záchytu a nosným plynem byl dusík. Rychlost průtoku plynu byla nastavena na 0,9 mililitru za minutu.

9 POMŮCKY

K nástřiku do plynového chromatografu byla použita stříkačka firmy SGE Analytical Science s objemem deseti mikrolitrů. Výhodou tohoto typu stříkaček je hladký povrch vnitřních stěn jejich skleněného těla, který je výrazně odolný vůči rozpouštědlům. Samotná jehla stříkačky je vlepena přímo do skleněného těla stříkačky a píst stříkačky je elastický, takže manipulace při vstřiku je poměrně jednoduchá. My jsme k nástřiku používali objem pět až deset mikrolitrů, viz Obrázek 7. Jehla samotná se musí zasunout zhruba tři centimetry do přístroje. Pokud se jehla zasune moc, tak se kapalina začne odpařovat dřív, než se jehla vyndá a zapne se program. Pokud je jehla zasunuta do přístroje málo, tak měření začne později, než zapneme program. Obě chyby mohou ovlivnit a znehodnotit měření.^[29]

Pro extrakci analytu z kapalného vzorku jsme používali plastové kolonky C-18 Strata viz Obrázek 9. Společně s vakuovým manifoldem napojeným na vývěvu jsme byli schopni přefiltrovat velký objem různorodé kapaliny za krátký časový úsek.^[30]

Pro získání vzorku z pevného skupenství jsme používali speciálně upravenou třepačku na dostatečné promísení cyklohexanu s pevnými částicemi. Pro následné oddělení rozdílných skupenství jsme použili centrifugu. Tím jsme byli schopni vytvořit vzorek, který byl připraven k nástřiku do kolony.

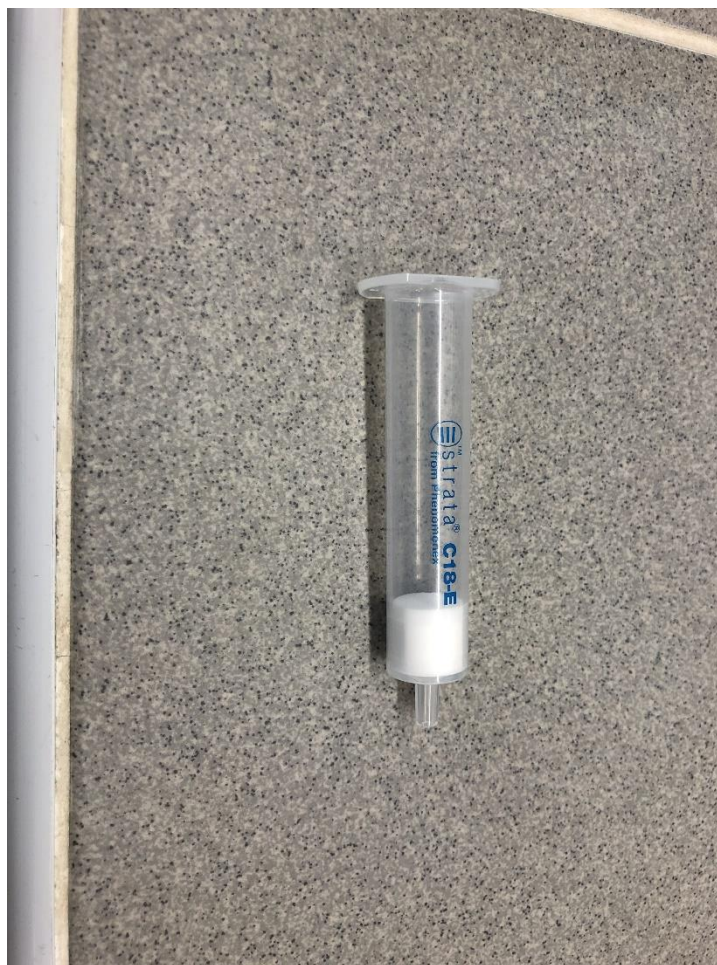
Všechny vzorky, které jsme si vytvořili a používali jsme je opakovaně, jsme uchovávali ve vialkách s objemem 1 mililitr, viz Obrázek 8.



Obrázek 7 Stříkačka používaná k nástřiku vzorku



Obrázek 8 Vialka pro uchovávání vzorků na měření



Obrázek 9 Kolonka strata C18-E

10 CHEMIKÁLIE

K naředění směsného standardu k metodě EPA 8081A jsme použili směs hexanu a toluenu. K naředění vzorku pesticidů jsme použili cyklohexan. K promývání kolonky jsme použili menší objem methanolu a chloroformu.

11 MĚŘENÍ

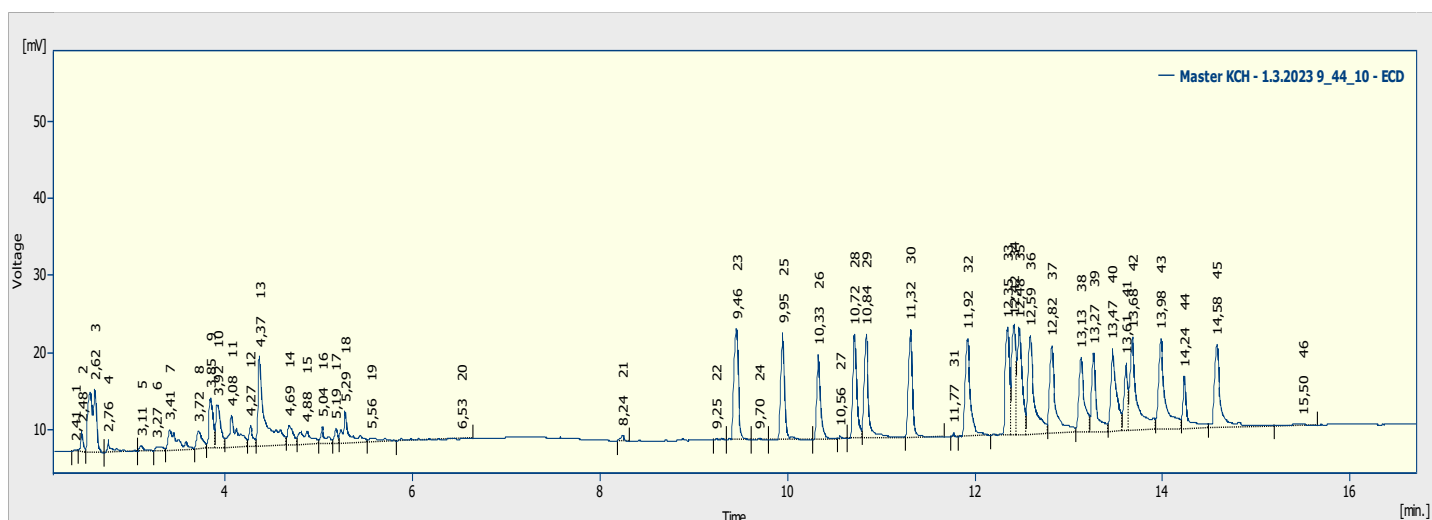
11.1 PŘÍPRAVA VZORKŮ

Jako první jsme si připravili standard, který obsahuje dvacet různých pesticidů (například DDT, DDE, DDD, BHC, heptachlor, metoxichlor, chlordane nebo endosulfan). Komerčně dostupný standard jsme naředili v poměru 1 : 999 směsí hexanu a toluenu. Samotná směs hexanu a toluenu byla v poměru 1 : 1. Tímto naředěním jsme získali větší objem, který nám umožnil lepší manipulaci při dalším postupu.

Také jsme si připravili vzorky některých pesticidů. Samotné pesticidy byly od výroby naředěny tak, že deset nanogramů pesticidu bylo rozpuštěno v jednom mikrolitru cyklohexanu. Tyto vzorky jsme naředili ještě dalším cyklohexanem v poměru 1 : 9. Jednalo se o vzorky chlordanu, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, γ -HCH a aldrinu.

