



VŠCHT PRAHA



**Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha
CSlab spol. s r.o.
Odborná skupina pro analýzy a měření CzWA**

Sborník 8. konference HYDROANALYTIKA 2019

HRADEC KRÁLOVÉ, 17. - 18. 9. 2019

Generální partner



Partneři konference



**Pražské vodovody
a kanalizace**



Severočeské vodovody a kanalizace, a.s.
601 267 267 • www.scvk.cz • 840 111 111



**Královéhradecká
provozní**

editoři

Vladimír Sýkora, Hana Kujalová

ISBN 978-80-904986-4-8

Programový a organizační výbor

Mgr. Alena Čapková

Doc. Ing. Vladimír Sýkora, CSc.

Ing. Alena Nižnanská

Ing. Hana Kujalová, Ph.D.

Ing. Jan Vilímec

Ing. Zuzana Cejpková, CSc.

© CSlab spol. s r.o., 2019

Texty publikované ve sborníku neprošly jazykovou korekturou, proto za věcnou a jazykovou správnost odpovídají jednotliví autoři. Editoři pouze formátováním textu zajistili jednotnou úpravu všech příspěvků.

SEKCE PLENÁRNÍ	1
ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 PŘÍBĚH TVORBY JEDNÉ NORMY.....	3
Šimonová G.....	3
ÚLOHA MANAŽERA KVALITY VE VODAŘSKÉ LABORATOŘI	5
Klokočníková E., Jankovská M.....	5
NORMY PRO ANALÝZU VODY.....	7
Fremrová L.....	7
POROVNÁNÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE S BĚŽNĚ POUŽÍVANÝMI METODAMI PRO KONTROLU MIKROBIOLOGICKÉ A BIOLOGICKÉ KVALITY PITNÉ VODY.....	15
Zuzáková J., Kabátová J., Vavrušková L., Nováková Z.	15
STANOVENÍ A VÝSKYT ESTROGENNÍCH HORMONŮ A DALŠÍCH LÁTEK S ESTROGENNÍM ÚČINKEM VE VODÁCH POMOCÍ LC-MS/MS A GC/MS.....	21
Ferenčík M., Schovánková J., Stojanová S.	21
UHPLC-MS/MS ANALÝZA A MONITORING 1,2,4-TRIAZOLU V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	27
Václavíková M., Halešová T., Tomešová D.	27
VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE SLEDOVÁNÍ TRIHALOGENMETHANU VE VODĚ VEŘEJNÝCH BAZÉNŮ	31
Jelígová H., Kotal F., Kožíšek F., Bendakovská L.	31
ZAMĚŘENO NA ODPADNÍ VODY: VÝSLEDKY PRVNÍHO ROKU ŘEŠENÍ PROJEKTU KOMUNÁLNÍ ODPADNÍ VODA JAKO DIAGNOSTICKÉ MEDIUM HLAVNÍHO MĚSTA PRAHY.	39
Očenášková V., Tušil P., Pospíchalová D., Marešová D., Chrastina D., Šafránková T., Bohadlová E.	39
OPTIMALIZACE METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH SYNTETICKÝCH DROG V KOMUNÁLNÍCH ODPADNÍCH VODÁCH	45
Bohadlová E., Očenášková V., Šafránková T., Janda V.	45
SLEDOVÁNÍ PESTICIDNÍCH LÁTEK VE VYBRANÝCH VODOVODECH V PRŮBĚHU JEDNOHO ROKU	49
Bendakovská L., Kotal F., Moulisová A., Jelígová H., Vavrouš A., Kožíšek F.,	49
METODY STANOVENÍ NIKOTINU A JEHO METABOLITŮ A ETHYLSULFÁTU V ODPADNÍ VODĚ	61
Pospíchalová D., Marešová D., Šafránková T., Očenášková V.	61
SOUČASNÉ TRENDY VE SLEDOVÁNÍ HYDROSFÉRY ANEB CO NOVÉHO NA LABI.....	69
Medek J.	69
STANOVENÍ ORGANICKÉHO DUSÍKU V ODTOCÍCH Z ČOV	73
Vilímec J.	73
NEJISTOTA VZORKOVÁNÍ – PŘEDSTAVENÍ POKYNŮ NORDTEST A EURACHEM.....	79
Milde D.	79
NOVÉ PŘÍSTUPY VE VZORKOVÁNÍ POVRCHOVÝCH VOD	81
Zelený L.	81
ÚSKALÍ ODBĚRU TECHNICKÉHO SNĚHU	85
Kubík M.	85

SEKCE POSTEROVÁ.....	91
MONITORING PESTICIDŮ, FARMAK A PRODUKTŮ OSOBNÍ PÉČE V POVODÍ DOLNÍ ÚHLAVY	93
Koželuh M., Valešová E.....	93
SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ŽELEZA S 1,10-FENANTROLINEM.....	101
Kujalová H., Černá L., Sýkora V.	101
EURACHEM: A FOCUS FOR ANALYTICAL CHEMISTRY IN EUROPE	107
Milde D., Barwick V., Bettencourt da Silva R. J. N., Brookman B., Ellison. S. L., Rollee T., Magnusson B., Patriarca M., Pikkarainen A-L., Ramsey M. H., Sibbesen L., Totu E.E., Tsimillis K., Vercruyse I., Wegscheider W.	107
ODBORNÉ INFORMACE.....	109
ZMĚNY NOVÉ NORMY ČSN 75 7340 – METODY ORIENTAČNÍ SENZORICKÉ ANALÝZY	111
Němcová V.....	111
REJSTŘÍK AUTORŮ.....	113
INZERCE	117
VŠCHT Praha, Ústav technologie vody a prostředí	119
CSlab spol. s r.o.....	121
Česká asociace pro vodu CzWA.....	123
MERCK spol. s r.o.....	125
Pražské vodovody a kanalizace, a.s.	127
Severočeské vodovody a kanalizace. a.s.....	129
Eurachem-ČR	131
Monitoring s.r.o.	133

SEKCE PLENÁRNÍ

ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 PŘÍBĚH TVORBY JEDNÉ NORMY

Gabriela Šimonová

Český institut pro akreditaci, o.p.s.

Technické normy jsou celosvětově využívány za účelem sjednocování postupů a procesů, zjednodušení prokazování kvality a kompetence a usnadnění komunikace zákazníků s dodavateli produktů a služeb. Na rozdíl od norem specifických pro jednotlivé produkty a služby, jsou normy deklarující požadavky pro zavedení systémů kvality široce využívány pro celou řadu oborů a odborností. Není tedy divu, že uvést v život normy, které jsou v celosvětovém měřítku tak hojně využívány, znamená spoustu času a práce pro všechny zainteresované strany.