11.2 PRŮBĚH MĚŘENÍ

Nejprve jsme museli zjistit, zda celý chromatogram s kolonou fungují tak, jak mají. Proto jsme na chromatografu začali pracovat se standardem, který obsahoval dvacet různých pesticidů. Po nástřiku do kolony a zapnutí programu EPA 8081A jsme po osmnácti minutách viděli na grafu píky všech dvaceti pesticidů v různém retenčním čase, viz Obrázek 10. Po úspěšném ověření funkčnosti celé metody jsme začali pracovat se vzorky jednotlivých pesticidů.



Obrázek 10 Celý chromatogram standardu

Vzorky s jednotlivými pesticidy jsme jednotlivě nastříkali do plynového chromatografu, abychom porovnali retenční časy jednotlivých vzorků pesticidů se

standardem pro metodu EPA 8081A. Tyto časy se jen nepatrně měnily, podle toho jsme usoudili, že máme plynový chromatograf nastavený správně na měření neznámých vzorků.

11.3 SEPARACE PEVNÉHO VZORKU

Na začátku celé práce jsme měli velké množství pevné látky. Byla to převážně hlína, písčité a kamenný sediment, od kterého jsme museli oddělit co nejmenší kusy zeminy a zbavit se tím velkých a dále nezpracovatelných částí materiálu. Po prosevu celého vzorku nám zbyl „poprašek“ vzorku, který byl vlhký, ten jsme nechali vysušit pro lepší manipulaci. Následně jsme jeden gram tohoto suchého vzorku přesypali do zkumavky, do které jsme následně přidali také pět mililitrů cyklohexanu. Zkumavku se směsí jsme zazátkovali a umístili na třepačku, kterou jsme nastavili na poloviční výkon na dvacet minut. Následně jsme zkumavky umístili na deset minut do centrifugy, abychom oddělili fáze a mohli jsme z každé zkumavky odebrat jeden mililitr, který jsme si uschovali ve vialkách. Tyto vzorky jsme poté využívali k nástřiku do plynového chromatografu.

11.4 SEPARACE KAPALNÉHO VZORKU

Extrakci analytu z kapalného vzorku bylo nutné navrhnout tak, abychom při dalších pracích mohli separovat různé druhy kapalin bez nenávratného poškození chromatografu a zároveň bez zkreslení výsledných záznamů.

Sestavili jsme si aparaturu na filtraci (viz Obrázek 11) ve které jsme použili kolonky Strata c18-E, které jsme vybrali hlavně pro jejich větší objem. Tuto kolonku jsme umístili na vakuový manifold, který byl připojen k vývěvě. Ve vakuovém manifoldu mohl být buď odpadní lavor, nebo stojan na zkumavky, do kterých jsme sbírali vzorky k měření.

Pro větší přehlednost bychom si měli označit používané standardy. „Čistý“ standard DDT, se kterým jsme pracovali, označíme jako A, tento standard měl deset nanogramů DDT rozpuštěných v jednom mikrolitru cyklohexanu.

Na začátku celé práce jsme tento standard A naředili ještě cyklohexanem v poměru 0,1 mililitr standardu A a 0,9 mililitru cyklohexanu. Tento pracovní standard jsme označili jako B.

Na začátku jsme za účelem ověření správného fungování chromatografu používali ještě standard všech dvaceti pesticidů, které umí rozpoznat naše kolona typu ZB – XLB.

Tento standard byl naředěn v poměru 1 : 1 000 pro lepší manipulaci. Tento standard jsme označili jako C.

V prvním pokusu extrakce jsme nanесли na naši aparaturu přibližně sto mikrolitrů standardu C, který byl pro lepší manipulaci naředěn cyklohexanem. Poté jsme kolonku na naší aparatuře prolili pěti sty mililitry destilované vody smíchané s methanolem v objemu 5 mililitrů. Směs, která protekla skrz kolonku, byla zachytávána, ale protože pro nás nebyla důležitá, zlikvidovali jsme ji. Poté jsme kolonku promývali dvaceti mililitry cyklohexanu, ten jsme po úpravě už sbírali do zkumavek. Vzorky z těchto zkumavek jsme poté nastříkali do nastaveného plynového chromatografu, ale neobjevili se nám žádné píky, které by odpovídaly nějakému pesticidu.

Poté jsme se rozhodli, že budeme pracovat už jen se vzorkem DDT, protože jsme měli větší objem tohoto vzorku, a tím pádem i více prostoru na chyby a další pokusy. Vytvořili jsme standard B, který jsme také prosáli skrz kolonku, výslednou směs jsme odchytili do zkumavek. Pokus s touto směsí v plynovém chromatografu opět neměl žádný výsledek, a proto jsme se rozhodli, že vzorky ve zkumavkách necháme po dobu jednoho týdne postupně vypařovat, aby koncentrace vzorku DDT byla co nejvyšší. Zde jsme využili fyzikálních vlastností DDT, to má teplotu varu kolem 260 °C, takže by se samotné DDT nemělo nikam vypařit. Po týdnu byla zkumavka se vzorkem vyschlá, takže jsme do ní nalili jeden mililitr cyklohexanu a co nejvíce omyli stěny zkumavky, kde by potenciálně mohlo být DDT usazeno. Poté jsme vzorek nanесли do chromatografu, opět se nám na grafu žádné píky neobjevily.

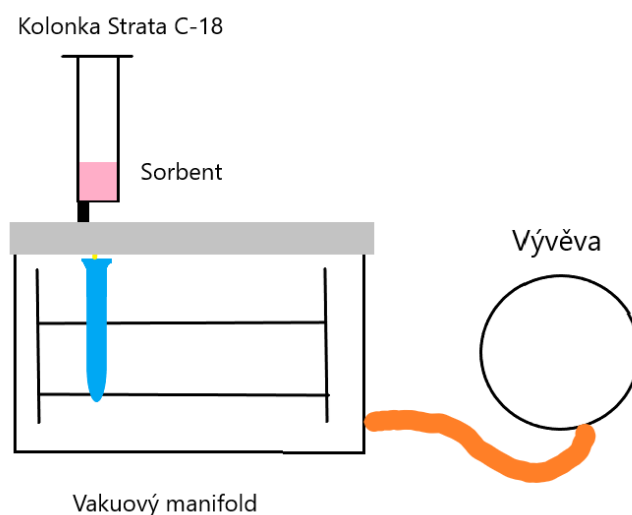
V další fázi jsme změnili samotnou separaci, po nanesení standardu B na kolonku jsme vložili kolonku do sušárny, která byla nastavena na 60 °C. Tento krok jsme provedli z důvodu odpaření cyklohexanu, ve kterém byl standard B naředěn. Poté jsme opět kolonkou prolili směs methanolu a destilované vody, kterou jsme po prolití zlikvidovali a následně jsme opět promyli kolonku cyklohexanem, který jsme sbírali do zkumavek. Tento vzorek nám na chromatografu opět nic neukázal ani po týdenním čekání na odpaření ze zkumavky a následném promytí stěn zkumavky cyklohexanem.

Jedna možnost neúspěchu byla, že se nám vzorek DDT ztrácí společně s promývací směsí, proto jsme další pokus dělali bez promývání a hned po nanesení standardu B

na kolonku jsme ji promyli cyklohexanem. Tyto vzorky nám na chromatografu stále nic neukazovaly.

Další možností byla změna rozpouštědla z cyklohexanu na chloroform. Proto jsme dali na kolonku malé množství standardu B a poté jsme ji dali vyschnout opět do sušárny. Následně jsme kolonku promyli chloroformem, který jsme sbírali. Po nástřiku vzorku se nám nic neukázalo, dokonce v jedné části detektor ukazoval nulové hodnoty, což je při správném průběhu metody nereálné.