CHVÍLE ZRODU

Více než 640 českých kalibračních a zkušebních laboratoří akreditovaných Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. (dále jen ČIA) již delší dobu očekávalo vydání revize normy ČSN EN ISO/IEC 17025:2005. Po několikaleté práci zástupců ČIA v pracovní skupině ISO CASCO/ WG 44, která normu od roku 2014 vytvářela a jejich aktivní účasti v rozsáhlém celosvětovém připomínkovém řízení, byla v listopadu 2017 vydána ISO/IEC 17025:2017 v anglickém originálním znění. Během tří měsíců byl Centrem technické normalizace ČIA za účasti připomínkovatelů z řad pracovníků ČIA i široké odborné veřejnosti zpracován český překlad normy, aby mohla v dubnu 2018 vyjít ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 v českém jazyce. Díky včasnému vydání českého překladu nedošlo k zásadnímu zkrácení tříletého přechodného období, jehož začátek je datován vydáním originálu ISO normy.

HARMONIZACE

Tím úkol pro český akreditační orgán zdaleka neskončil. Vybraní pracovníci ČIA se účastnili školení pro školitele personálu akreditačních orgánů pořádaných EA na úrovni Evropy a APLAC na mezinárodní úrovni. Cílem všech těchto školení byla harmonizace nově definovaných požadavků, což je v odlišných podmínkách a právních prostředích tolika států velmi komplikovaná záležitost.

INFORMACE ZÁKAZNÍKŮM

Říká se, že štěstí přejí připraveným a něco na tom bude. Díky tomu, že v porovnání s dalšími evropskými státy byla ze strany ČIA věnována revizi normy nadstandartní pozornost a péče už v době její tvorby, zaujali jsme v mezinárodní spolupráci pozici těch nejpřípravenějších. V době, kdy byl dokončován překlad normy do českého jazyka, bylo už s obsahovými změnami v normě seznámeno více než 700 pracovníků laboratoří, kteří byli účastní celkem tří maximálně naplněných seminářů pořádaných v Praze i v Brně.

ŠKOLENÍ PERSONÁLU

Souběžně s aktivitami pro naše klienty zároveň probíhalo školení personálu ČIA a to jak vlastních zaměstnanců, tak našich početných externích spolupracovníků. Celkem devět termínů školení pro externí odborné posuzovatele si vyžádalo mnoho času a kapacit našich kmenových zaměstnanců. Výsledkem tohoto maximálního nasazení je skutečnost, že 1.5.2018 tj. v první den účinnosti ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 je ČIA kompletně připravena posoudit žadatele o akreditaci dle revidovaného znění normy.

ZMĚNY V NORMĚ

Otázkou na místě je, na co že padlo tolik vynaložené energie. Neboli, co je v očekávaném dokumentu skutečně nového? Pokusím se o stručný popis těch nepodstatnějších změn.

Revize normy je v porovnání s původním dokumentem mnohem **stručnější a obecnější**. Její textový rozsah se zkrátil zhruba o pětinu, kompletně byla změněna struktura a především došlo k zásadnímu **posunu filozofie popisu jednotlivých požadavků**. Terminologie a **struktura** je shodná s rámcovými normami a normami posuzování shody, což uvítají laboratoře pracující ve vícevrstevném systému managementu kvality (např. ISO 9001+ ISO/IEC 17025). Norma je čtivá, logicky ubíhá podle přirozeného chodu **laboratorního procesního modelu** od přijetí objednávky, přes vzorkování, výběr metody a zajištění kvality výsledků, až po vydání protokolu nebo kalibračního listu. Na základě dlouhodobých zkušeností byly vyjasněny a **lépe definovány některé požadavky**. Mohu zmínit například požadavky na výroky o shodě se specifikací, výsledkové listy nebo dnes hojně používané laboratorní informační systémy.

Předmětem obav akreditovaných laboratoří se naopak může stát zavedení požadavku **zvažování rizik a vyhledávání příležitostí ke zlepšení**, který bude laboratoř muset zakomponovat do svých nastavených systémů

managementu kvality. Je pravdou, že bude pro pracovníky laboratoří naprostou nutností se v této oblasti alespoň minimálně vzdělat, pochopit požadavek v kontextu specifických činností konkrétní laboratoře a odbornosti a vybrat si srozumitelný nástroj pro pravidelné vyhodnocování. Na druhé straně je možné se na aplikaci řízení rizik dívat zároveň jako na benefit, na možnost mít větší prostor a svobodu při plnění požadavků založenou na podložených a odůvodněných rozhodnutích.

DALŠÍ VÝZVY

Nastalá změna normy se při implementaci netýká výhradně posuzované strany – zkušebních laboratoří. Začlenění požadavků na řízení rizik klade také zvýšené nároky na stranu posuzující – posuzovatele systému managementu kvality. Schopnost být otevřený vůči argumentaci laboratoře a rozhodný v případě vyjádření shody nebo neshody s požadavkem normy bude jednou z náplní dalšího vzdělávání pracovníků ČIA v rámci přechodného období.

BEZ OBAV

Z mého pohledu není změna normy pro fungování akreditované laboratoře nijak zásadně dramatická. Také analýzu rizik laboratoře běžně využívali, aby se na jejím základě mohli pracovníci kompetentně rozhodovat. Je třeba jen tato rizika pojmenovat, zaznamenat a zvolit vyhodnocení, kterému budou pracovníci rozumět a za kterého lze vycházet v dalším období při plánování zlepšování.

IMPLEMENTACE

K dosažení bezproblémového přechodu na novou normu mohou doporučit akreditovaným laboratořím tyto základní kroky. Jako první si důkladně prostudujete znění nové normy a označte si požadavky, které podle vás ve svém již nastaveném systému nesplňujete. Podle rozsahu těchto změn naplánujte termín přechodu v rámci akreditačního cyklu. Následně zaveďte změny do stávajícího systému podle navrženého harmonogramu respektujícího termín přechodu. Po implementaci nezapomeňte provést interní audit ke kontrole plnění požadavků nebo využijte dotazník pro žadatele o posouzení dle nové normy na webu ČIA. Nakonec podejte žádost o přeposouzení dle ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 - normy, na kterou jsme s napětím tak dlouho čekali.

ÚLOHA MANAŽERA KVALITY VE VODAŘSKÉ LABORATOŘI

Eva Klokočnicková, Monika Jankovská

Monitoring, s.r.o., Analytická laboratoř

Na konferenci „Hydroanalytika 2015“, kdy byly již známy první návrhy úprav normy ISO/IEC 17025 „Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří“, zazněla informace mimo jiné informace, že v připravované verzi normy již nebude vyžadována funkce manažera kvality. Tato informace, která vyvolala četné diskuse, pak byla potvrzena vydáním nové verze normy koncem roku 2017.

Verze normy ČSN EN ISO/IEC 17025 z roku 2005 ukládala zkušebním laboratořím povinnost jmenovat jednoho člena pracovního kolektivu do funkce **manažer kvality** (na názvu této funkce dle normy nezáleželo). Manažer kvality musel mít bez ohledu na své ostatní povinnosti a odpovědnosti stanoveny odpovědnosti a pravomoci, kterými zajistil uplatnění systému managementu vztahující se ke kvalitě a jeho trvalé dodržování. Manažer kvality musel mít přímý přístup k nejvyšší úrovni managementu, kde se přijímala rozhodnutí týkající se politiky laboratoře nebo jejích zdrojů. Úlohy a odpovědnosti manažera kvality pak musely být stanoveny v **příručce kvality**.

Nová verze normy z roku 2017 však o funkci manažer kvality vůbec nehovoří a nevyžaduje ani příručku kvality. Povinnosti týkající se systému managementu jsou v nové verzi normy popsány obecně a je na odpovědnosti laboratoře, jak plnění povinností normy zajistí, jak rozdělí mezi své pracovníky povinnosti ukládané laboratoři normou a kde v dokumentaci laboratoře bude plnění těchto povinností popsáno.

Mluvíme-li o povinnostech laboratoře týkajících se systému managementu, jsou v normě ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 obecně popsány takto (kap. 5 normy):

- laboratoř musí mít pracovníky, kteří bez ohledu na své další závazky mají pravomoci a zdroje potřebné k plnění svých povinností, které zahrnují:

- a. zavedení, udržování a zlepšování systému managementu,
- b. zjišťování odchylek od systému managementu nebo od postupů pro provádění laboratorních činností,
- c. zahájení akcí k prevenci nebo minimalizaci takových odchylek,
- d. podávání zpráv o výkonnosti systému managementu vedení laboratoře a o jakémkoliv potřebě zlepšování,
- e. zajištění efektivnosti laboratorních činností.

V laboratoři musí probíhat komunikace ohledně efektivnosti systému managementu a důležitosti respektování požadavků zákazníků a dalších požadavků a musí být zachována integrita systému managementu při plánování a zavádění jeho změn. S těmito činnostmi souvisí také další činnosti požadované normou:

- Laboratoř musí vytvořit, dokumentovat, zavést a udržovat systém managementu, který je schopen podporovat a prokazovat důsledné plnění požadavků tohoto dokumentu a zajišťování kvality laboratorních výsledků (kap. 8.1 normy).
- Management laboratoře musí vytvořit, dokumentovat a udržovat politiky a cíle pro splnění účelu tohoto dokumentu a musí zajistit, aby tyto politiky a cíle byly brány na vědomí a byly realizovány na všech úrovních dané organizací laboratoře (kap. 8.2 normy).
- Politiky a cíle se musí zabývat kompetencí, nestranností a konzistentní činností laboratoře (kap. 8.2 normy).
- Management laboratoře musí poskytnout důkaz o závazku managementu k přípravě a zavedení systému managementu a k trvalému zlepšování jeho efektivností. (kap. 8.2 normy).
- Laboratoř musí řídit dokumenty (interní a externí), které se týkají plnění požadavků tohoto dokumentu. (kap. 8.3 normy), manažer kvality by mohl být jmenován také správcem dokumentace.
- Laboratoř musí brát v úvahu rizika a příležitosti související s činnostmi laboratoře. Laboratoř musí plánovat opatření k řešení těchto rizik a příležitostí (kap. 8.5 normy).
- Laboratoř musí provádět interní audity (kap. 8.8 normy), manažer kvality by mohl být jmenován také interním auditorem.
- Manažer kvality by měl spolupracovat při managementu neshodné práce a přijímání nápravných opatření (kap. 7.10, 8.7 normy).
- Laboratoř musí identifikovat a zvolit příležitosti ke zlepšení a zavádět potřebná opatření (kap. 8.6 normy).
- Vedení laboratoře musí přezkoumávat systém managementu laboratoře v plánovaných intervalech (kap. 8.9 normy).

Při podrobném studiu požadavků normy na zdroje a proces však odhalíme další povinnosti, které by mohl s výhodou zastávat manažer kvality:

- A. Plnění požadavků na metrologickou návaznost, pokud je jmenován i do funkce metrologa laboratoře.
- B. Spolupráce při výběru, verifikaci a validaci metod a vyhodnocení nejistoty měření.
- C. Monitorování platnosti výsledků – plánování a přezkoumávání interních i externích způsobů zajištění platnosti výsledků zkoušek, zaznamenávání a přezkoumání výsledků tohoto monitorování, dále pak provádění analýz údajů z monitorování, využívání těchto závěrů k řízení a ke zlepšování laboratorních činností.
- D. Spolupráce při procesu vyřizování stížností.

Vedení laboratoře nese hlavní odpovědnost za řízení laboratoře, odpovídá i za dodržování požadavků normy ČSN EN ISO/IEC 17025. Manažer kvality by měl být tedy členem vedení laboratoře. Vedení laboratoře by mělo pravidelně přezkoumávat systém managementu nejen proto, že to vyžaduje norma, ale proto, že to vyžaduje provoz laboratoře. Vedení laboratoře by mělo vyhlásit politiku kvality a cíle kvality – jak cíle obecné, ale i cíle konkrétní s uvedením termínu splnění. Vedení laboratoře se musí zavázat k nestrannosti a manažer kvality by měl přispět i k včasnému odhalení a řešení případných rizik nestrannosti.