Všechny tyto pokusy jsme prováděli minimálně dvakrát, abychom je mohli vyhodnotit jako špatné. Nevěděli jsme, kam se nám vzorek DDT ztrácí, proto jsme v posledních pokusech i zvyšovali objem vzorku, abychom měli jistotu, že je ho tam dostatečné množství.



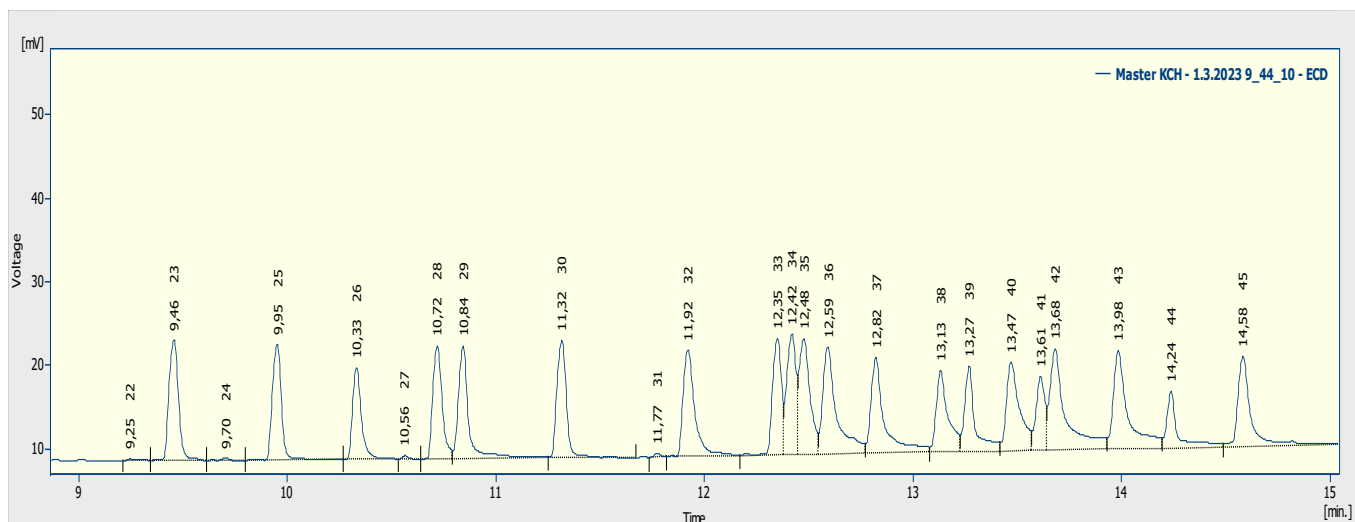
Obrázek 11 Schéma aparatury pro separaci kapalného vzorku

Začali jsme uvažovat, zda není chyba v koncentraci, protože jsme pracovali hlavně se standardem B, který byl výsledkem zředění už zředěného vzorku DDT. Proto jsme na kolonku nanесли standard A, který nebyl námi zředěn a opět jsme kolonku nechali vyschnout v sušárně. Poté, co jsme kolonku promyli cyklohexanem, nechali vzorek týden zahustit a následně ho nastříkli do kolony, se nám objevil pík, který odpovídal retenčnímu standardu C, který jsme nastříkovali na začátku celého měření a ověřování metody. Díky tomuto kroku jsme již mohli začít alespoň odhadovat, jaká přibližná koncentrace může být chromatografem s touto metodou registrovaná a jaká nikoliv.

12 CHROMATOGRAM

12.1 CHROMATOGRAM STANDARDU

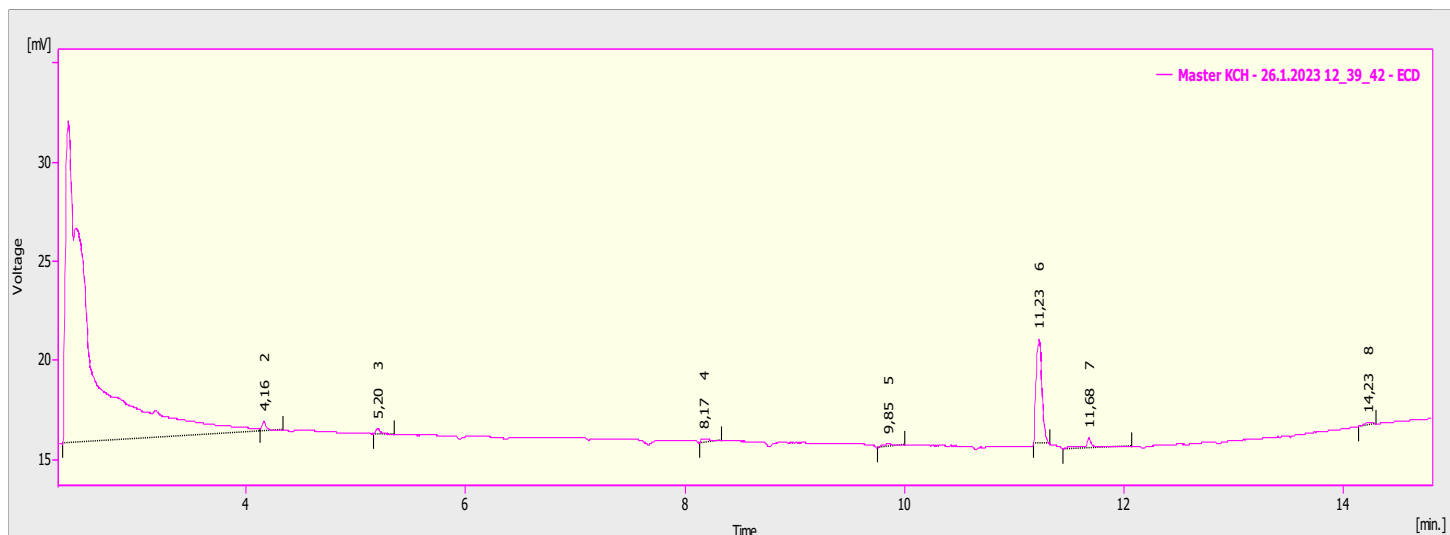
Na tomto chromatogramu (Obrázek 12) vidíme píky pesticidů, které obsahoval standard. První pík, který má označení 23 a je v čase 9,46 (9:28) označuje látku α -HCH. Další dva píky v čase 9,95 (9:57), označen 25 a 10,33 (10:20) označen 26, jsou píky γ -BHC a β -HCH. Další dva píky, které jsou velmi blízko u sebe jsou píky δ -HCH a heptachloru. V čase 11,32 (11:19) je vidět pík s označením 30, který je píkem Aldrinu. Pík s označením 32 je píkem heptachlor epoxidu. Další skupina tří píků v čase 12,35 (12:21), 12,42 (12:25) a 12,48 (12:29) jsou píky γ -chlordanu, α -chlordanu a endosulfanu I. Následný pík, který je blízko těmto třem píků patří 4,4'-DDE. Tento pík je v čase 12:59 (12:35). Následující pík v čase 12:82 (12:49) je označen 37 a patří dieldrinu. Pík číslo 38 v čase 13,13 (13:08) je píkem endrinu. Následující 39. pík náleží látce 4,4'-DDD. V čase 13,47 (13:28) je vidět pík endosulfanu II. Poté jsou na chromatografu dva píky velmi blízko sebe, a to pík endrin aldehydu v čase 13,61 (13:37) a pík 4,4'-DDT v čase 13,68 (13:41). Další, 43. pík znázorňuje endosulfan sulfát. Poslední dva píky v čase 14,24 (14:14) náleží methoxychloru a v čase 14,58 (14:35) endrin ketonu.