„Manažer kvality (MQ)“, na názvu funkce nezáleží, („Co je po jméně? Co řízí zvou, i zvané jinak, vonělo by stejně.“), je člověk zodpovědný za řízení a koordinaci kvality napříč celou laboratoří. MQ by měl zajistit, že služby poskytované laboratoří jsou v souladu s požadavky zákazníka i norem. Odpovídá i za další zlepšování systému managementu, navrhuje opatření ke zlepšení. Odpovědnost a působení manažera kvality je definována napříč organizační strukturou laboratoře, zaměřuje se na správné fungování procesů v laboratoři i všech dalších činnostech, odhaluje hrozící rizika v laboratoři ve spolupráci se všemi pracovníky laboratoře. Vše, co by manažer kvality měl dělat, by mělo být popsáno v jeho pracovní náplni. Ta může obsahovat i další činnosti, které s kvalitou úzce souvisí, tj. s řízením dokumentace, interními audity, metrologickou návazností, atd. Manažer kvality je podřízen vedoucímu laboratoře. Pokud sám provádí zkoušky, měl by jeho činnost prověřovat jiný pracovník, aby byl dodržen požadavek na nezávislost. Manažer kvality by měl splňovat minimálně tyto osobní vlastnosti:

je člověk:

- Etický, tj.: spravedlivý, pravdomluvný, upřímný, čestný a pravdomluvný
- Všímavý,
- Vnímavý,
- Všestranný,
- Houževnatý,
- Rozhodný,
- Soběstačný,
- Komunikativní,
- Praktický,
- Zodpovědný.

MQ by měl znát odbornou problematiku, v které laboratoř poskytuje zkoušky, tj. analýza, (případně a vzorkování), vod a dalších matric z oblasti životního prostředí. Na pracovišti by měl mít dostatečnou autoritu. Měl by mít zkušenosti s managementem kvality, znát příslušné normy, požadavky na akreditaci i další - například legislativní požadavky. Měl by být členem pracovního kolektivu, aby se mohl dostatečně seznámit s probíhajícími laboratorními procesy. Není vyžadováno, aby byl zaměstnancem laboratoře ve smyslu legislativy.

Laboratoř by měla věnovat výběru osoby, zodpovědné za plnění požadavků normy na systém managementu náležitou pozornost. Rozhodně by neměla postupovat tak, že vybere pracovníka, který se nejméně brání tuto funkci a s ní související pracovní povinnosti převzít. Manažer kvality by měl být jedním z těch nejlepších a nejvzpůsobilejších pracovníků laboratoře ve smyslu požadavků, který byly uvedeny výše. Vedení laboratoře by však nikdy nemělo zapomínat na to, že s povinnostmi, které je pracovník povinen zastávat, a souvisejícími odpovědnostmi, musí být svázány i náležité pravomoci k plnění těchto povinností. Manažer kvality by neměl mít jen „přístup“ k vrcholovému vedení laboratoře, ale měl by mít i možnost v laboratoři prosadit změny, které souvisejí s plněním požadavků mezinárodní, tj. i mezinárodní normy.

NORMY PRO ANALÝZU VODY

Lenka Fremrová

Sweco Hydroprojekt a.s., Táborská 31, 140 16 Praha
e-mail: lenka.fremrova@sweco.cz

V referátu je uveden přehled nově vydaných i připravovaných norem pro analýzu vody.

Do soustavy českých technických norem bylo zavedeno překladem několik norem, které připravila technická komise CEN/TC 230 „Rozbor vod“ Evropského výboru pro normalizaci (CEN) a technická komise ISO/TC 147 „Kvalita vod“ Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO). Stručný obsah příslušných norem ČSN je uveden dále:

ČSN ISO 11352 (75 7032) Kvalita vod – Odhad nejistoty měření na základě údajů z validace a řízení kvality

Tato norma specifikuje metody pro odhad nejistoty měření chemických a fyzikálně-chemických metod v jednotlivých laboratořích na základě validačních údajů a výsledků z řízení analytické kvality, které byly získány v oblasti analýzy vod. Principy odhadu nejistoty specifikované v této normě jsou konzistentní s principy popsanými v ISO/IEC Guide 98-3 [zaveden v TNI 01 4109-3:2011 Nejistoty měření – Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995)].

V této normě závisí kvantifikace nejistoty měření na výkonnostních charakteristikách postupu měření získaných z validace a na výsledcích z interního a externího řízení kvality. Tato norma je zaměřena pouze na hodnocení nejistoty měření výsledků, které byly získány kvantitativními postupy měření. Nejistoty spojené s výsledky, které byly získány kvalitativními postupy, nejsou do normy zahrnuty. Norma byla vydána v září 2018.

ČSN EN ISO 5667-3 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 3: Konzervace vzorků vod a manipulace s nimi

Tato část ČSN EN ISO 5667 obsahuje obecné požadavky na odběr, konzervaci, manipulaci, dopravu a uchovávání všech typů vzorků vod, včetně vzorků pro biologické rozbor. Není použitelná pro odběr vzorků vod určených pro mikrobiologické analýzy, který je specifikován v ČSN EN ISO 19458 Jakost vod – Odběr vzorků pro mikrobiologickou analýzu, ani pro zkoušky ekotoxicity, biologické zkoušky a pro pasivní odběr vzorků, který je předmětem normy ČSN EN ISO 5667-23 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 23: Návod pro pasivní odběr vzorků v povrchových vodách. ČSN EN ISO 5667-3 je zvláště vhodná v případě, kdy prosté nebo směsné vzorky nemohou být analyzovány na místě odběru a musí být dopraveny do laboratoře.

Norma byla vydána v lednu 2019 a nahradila ČSN EN ISO 5667-3 ze září 2013. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- v Úvodu bylo vysvětleno používání dob konzervace a podmínek stanovených v tabulce A.1, která obsahuje obecně vhodné způsoby konzervace vzorků pro fyzikálně-chemický a chemický rozbor;
- byly aktualizovány odkazy v tabulce A.1.

ČSN EN ISO 5667-3 uvádí v tabulce A.1 validované doby konzervace a podmínky i popis nejlepší praxe. Tabulka A.1 odkazuje pro každý analyt na normy ISO, dostupné v době vydání této ČSN EN ISO 5667-3. Tento seznam však není vyčerpávající. Mohou se používat jiné metody, pokud byly validovány. Pokud však validace metody nebyla provedena, důrazně se doporučuje dodržovat doby konzervace pro analyt, které jsou uvedeny v tabulce A.1 pro zkušební metody ISO.