Obrázek 12 Standard z blízka

12.2 CHROMATOGRAM ALDRINU

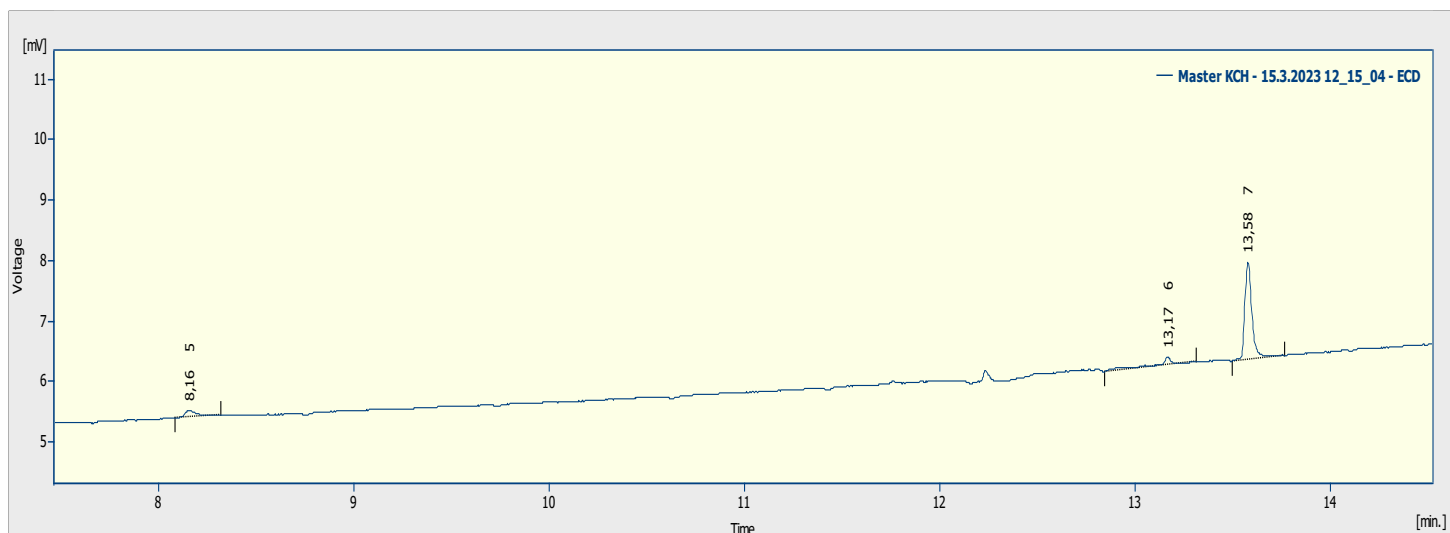
Chromatogram na Obrázku 13 znázorňuje už čistý pesticid, v tomto případě námi naředěný aldrin. Pík se ukázal v čase 11,23 (11:14). Tento vzorek byl nastříknutý přímo do kolony.



Obrázek 13 Zředěný vzorek Aldrinu

12.3 CHROMATOGRAM DDT

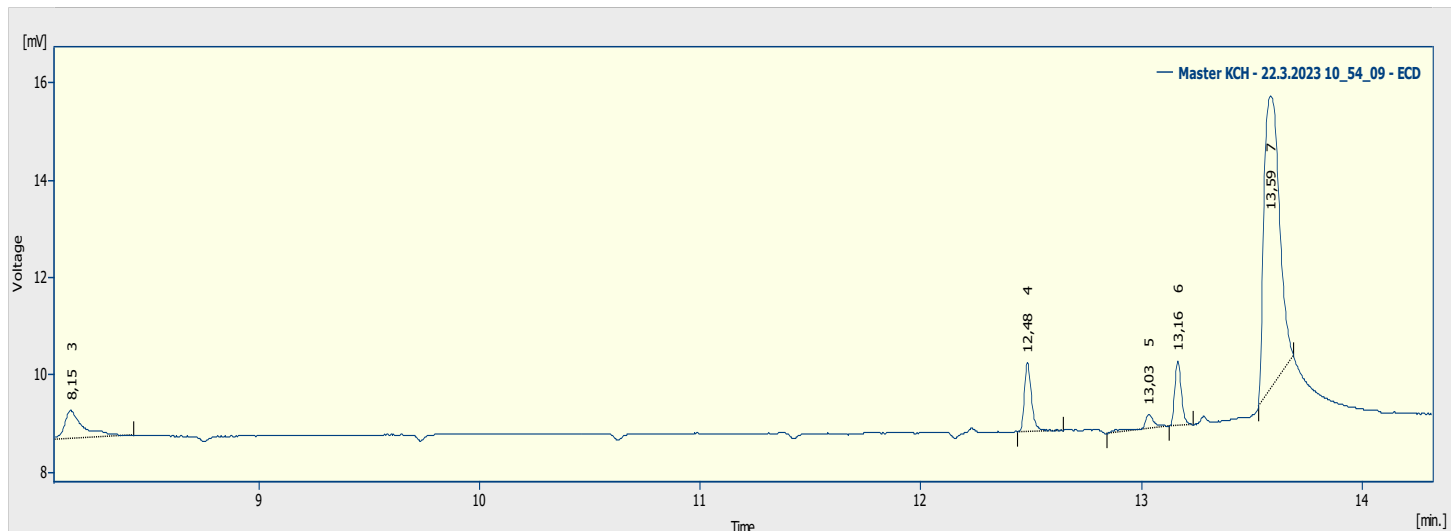
Na Obrázku 14 je vidět chromatogram DDT, které bylo námi naředěno, ukázal se v čase 13,58 (13:35). Tento vzorek byl nastříknutý přímo do kolony a je pro nás důležitý, protože s tímto vzorkem jsme zkoušeli i separaci pro kapalný vzorek.



Obrázek 14 Zředěný vzorek DDT

12.4 CHROMATOGRAM ČISTÉHO DDT

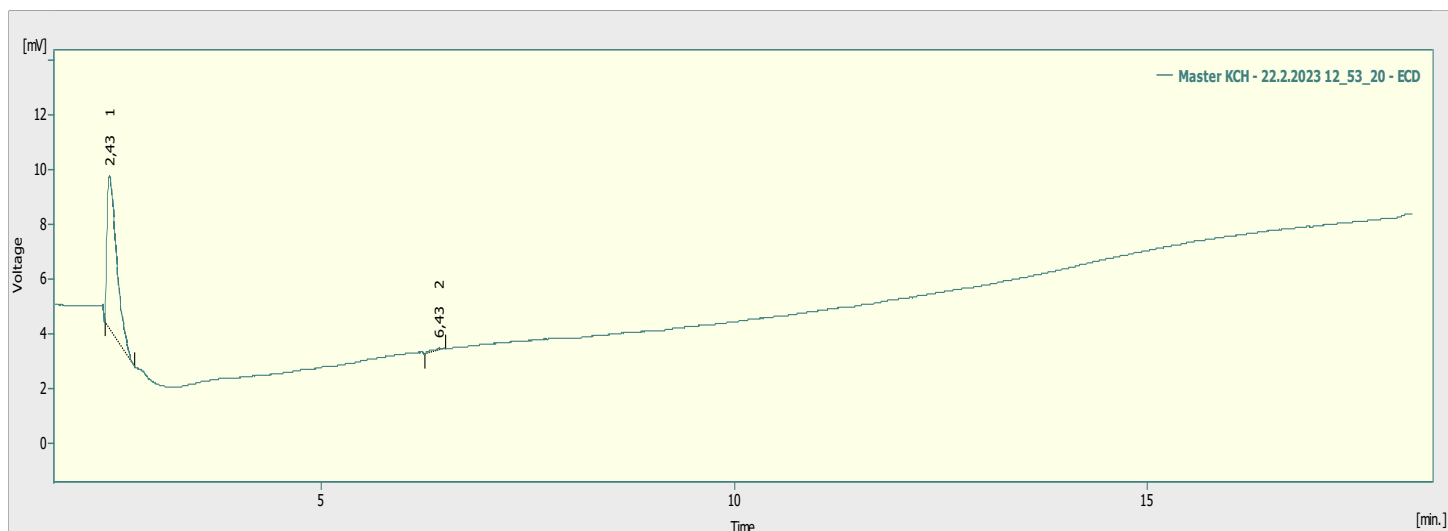
Na Obrázku 15 můžeme vidět chromatogram čistého DDT, které je naředěno pouze od výroby. Pík DDT je nádherně viditelný v čase 13,59 (13:35). Objem nástřiku vzorku byl 5 mikrolitrů a obsah píku je roven 27,574 jednotek.