Podmínky konzervace, uchovávání a maximální doby uchovávání pro analyt, které jsou uvedeny v tabulce A.1, mají být považovány za standardní podmínky, které se používají, pokud nejsou k dispozici další informace. Pokud však laboratoř provedla validaci odlišných způsobů konzervace a dob uchovávání pro určité podmínky a matrice a může poskytnout důkaz o této validaci, jsou tyto validované podmínky konzervace, uchovávání a maximální doby uchovávání přijatelné pro laboratoře, které provedly validaci.

Byly aktualizovány odkazy v tabulce A.1 Obecně vhodné způsoby konzervace vzorků – Fyzikálně-chemický a chemický rozbor. Byly například doplněny odkazy na normy:

ČSN EN ISO 12010 Kvalita vod – Stanovení polychlorovaných alkanů s krátkým řetězcem (SCCP) ve vodách – Metoda plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS) a negativní chemické ionizace (NCI);

ČSN EN ISO 17294-2 Kvalita vod – Použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) – Část 2: Stanovení vybraných prvků včetně izotopů uranu;

ČSN ISO 17378-2 Kvalita vod – Stanovení arsenu a antimonu – Část 2: Metoda atomové absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS);

ČSN P ISO/TS 17379-2 Kvalita vod – Stanovení selenu – Část 2: Metoda atomové absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS);

ČSN EN ISO 17943 Kvalita vod – Stanovení těkavých organických látek ve vodě – Metoda mikroextrakce headspace tuhou fází (HS-SPME) a plynové chromatografie–hmotnostní spektrometrie (GC-MS).

ČSN ISO 5667-4 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 4: Návod pro odběr vzorků z jezer a vodních nádrží

Tato část ČSN ISO 5667 uvádí návod pro navrhování programů odběru vzorků, způsobů odběru vzorků, konzervace vzorků a manipulace se vzorky vody z jezer a vodních nádrží, z volné vody a z vody pokryté ledem. Tato část ČSN ISO 5667 je použitelná pro jezera a vodní nádrže s vodní vegetací i bez ní.

Norma se podrobně zabývá rozložením míst odběru (popisuje horizontální a vertikální rozložení míst odběru) a časovým plánem odběru vzorků. Samostatná kapitola popisuje priority při měření ukazatelů kvality vody; rozpuštěný kyslík, hodnota pH, teplota vody, konduktivita, zákal a průhlednost změřená Secchiho deskou se má měřit na místě odběru.

Tato norma popisuje postup odběru vzorků z hladiny nebo blízko hladiny otevřeným vzorkovačem, postup odběru vzorků z hlubších vod uzavřenými vzorkovači a postup odběru vzorků pro stanovení těkavých látek. V příloze normy jsou znázorněny a popsány příklady vzorkovačů (vertikální vzorkovač, horizontální vzorkovač, hadicový vzorkovač, trubkový integrační vzorkovač, mechanický integrační vzorkovač vody, hydrostatický integrační vzorkovač vody, elektronický integrační vzorkovač vody a další).

Norma byla vydána v červnu 2018 a nahradila ČSN ISO 5667-4 z února 1994. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- doplnění nových termínů do kapitoly 3 Termíny a definice;
- doplnění nové kapitoly 5 Návrh programu odběru vzorků;
- doplnění nové kapitoly 8 Vzorkovnice;
- doplnění nové kapitoly 9 Priorita postupů;
- doplnění nové kapitoly 10 Odběr vzorků, znečištění materiály z prostředí;
- doplnění nové kapitoly 11 Proplachování vzorkovačů;
- doplnění nové kapitoly 12 Odběr vzorků vody z hladiny nebo blízko hladiny otevřeným vzorkovačem;
- doplnění nové kapitoly 13 Odběr vzorků uzavřenými vzorkovači;
- doplnění nové kapitoly 14 Odběr vzorků pro stanovení těkavých látek;
- doplnění nové kapitoly 15 Odběr vzorků pod ledem;
- doplnění nové kapitoly 16 Odběr vzorků při silných mrazech;
- doplnění nové kapitoly 18 Prokazování a řízení kvality;
- doplnění nové přílohy A Příklady vzorkovačů;
- doplnění nové přílohy B Výhody a nevýhody vzorkovačů;
- doplnění nové přílohy C Odběr vzorků z člunu – Udržování polohy;
- doplnění nové přílohy E Kontinuální měření vzorků vody ponornými sondami.

ČSN ISO 5667-12 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 12: Návod pro odběr vzorků dnových sedimentů z řek, jezer a z oblastí ústí řek

Tato část ČSN ISO 5667 poskytuje návod pro odběr vzorků neznečištěných sedimentů pro stanovení jejich geologických, fyzikálních a chemických vlastností, i pro stanovení biologických, mikrobiologických a chemických vlastností na rozhraní vody a sedimentu. Návod pro získání vzorků sedimentu je uveden speciálně pro měření rychlosti depozice a pro podrobné vymezení vrstev. Tato norma popisuje především metody pro získání vzorků sedimentů. Norma se používá pro dále uvedená prostředí:

- limnické (sladkovodní) (řeky, potoky, jezera a vodní nádrže),
- estuárie (ústí řek), včetně přístavů.

Tato norma se nepoužívá pro čistírenské kaly z průmyslových a městských odpadních vod a pro paleolimnologické vzorkování (jsou předmětem ČSN EN ISO 5667-15 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 15: Pokyny pro konzervaci a manipulaci se vzorky kalu a sedimentu), přestože některé způsoby odběru vzorků mohou být použity i v těchto podmínkách. Odběr vzorků nerozpuštěných látek není předmětem této normy a je možno odkázat na ČSN ISO 5667-17 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 17: Návod pro odběr vzorků nerozpuštěných látek z velkých objemů vzorku.

Norma byla vydána v srpnu 2018 a nahradila ČSN ISO 5667-12 z prosince 1997. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- doplnění nových termínů do kapitoly 3 Termíny a definice;
- doplnění nové tabulky 2, která shrnuje informace o drapácích;
- doplnění nové tabulky 3, která shrnuje informace o jádrových vzorkovačích;
- rozšíření článku 6.2, který popisuje přípravu směšného vzorku;
- doplnění nové přílohy L Zmrazovací jádrové vzorkovače;
- doplnění nové přílohy M Popis vzorkovače sedimentu s řezacím mechanismem;
- doplnění Bibliografie;
- vypuštění národní přílohy o vzorkovačích kalů. Pro odběr vzorků kalů platí ČSN EN ISO 5667-13 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 13: Návod pro odběr vzorků kalů.