Obrázek 15 Čistý vzorek DDT

12.5 CHROMATOGRAM NAŘEDĚNÉHO VZORKU CHLOROFORMEM

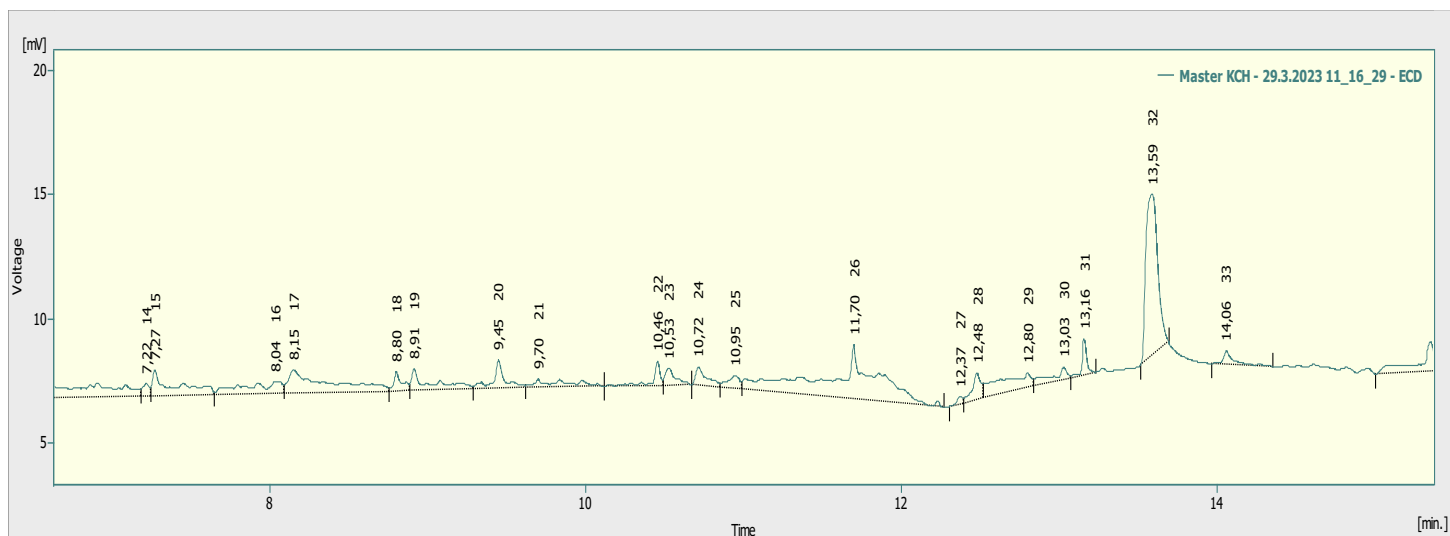
Na dalším chromatografu (viz Obrázek 16) je možné poukázat na to, jak vypadá vzorek, který je naředěn příliš a nevykazuje žádné naměřené hodnoty, také je vidět pík chloroformu, který v několika měřeních dokonce svou silou ochromil proud měření.



Obrázek 16 Zředěný vzorek DDT po separačním postupu pro kapalné vzorky promytý chloroformem

12.6 ČISTÉ DDT PO SEPARACI Z KAPALNÉ FÁZE

Na tomto chromatogramu (viz Obrázek 17) je znázorněný průběh analýzy vzorku čistého DDT, který byl nanesen na kolonku a následně vymyt z kolonky cyklohexanem. K tomuto promytí byla použita aparatura s manifoldem a vývěvou. Poté jsme nechali vzorek jeden týden zahustit. V grafu je znatelný pík v čase 13:36, který odpovídá DDT. Vzorek byl po úplném vyschnutí ze zkumavky omyt ze stěn jedním mililitrem cyklohexanu a jeho plocha je 37,416 jednotek.



Obrázek 17 Nezřaděný vzorek DDT po separační metodě pro kapalně vzorky

12.7 VÝPOČTY

Zde je dobré opět napsat, že jsme používali standardy o různém složení. Standard námi označen jako A byl standard, který měl koncentraci DDT deset nanogramů na jeden mikrolitr cyklohexanu. Tento standard A jsme si pro lepší manipulaci my sami také naředili cyklohexanem v poměru 1 : 9 a vznikl nám tak standard B.

Použitý standard A měl koncentraci 10 nanogramů na 1 mikrolitr cyklohexanu. Když jsme nastříkovali standard A do plynového chromatografu, nastříkovali jsme ho v objemu 5 mikrolitrů, což by odpovídalo 50 nanogramům samotného DDT. Obsah píku jsme naměřili v programu na 27 jednotek.

Když jsme zkoušeli metodu separace kapalného vzorku přes kolonku, nanесли jsme na sorbent 0,1 ml standardu A, což odpovídá 1 000 nanogramům čistého DDT. Obsah píku v chromatogramu byl 37 jednotek.

27.....100 %

37.....x

x = 137 %

100 %.....50 ng

137 %.....x

x = 68,5 ng

w = 68,5 ÷ 1000 = 6,85 %

Náš první pokus separace kapalného vzorku jsme prováděli se standardem B, kde jsme měli ve vzorku 100 nanogramů čistého DDT. Pokud bychom počítali výtěžnost naší separace 6,85 %, tak bychom do plynového chromatografu dávali vzorek s obsahem DDT 6,85 nanogramů. Při těchto pokusech se nám na chromatografu žádné píky neukázaly.

Je dobré zde zdůraznit, že výtěžnost 6,85 % je velice malá a tato práce byla zaměřena hlavně na nastavení chromatografu a následný odhad postupu, další práce, která by měla přinést lepší výsledky, by se měla zaměřit na zkvalitnění výtěžnosti. Také celý tento výpočet je ovlivněn jen malým množstvím měření a jen následující měření dokážou přinést přesnější data a hodnoty.

13 MĚŘENÍ NEZNÁMÉHO VZORKU

13.1 VÝBĚR NEZNÁMÉHO VZORKU

K měření jsme si vybrali pesticid DDT. Vybrali jsme si ho primárně proto, že byl v minulosti hojně používán a i dnes je jako pesticid hodně známý, hlavně kvůli jeho stálému výskytu u živočichů. Také je pro nás výhodný, protože je poměrně stálý a jeho doba rozpadu je velmi dlouhá.

13.2 SBĚR NEZNÁMÉHO VZORKU

Pro ověření celé metody na plynovém chromatografu jsme museli najít oblast, kde se původně vyskytovalo velké množství DDT. Chtěli jsme ověřit celou metodu, zda funguje a zda jsme schopni separovat vzorky tak, abychom dokázali něco naměřit, proto jsme potřebovali vzorek, ve kterém s velkou pravděpodobností bude nějaký pesticid, ideálně pokud by šlo o měřitelné množství DDT, se kterým jsme pracovali nejvíce.