ČSN ISO 5667-20 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 20: Návod pro použití údajů získaných při odběru vzorků k rozhodování – Shoda s limity a systémy klasifikace

Tato část ČSN ISO 5667 stanovuje zásady, základní požadavky a názorné metody, které jsou vhodné pro použití údajů získaných při odběru vzorků k rozhodování.

Použití údajů získaných při odběru vzorků k rozhodování je založeno na posouzení confidence, že kvalita vody:

- a) splňuje cíle a odpovídá limitům;
- b) se změnila;
- c) je v mezích určitého stupně klasifikačního systému.

Tato část ČSN ISO 5667 také specifikuje metody pro předběžné zkoumání citlivosti rozhodování vůči chybě a nejistotě, přestože nezahrnuje celý rozsah statistických metod. Tato norma poskytuje obecná doporučení pro rozhodování, která se týkají omezení způsobů vyjadřování limitů a cílových hodnot a formy a rozsahu programů odběru vzorků.

Tato norma je určena pro odběr vzorků a měření koncentrací chemických látek, a to zejména těch látek, u kterých dochází k velkým změnám každodenních koncentrací. Zásady se však používají pro jakoukoli položku (ukazatel), která se odhaduje pomocí odběru vzorků, jenž je ovlivněn náhodnou chybou, včetně mikrobiologických a biologických dat, a dat ovlivněných velkými změnami v prostoru. Norma byla vydána v prosinci 2018.

ČSN ISO 5667-24 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 24: Návod pro auditování vzorkování

Tato část ČSN ISO 5667 poskytuje protokol (dokumentovaný postup) auditu pro monitorování shody s deklarovanými nebo předpokládanými postupy používanými v praxi ve všech oblastech vzorkování vod. Tato norma konkrétně poskytuje návod pro systematické posuzování postupů vzorkování v terénu posuzováním shody s postupy uvedenými v manuálu k odběru vzorků, které zpracovala organizace. Norma je použitelná pro audit činností spojených se vzorkováním, a to od vypracování manuálu k odběru vzorků až po doručení vzorků do laboratoře.

Tato norma se používá v praxi pro vzorkování, které souvisí s odpadními vodami, včetně jejich vypouštění do vodních útvarů, s environmentálním monitoringem, s dodávkou pitné vody od zdroje ke spotřebiteli, s komerčním a průmyslovým využitím vody a s výrobou energie.

Tato norma se používá pro audit postupů používaných v praxi při vzorkování, které souvisí s nakládáním s vodou uchovávanou v nádobách, například v cisternách pro nouzové zásobování, a s balenou vodou. Není však použitelná pro audit (nebo kalibraci a údržbu) zařízení pro měření na místě odběru nebo pro komerční analytické soupravy. Norma byla vydána v září 2018.

ČSN EN ISO 7393-2 (75 7419) Kvalita vod – Stanovení volného a celkového chloru – Část 2: Kolorimetrická metoda s *N,N*-dialkyl-1,4-fenylendiaminem pro běžnou kontrolu

Tato norma specifikuje metodu stanovení volného a celkového chloru ve vodě, která je snadno použitelná pro analýzy v laboratoři i v terénu. Je založena na měření absorpce červeného komplexu *N,N*-dialkyl-1,4-fenylendiaminu (DPD) fotometrem nebo na měření intenzity barvy vizuálním porovnáním barvy se stupnicí standardů, která je pravidelně kalibrována.

Tato metoda je vhodná pro pitnou vodu a další druhy vod, ve kterých se další halogeny (brom a jod) a další oxidační činidla vyskytují v téměř zanedbatelných koncentracích. Metoda je v praxi použitelná pro koncentrace celkového chloru, vyjádřené jako chlor (Cl_2), například od 0,000 4 mmol/l do 0,07 mmol/l (tj. od 0,03 mg/l do 5 mg/l). Vyšší koncentrace lze stanovit po zředění vzorku.

Tato metoda se běžně používá v terénu, s mobilními fotometry a komerčně dostupnými připravenými činidly (ve formě kapalin, prášků a tablet). Činidla musí splňovat minimální požadavky a musí obsahovat základní činidla a tlumivý systém, který je vhodný pro úpravu hodnoty pH měřeného roztoku do rozsahu obvykle od 6,2 do 6,5. Pokud není jisté, že vzorky vody mají běžnou hodnotu pH a/nebo tlumivou kapacitu, musí uživatel zkontrolovat hodnotu pH vzorku a pokud je nezbytné, upravit ji do příslušného rozsahu. Běžná hodnota pH vzorku je v rozsahu od 4 do 8. Pokud je to nezbytné, upraví se před zkouškou roztokem hydroxidu sodného nebo kyseliny sírové.

Postup pro rozlišení chloru vázaného v monochloraminech, dichloraminech a trichloraminech je uveden v příloze A. V příloze C je uveden postup pro stanovení volného a celkového chloru v pitné vodě a dalších málo znečištěných vodách sužitím planárních kyvet na jedno použití naplněných činidly a mezofluidního systému/kolorimetru.

Norma byla vydána v srpnu 2018 a nahradila ČSN ISO 7393-2 z února 1995. V porovnání s předchozím vydáním normy byla přidána nová příloha C s názvem Planární kyvety na jedno použití naplněné činidly a mezofluidní systém/kolorimetr.

ČSN EN ISO 19340 (75 7427) Kvalita vod – Stanovení chloristanů – Metoda iontové chromatografie (IC)

Tato norma specifikuje metodu stanovení rozpuštěných chloristanů ve vodě (např. v pitné vodě, v surové vodě, v povrchové vodě nebo ve vodě v plaveckých bazénech a v odpadní vodě z úpraven vody). Po vhodné úpravě vzorku (např. odstranění matrice) je možné přímé stanovení chloristanů v koncentracích $\geq 1 \mu\text{g/l}$.

Pokud je potřeba, vzorek se upraví, aby se odstranily anionty, kovy, organické látky a nerozpuštěné látky. Stanovení chloristanů se provádí s odstraněním matrice nebo bez odstranění matrice a s předchozím zkoncentrováním nebo bez něj. Chloristany jsou děleny chromatografií iontů s detekcí vodivostním detektorem se supresorem.

Jako stacionární fáze se používá měnič aniontů. Jako mobilní fáze se používají vodné roztoky solí jednosytných nebo dvojsytných kyselin, např. uhličitanů, hydrogenuhličitanů, hydroxidů a organické modifikátory (propanon nebo acetonitril).