Pro zjištění informací jsme kontaktovali Městský úřad v Sušici, ten nás odkázal na Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, který podle Městského úřadu v Sušici mohl mít nějaká data ohledně používání DDT. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský nám zaslal tabulky měření, které v Plzeňském kraji naměřil kolem roku 2008 (viz Příloha). Také jsme kontaktovali rodinné příslušníky, kteří za minulého režimu pracovali u přerozdělování pesticidů a jedů do JZD.

Po sběru nabytých informací všech míst jsme vybrali dvě vhodná místa. Jedním z nich byla louka u Velenov, kde Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský naměřil v roce 2008 hodnoty DDT, které svou výškou až několikanásobně převyšovaly ostatní naměřené hodnoty v okrese Klatovy. Druhým místem byl tip od rodinného příslušníka, jehož otec pracoval ve skladu u přerozdělování pesticidů a jedů v Janovicích nad Úhlavou, viz Obrázek 18.

Zatímco vzorek z louky u Velenov byl nabrán přímo na místě zaslaném ÚKZÚZ podle souřadnic, vzorek z Janovic nad Úhlavou byl nabrán pouze z blízkého okolí skladu, nikoliv přímo z vnitřku budovy, protože objekt byl zamčen a celý sklad dobře uzavřen.



Obrázek 18 Bývalý sklad pesticidů v Janovicích nad Úhlavou

13.3 ZPRACOVÁNÍ NEZNÁMÉHO VZORKU

Všechny vzorky jsme měli v pevném skupenství a museli jsme z nich udělat vzorky kapalné. Proto jsme každý vzorek nechali vysušit a postupně jsme prosívali a separovali co nejmenší kusy půdy za pomoci filtračního papíru. Od každého vzorku jsme si navážili jeden gram prosevu do zkumavky, kam jsme přidali pět mililitrů cyklohexanu. Zkumavky jsme zazátkovali gumovým víčkem a protřepali rukou. Všechny vzorky jsme poté vložili na dvacet pět minut do automatické třepačky na tři tisíce otáček. Následně jsme ze zkumavek sundali gumová víčka a dali je na deset minut do centrifugy (viz Obrázek 19), abychom oddělili pevnou fázi od fáze kapalné. Po rozdělení fází v centrifuze jsme za pomoci automatické pipety oddělili jeden mililitr každého vzorku do violek a zkumavky se vzorky

jsme pro jistotu ještě zazátkovali a nechali si je. Následně jsme námi separované vzorky o objemu pěti mikrolitrů nastříkli do plynového chromatografu.

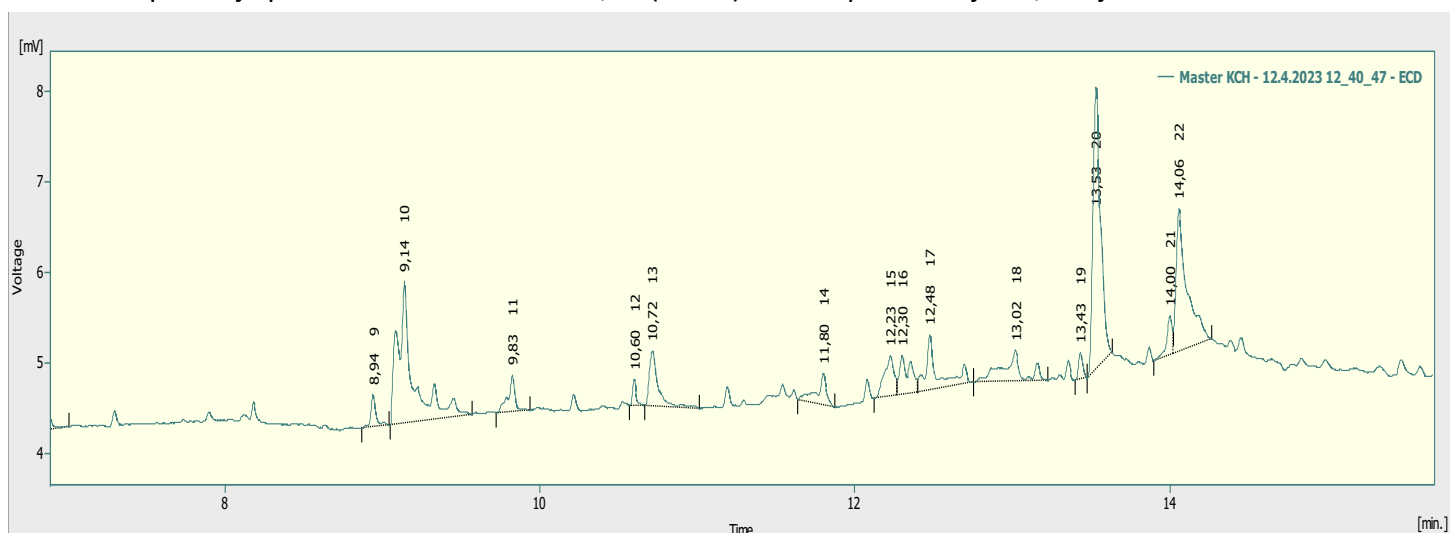


Obrázek 19 Centrifuga

13.4 HODNOTY NEZNÁMÉHO VZORKU

13.4.1 VZOREK Z POVRCHU PŮDY

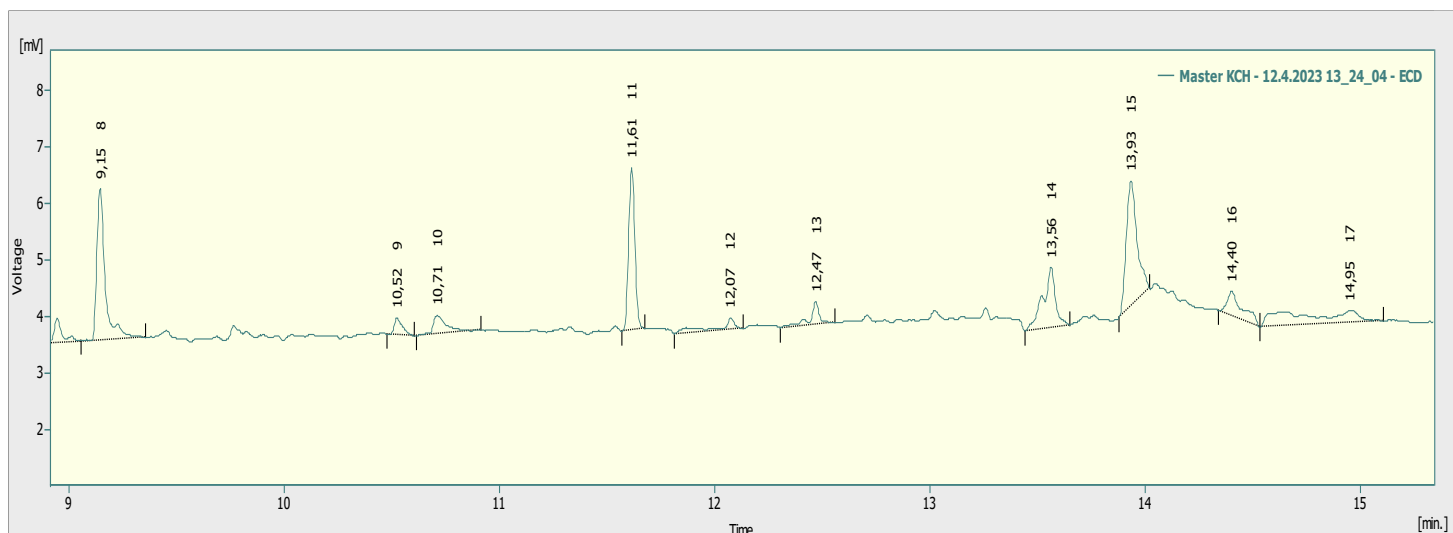
Chromatogram na Obrázku 20 představuje vzorek z Janovic nad Úhlavou, který byl nabraný z povrchu půdy. V čase 9,14 (9:08) je zde vidět pík, který by mohl představovat α -HCH. Následně v čase 13:53 (13:30) je pík, který znázorňuje DDT. Posledním výrazným píkem je pík endosulfanu v čase 14,06 (14:01). Obsah píku DDT je 11,018 jednotek.



Obrázek 20 Vzorek Janovice nad Úhlavou, povrchová hlína

13.4.2 VZOREK PŮDY Z HLUBKY DESETI AŽ PATNÁCTI CENTIMETRŮ

Druhý neznámý vzorek byl nabraný z větší hloubky, zde se ukázal pík α -HCH v čase 9,15 (9:09) a dále v čase 11,61 (11:37) pík heptachloru. Následuje méně výrazný pík DDT v čase 13,56 (13:34) a poslední pík endosulfanu v čase 13,93 (13:56), viz Obrázek 21. Obsah píku DDT je 4,32 jednotek.



Obrázek 21 Vzorek Janovice nad Úhlavou, odběr vzorku 10–15 cm pod povrchem

13.5 ORIENTAČNÍ VÝPOČET MNOŽSTVÍ DDT V NEZNÁMÝCH VZORCÍCH

Následující výpočet slouží k orientačnímu odhadu množství DDT v neznámých vzorcích. Při výpočtech používáme naměřenou hodnotu, kde má obsah píku při nastříknutí 50 nanogramů DDT 27 jednotek.

13.5.1 VÝPOČET MNOŽSTVÍ DDT VE VZORKU ODEBRANÉM Z POVRCHU PŮDY

Obsah píku tohoto vzorku DDT je 11,018 jednotek. Molární hmotnost DDT je 354,49 g/mol. Objem nástřiku je označen V_1 a objem extrakčního činidla jako V_2 . Látkové množství DDT v nástřiku je označeno jako n_1 a v extrakčním činidle n_2 .

$$50 \text{ ng} \dots\dots\dots 27$$

$$x \text{ ng} \dots\dots\dots 11,018$$

$$x = 20,4 \text{ ng}$$

$$c = n_1 \div V_1$$

$$n_1 = m \div M = 20,4 \times 10^{-9} \div 354,49 = 5,754746255 \times 10^{-11} \text{ mol}$$

$$c = 5,754746255 \times 10^{-11} \div 5 \times 10^{-6} = 1,150949251 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$$

$$m = n_2 \times M$$

$$n_2 = V_2 \times c = 0,005 \times 1,150949251 \times 10^{-5} = 5,754746255 \times 10^{-8}$$

$$m = 5,754746255 \times 10^{-8} \times 354,49 = 2,04 \times 10^{-5} \text{ g}$$

$$w = 0,00204 \%$$

Na základě tohoto výpočtu můžeme odhadovat, že vzorek odebraný z povrchu půdy by mohl obsahovat asi 0,00204 procent DDT.

13.5.2 VÝPOČET MNOŽSTVÍ DDT VE VZORKU ODEBRANÉM Z HLOUBKY DESETI AŽ PATNÁCTI CENTIMETRŮ

Obsah píku tohoto vzorku DDT je 4,32 jednotek. Molární hmotnost DDT je 354,49 g/mol. Objem nástřiku je označen V_1 a objem extrakčního činidla jako V_2 . Látkové množství DDT v nástřiku je označeno jako n_1 a v extrakčním činidle n_2 .

$$50 \text{ ng} \dots\dots\dots 27$$

$$x \text{ ng} \dots\dots\dots 4,32$$

$$x = 8 \text{ ng}$$

$$c = n_1 \div V_1$$

$$n_1 = m \div M = 8 \times 10^{-9} \div 354,49 = 2,256763237 \times 10^{-11} \text{ mol}$$

$$c = 2,256763237 \times 10^{-11} \div 5 \times 10^{-6} = 4,513526475 \times 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$$

$$m = n_2 \times M$$

$$n_2 = V_2 \times c = 0,005 \times 4,513526475 \times 10^{-6} = 2,256763237 \times 10^{-8}$$

$$m = 2,256763238 \times 10^{-8} \times 354,49 = 8 \times 10^{-6} \text{ g}$$

$$w = 0,0008 \%$$

Na základě tohoto výpočtu můžeme odhadovat, že vzorek odebraný z hloubky deseti až patnácti centimetrů by mohl obsahovat asi 0,0008 procent DDT.

14 ZÁVĚR

V této práci postupujeme od samotného nastavení chromatografu až po zpracování a vyhodnocování vzorků z přírody. Protože tato práce byla v této metodě pilotní, věnovala se hlavně nastavení chromatografu a následnému testování extrakce analytu. Z toho důvodu zde nezbyl čas na provedení vícero měření a testování, které je u těchto analytických metod tak důležité. Podařilo se ale ukázat cestu v separacích pevných a kapalných vzorků, které bude nutné ještě zdokonalit. Při našich měřeních jsme se extrakcí z kapalného vzorku pohybovali kolem 7% výtěžnosti, což je velmi nedostačující a naplní dalších prací bude jistě zdokonalení těchto separačních metod.

Dále jsme zkusili také separaci a následné měření našich vzorků z přírody, které dopadlo úspěšně. Samozřejmě prozatím nemůžeme uvést přesné hodnoty, ale samotný fakt, že nám chromatograf ukázal píky v časech, které odkazují na přítomnost pesticidů, je svým způsobem úspěch. Kdybychom měli hrubě odhadnout množství DDT v námi odebraných neznámých vzorcích, podle provedeného výpočtu lze říci, že ve vzorku odebraném z povrchové půdy se nachází asi 0,00204 % DDT a ve vzorku odebraném z hloubky deseti až patnácti centimetrů asi 0,0008 % DDT.

Pokud bychom měli udělat nějaký odhad, který by mohl pomoci při následné práci s chromatografem a s touto metodou, byl by odhad asi takový, že chromatograf nezaznamená 6,85 nanogramů ve vzorku.

15 RESUMÉ

V této bakalářské práci jsme se zaměřili na měření koncentrace pesticidů v půdě za pomoci plynového chromatografu.

Popisujeme zde, jak probíhá separace a jaké jsou její druhy. Poté se zaměřujeme na chromatografii, konkrétně na plynovou chromatografii, její skladbu a samotné části chromatografu, jako jsou druhy detektorů a druhy kolon. Také se zaměřujeme na životní prostředí a legislativu, která se týká pesticidů a jejich uvedení na trh, mapování a regulace. Dále se věnujeme popisu samotných pesticidů, se kterými se setkáváme v této práci.

V další části této práce se věnujeme práci s plynovým chromatografem DANI Master GC Fast Gas Chromatograph a kolonou typu ZB– XLB. Zaměřujeme se na nastavení této kolony a práci s ní. Popisujeme pilotní extrakce analytu a přibližné výpočty výtěžnosti. V závěru práce se zabýváme neznámým vzorkem a výsledky při jeho použití v chromatografu.

In this bachelor's thesis, we focused on measuring the concentration of pesticides in the soil using a gas chromatograph.

We describe how a separation works and what are its types. Then we focus on chromatography, specifically gas chromatography, its composition, and the parts of the chromatograph, such as types of detectors and columns. We also focus on the environment and legislation related to pesticides and their marketing, mapping, and regulation. Next, we describe the pesticides, which are the topic of this thesis.

In the next part, we describe the work with the DANI Master GC Fast Gas Chromatograph and the ZB-XLB type column. We focus on setting up this column and working with it. We describe pilot extractions of the analyte and approximate yield calculations. At the end of the thesis, we deal with the unknown sample and the results when it is used in the chromatograph.