Koncentrace chloristanů se stanoví po kalibraci podle ČSN ISO 8466-1 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik – Část 1: Statistické hodnocení lineární kalibrační funkce nebo ČSN ISO 8466-2 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a odhad jejich charakteristik – Část 2: Kalibrační strategie v případě nelineárních kalibračních funkcí druhého stupně. Norma byla vydána v srpnu 2018.

ČSN EN ISO 15681-2 (75 7464) Kvalita vod – Stanovení orthofosforečnanů a celkového fosforu průtokovou analýzou (FIA a CFA) – Část 2: Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)

Tato norma specifikuje metody kontinuální průtokové analýzy ke stanovení orthofosforečnanů v rozsahu hmotnostních koncentrací od 0,01 mg/l do 1,0 mg/l P, a celkového fosforu v rozsahu hmotnostních koncentrací P od 0,1 mg/l do 10,0 mg/l. Metoda zahrnuje rozklad sloučenin organicky vázaného fosforu a hydrolyzu sloučenin anorganických polyfosforečnanů. Rozklad se provádí buď manuálně tak, jak je popsáno v ČSN EN ISO 6878 Jakost vod – Stanovení fosforu – Spektrofotometrická metoda s molybdenanem amonným, nebo integrovaným působením UV záření a hydrolytické jednotky.

Tuto normu je možno použít pro různé druhy vod, například pro podzemní, pitnou a povrchovou vodu, pro průsakové a odpadní vody. Rozsah použití je možné měnit změnou podmínek analýzy. Tuto metodu je možno použít pro analýzu s použitím kyvet délky 10 mm až 50 mm, v závislosti na požadovaném koncentračním rozsahu. V případě požadavku na velkou citlivost se mohou používat kapilární průtočné kyvety délky 250 mm a 500 mm.

Norma zahrnuje tyto postupy:

a) stanovení orthofosforečnanů

Vzorek se smíchá s roztokem povrchově aktivní látky a potom s kyselým roztokem, který obsahuje ionty molybdenanu a antimonu. Výsledný fosfoantimonomolybdatový komplex se redukuje kyselinou askorbovou na molybdenovou modř. Hodnota pH reakční směsi musí být mezi pH 0,6 a pH 0,9.

b) stanovení celkového fosforu po manuálním rozkladu

Sloučeniny fosforu ve vzorku se oxidují manuálně roztokem peroxodisíranu draselného podle ČSN EN ISO 6878 nebo ekvivalentním postupem. Vzniklý orthofosforečnan se stanoví jako molybdenová modř po barevné reakci popsané v odrážce a). Vzorky mohou být neutralizovány manuálně podle ČSN EN ISO 6878, nebo s přihlédnutím k dávce kyseliny použité v tomto postupu, kdy se vypočítá potřeba kyseliny pro molybdenanové činidlo.

c) stanovení celkového fosforu po integrovaném UV rozkladu a hydrolyze

Vzorek se smíchá s peroxodisíranem draselným a potom prochází jednotkou pro rozklad UV zářením, kde dochází k rozkladu kyselinou a hydrolyze polyfosforečnanů. Vzniklý orthofosforečnan se stanovuje barevnou reakcí popsanou v 5.1. Hodnota pH reakční směsi musí být mezi pH 0,6 a pH 0,9. Hodnota pH reakční směsi je kritická, aby se zamezilo rušivým vlivům křemičitanů.

V příloze A jsou uvedeny příklady soustavy CFA. V příloze B jsou obsaženy statistické údaje z mezilaboratorních zkoušek. Příloha C poskytuje informace o stanovení orthofosforečnanového P a celkového P metodou CFA po redukci chloridem cínatým.

Norma byla vydána v červenci 2019 a nahradila ČSN EN ISO 15681-2 ze září 2005. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- a) činidla byla upravena tak, aby snižovala hodnotu pH, čímž je zvýrazněna barevná reakce;
- b) byly revidovány obrázky soustav CFA v příloze A.

ČSN ISO 21676 (75 7599) Kvalita vod – Stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků, jejich metabolitů a dalších organických látek ve vodách a v čištěných odpadních vodách – Metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (HPLC-MS/MS nebo -HRMS) po přímém nástřiku

Tato norma specifikuje metodu stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků a jejich metabolitů i dalších organických látek v pitné, podzemní a povrchové vodě a v čištěných odpadních vodách. Tato norma se používá například pro stanovení naproxenu, ibuprofenu, diclofenacu, karbamazepinu, clarithromycinu a sulfamethoxazolu.

Dolní mez stanovitelnosti této metody se může měnit v závislosti na citlivosti používaného vybavení a na matici vzorku. U většiny látek, pro které se používá tato norma, je rozsah $\geq 0,025 \mu\text{g/l}$ pro pitnou, podzemní a povrchovou vodu a $\geq 0,050 \mu\text{g/l}$ pro čištěné odpadní vody.

Tuto metodu je možno používat také pro analýzu dalších organických látek, pokud byla pro každý případ zkoušena a ověřena přesnost a pokud byly validovány podmínky uchovávání vzorků a referenčních roztoků.

Vzorek vody se nástřikuje přímo do analytického systému. Identifikace a kvantitativní stanovení se provádí s použitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (HPLC-MS/MS, HPLC-HRMS). Norma byla vydána v červenci 2019.

ČSN EN ISO 13843 (75 7015) Kvalita vod – Požadavky na určení výkonnostních charakteristik kvantitativních mikrobiologických metod

Tato norma pojednává o charakterizaci mikrobiologických metod. Charakterizace znamená studium parametrů, které je možné změřit, aby bylo popsáno, jak metoda pravděpodobně bude fungovat v daných podmínkách. Tato norma popisuje postupy pro stanovení výkonnostních charakteristik, které se mohou používat pro následnou validaci nebo verifikaci metod.

Důraz je na selektivních kvantitativních metodách a tato norma se používá pro všechny druhy vod. U metod, které nejsou založeny na přímém mikroskopickém stanovení, na počítání kolonií nebo na stanovení nejpravděpodobnějšího počtu, se má pečlivě uvážit použitelnost postupů popsaných v této normě. Norma byla vydána v červnu 2018 a nahradila ČSN P ENV ISO 13843 ze srpna 2002.