16 SEZNAM ZDROJŮ

1. ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
2. ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
3. OPEKAR, František. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0553-8.
4. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
5. LEHOTAY, Jozef. *Separáčné metódy v analytickej chémii*. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2009. Edícia vysokoškolských učebníc. ISBN 978-80-227-3036-5.
6. ČŮTA, František. *Instrumentální analýza: celostátní vysokoškolská učebnice pro studenty vysokých škol technických skupin oborů 27-Technická chemie silikátů, 28-Technická chemie, 31-Textil a oděvnictví*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986.
7. DOUŠOVÁ, Barbora a František BŮZEK. *Chemie životního prostředí: úvod do chemie atmosféry, hydrosféry a geosféry*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-979-2.
8. CREMLYN, Richard James William. *Pesticidy*. Praha: SNTL – nakladatelství technické literatury, 1985.
9. ISLAM, R., S. KUMAR, J. KARMOKER, Md. KAMRUZZAMAN, A. RAHMAN, N. BISWAS, T. K. A. TRAN a M. M. RAHMAN. Bioaccumulation and adverse effects of persistent organic pollutants (POPs) on ecosystems and human exposure: A review study on Bangladesh perspectives. *Sciencedirect* [online]. 2018. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352186418301743?via%3Dihub>
10. PETRLÍK, Jindřich a Petr VÁLEK. Hexachlorcyklohexan (HCH). *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/hexachlorcyklohexan->

hch?fbclid=IwAR0Gy3VEyiggJMc3GHcTAMjafhQwyy3mPI5KasBVIT7XOpmK2uz2BOWi
8Hw

11. PURDUE, M.P., HOPPIN J.A., BLAIR, A., DOSEMECI, M. a ALAVANJA, M.C.R. *Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the Agricultural Health Study* [online]. 2007. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ijc.22258>
12. PETRLÍK, Jindřich, Petr VÁLEK a Milan HAVEL. Heptachlor. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/heptachlor?fbclid=IwAR0I7T8YJKpQrkoDkwQsvngqCoasevo7VIWeFbXnX4JDOcfX2cjw1r7VhBY>
13. PETRLÍK, Jindřich, Petr VÁLEK a Milan HAVEL. Aldrin. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/aldrin?fbclid=IwAR2BTSUkA7knoF6DNFw_jHhLIQ2Bx5I1nEtIvOIP-jhslpTZt-yq95cGkP0
14. PETRLÍK, Jindřich, Petr VÁLEK a Milan HAVEL. Chlordan. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/chlordan?fbclid=IwAR3vclv4hR5GNeH8UjBfRii-y3fy2niWhY5gXlOc0B7AplA6VYzu8DrWMMy8>
15. KARN, S. K., A. UPADHYAY a A. KUMAR. Biomonitoring of endosulfan toxicity in human. *Techscience* [online]. 2021. Dostupné z: <https://www.techscience.com/biocell/v46n7/47040/html>
16. Y. YAVUZ, Y. YURUMEZ, H. KÜCÜKER, Y. ELA a S. YÜKSEL. Two cases of acute endosulfan toxicity. *Clinical Toxicology* [online]. 2007. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15563650701365909>
17. REPEŠ, Kamil, Petr VÁLEK a Ladislav KLEGER. Endosulfan. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/endosulfan?fbclid=IwAR3y6WMM_vdGVKf9zyMuG489aawzUkoQ74NI7uaSOqm1qH4PLQafPkzl4o1l

-
18. SNEDEKER, S. M. Pesticides and Breast Cancer Risk: A Review of DDT, DDE, and Dieldrin. *Environmental Health Perspectives*, vol. 109, 2001, s. 35–47. JSTOR [online]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/3434845>
19. PETRLÍK, Jindřich, Petr VÁLEK a Milan HAVEL. Dieldrin. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/dieldrin?fbclid=IwAR32Yf9x1rbdcZD8ROnZvh_HrVLJ4NN0xbIBCcam3JtPcPif2YQGcgBp1RY
20. PETRLÍK, Jindřich, Petr VÁLEK a Milan HAVEL. Endrin. *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/endrin?fbclid=IwAR3q8-xfwWW7gkYZ6FC40T49I5Xed-T9-qJuGo-vJ9yoQ66WtTktjyFX7wE>
21. REPEŠ, Kamil a Petr VÁLEK. Dichlordifenyltrichloretan (DDT). *Arnika* [online]. 2010. Dostupné z: <https://www.arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/dichlordifenyltrichloretan-ddt>
22. LINHART, Igor. *Základní pojmy v toxikologii, ekologii a ekotoxikologii: Basic terms in toxicology, ecology and ecotoxicology*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 9788075920409.
23. MEADOWS, Donella H. a Dennis L. MEADOWS. *Překročení mezí: konfrontace globálního kolapsu s představou trvale udržitelné budoucnosti*. Praha: Argo, 1995. ISBN 80-85794-83-7.
24. STRAPÁČ, David. Pesticidy. *Právní prostor* [online]. 2019. Dostupné z: <https://www.pravniprostor.cz/clanky/mezinarodni-a-evropske-pravo/pesticidy>
25. AMANATIDIS, Georgios. Chemické látky a pesticidy. *Evropský parlament – Fakta a čísla o Evropské unii* [online]. 2022. Dostupné z: <https://www.europarl.europa.eu/factsheets/cs/sheet/78/chemicke-latky-a-pesticidy>
26. Stockholmská úmluva. *Arnika* [online]. Dostupné z: https://arnika.org/toxicke-latky/nase-temata/zakony-a-umluvy/stockholmska-umluva?fbclid=IwAR2t-4je_7WvKuv2fmhHKwolioq6zP8PvWuV2UwtQ-C2hMC-crBBDj0x7aE
27. MOLDAN, Bedřich. *Životní prostředí České republiky: vývoj a stav do konce r. 1989*. Praha: Academia, 1990. ISBN 80-200-0292-8.

-
28. JŮZA, Jan. *Vybrané kapitoly z ochrany životního prostředí*. Plzeň: Vydavatelství ZČU, 1997. ISBN 80-7082-354-2.
29. Mikrostríkačky – HPST. *Labicom* [online]. 2023. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/vseobecny-spotrebni-material/mikrostrikacky>
30. FLASH kolony – HPST. *Labicom* [online]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/priprava-vzorku-prislusenstvi/flash-kolony>

17 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Dělení chromatografických metod podle typu fází.....	11
Obrázek 2 Schéma chromatografu	11
Obrázek 3 Chromatogram při eluční metodě.....	16
Obrázek 4 Schéma eluční metody	16
Obrázek 5 Výroba DDT	23
Obrázek 6 Plynový chromatograf DANI Master GC Fast Gas	28
Obrázek 7 Stříkačka používaná k nástřiku vzorku	30
Obrázek 8 Vialka pro uchovávání vzorků na měření	30
Obrázek 9 Kolonka strata C18-E	31
Obrázek 10 Celý chromatogram standardu	32
Obrázek 11 Schéma aparatury pro separaci kapalného vzorku	35
Obrázek 12 Standard z blízka	36
Obrázek 13 Zředěný vzorek Aldrinu	37
Obrázek 14 Zředěný vzorek DDT	37
Obrázek 15 Čistý vzorek DDT.....	38
Obrázek 16 Zředěný vzorek DDT po separačním postupu pro kapalné vzorky promytý chloroformem	38
Obrázek 17 Nezředěný vzorek DDT po separační metodě pro kapalné vzorky	39
Obrázek 18 Bývalý sklad pesticidů v Janovicích nad Úhlavou	42
Obrázek 19 Centrifuga	43
Obrázek 20 Vzorek Janovice nad Úhlavou, povrchová hlína.....	43
Obrázek 21 Vzorek Janovice nad Úhlavou, odběr vzorku 10–15 cm pod povrchem.....	44