ČSN EN ISO 8199 (75 7810) Kvalita vod – Obecné požadavky a návod pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami

Tato norma specifikuje požadavky a popisuje návody na pracovní postupy společné pro všechny metody mikrobiologických vyšetření vody, zejména pro přípravu vzorků, kultivačních médií, přístrojů a laboratorního skla, pokud v příslušné normě není uvedeno jinak. Je zde také popsána řada různých způsobů pro detekci a stanovení počtu mikroorganismů a kritéria pro volbu vhodného postupu.

Tato norma je určena hlavně pro bakterie, kvasinky a plísňe, ale některé aspekty jsou použitelné také pro bakteriofágy, viry a parazity. Nezahrnuje postupy, které nejsou založeny na kultivaci mikroorganismů, například metody polymerázové řetězové reakce.

Obecný princip těchto pracovních postupů spočívá v očkování známého zkušebního podílu vzorku vody, nebo výsledného zkoušeného vzorku po filtraci membránovým filtrem nebo odstředění, na pevné či tekuté kultivační médium nebo do tohoto média. Předpokládá se, že během inkubace každého cílového mikroorganismu dojde k jeho pomnožení a tak se buď vytvoří kolonie přímo viditelné na pevném kultivačním médiu, nebo dojde k pozorovatelným změnám tekutého kultivačního média. Volba konkrétní kultivační metody závisí nejenom na vlastnostech a počtu hledaných mikroorganismů, ale také na vlastnostech vody a na důvodech analýzy.

Norma byla vydána v červnu 2019 a nahradila ČSN EN ISO 8199 z června 2008. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- Byly doplněny kapitoly obsahující termíny a definice, metody detekce (kvalitativní metody), výkonnostní charakteristiky a řízení analytické kvality (AQC);
- Články týkající se přípravy kultivačních médií a zředěvacích roztoků a QC byly aktualizovány v souladu s ČSN EN ISO 11133 Mikrobiologie potravin, krmiv a vody – Příprava, výroba, uchovávání a zkoušení výkonnosti kultivačních půd a byly přesunuty do nové přílohy D.
- Článek týkající se obecného návodu pro výpočet výsledků pro metody na pevných kultivačních médiích byl aktualizován v souladu se změnami v ČSN EN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení. Byly však provedeny úpravy, které zohledňují postupy v mikrobiologii vody (např. membránovou filtraci) a dovolují jiná ředění než desetinásobné ředění.
- Byla doplněna příloha B, která poskytuje návod pro konfidenční intervaly při počítání ve speciálních případech, vztahující se k aktualizaci článku o obecném návodu pro výpočet výsledků pro metody na pevných kultivačních médiích;
- Byla doplněna příloha C, která popisuje výpočty pro dvě Petriho misky na ředění, vztahující se k aktualizaci článku o obecném návodu pro výpočet výsledků pro metody na pevných kultivačních médiích;
- Byl rozšířen článek týkající se stanovení počtu mikroorganismů s použitím tekutých kultivačních médií a zahrnuje další pokyny pro použití počítačových programů pro MPN. Dřívější příloha B obsahující tabulky MPN byla vypuštěna.

Členové technické komise TNK 104 *Kvalita vod*, subkomise *Radiologické metody* připravili národní normu **ČSN 75 7624 Kvalita vod – Stanovení radonu 222**. Tato norma uvádí tři metody stanovení objemové aktivity radonu 222 (^{222}Rn) ve vodách:

a) emanometrické stanovení ve vzorcích vody převedením ^{222}Rn do scintilační komory v cirkulačním obvodu; metoda je použitelná v rozsahu od $0,02 \text{ Bq} \cdot \text{l}^{-1}$;

Vzorek vody se převede ze vzorkovnice do emanační nádoby (popřípadě je možno vzorek přímo odebírat do emanační nádoby). Potom se ^{222}Rn ze vzorku vody v cirkulačním obvodu převede z emanační nádoby do scintilačního detektoru. Po dosažení radioaktivní rovnováhy ^{222}Rn s jeho krátkodobými produkty přeměny se měří odezva impulzů.

b) emanometrické stanovení ve vzorcích vody převedením ^{222}Rn do scintilační komory s použitím podtlaku; metoda je použitelná v rozsahu od $0,5 \text{ Bq} \cdot \text{l}^{-1}$;

Vzorek vody se převede nejprve pomocí podtlaku ze vzorkovnice do emanační nádoby. Potom se ^{222}Rn z emanační nádoby převede do scintilačního detektoru záření alfa na principu Lucasovy komory. Po dosažení radioaktivní rovnováhy ^{222}Rn s jeho krátkodobými produkty přeměny se změřá odezva impulzů.

c) stanovení ^{222}Rn ve vzorcích vody měřením záření gama; metoda je použitelná v rozsahu od $1 \text{ Bq} \cdot \text{l}^{-1}$;

Objemová aktivita ^{222}Rn ve vzorku vody se stanoví měřením záření gama z přeměny radionuklidů ^{214}Pb a ^{214}Bi , které jsou ve vzorku v radioaktivní rovnováze s ^{222}Rn .

Norma byla vydána v únoru 2019 a nahradila ČSN 75 7624 z května 2001. V porovnání s předchozím vydáním normy byly provedeny tyto významné změny:

- úprava odběru vzorků;
- vypuštění přílohy A Hodnoty korekčních faktorů;
- aktualizace výsledků zkoušek způsobilosti.

Připravované normy

Do konce roku 2019 budou zpracovány dále uvedené normy:

ČSN EN ISO 7027-2 (75 7343) Kvalita vod – Stanovení zákalu – Část 2: Semikvantitativní metody pro hodnocení průhlednosti vod

ČSN EN 17136 (75 7704) Návod pro terénní a laboratorní postupy pro kvantitativní analýzu a identifikaci makrozoobentosu z vnitrozemských povrchových vod

revize ČSN EN ISO 10634 (75 7776) Kvalita vod – Pokyny pro přípravu a zpracování ve vodě těžko rozpustných organických látek pro následující hodnocení jejich biologické rozložitelnosti ve vodním prostředí

revize ČSN EN ISO 9698 (75 7635) Kvalita vod - Tritium - Kapalinová scintilační měřicí metoda

ČSN 75 7340 Kvalita vod – Metody orientační senzorické analýzy

revize ČSN 75 7612 Kvalita vod – Stanovení celkové objemové aktivity beta

Dostupnost norem

Normy ČSN jsou přístupné především v elektronické formě. Podrobnosti naleznete na internetu na stránkách Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (ÚNMZ) (www.unmz.cz, ikona „ČSN online“). Na stránkách ÚNMZ je dostupný také Věstník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Ve věstníku jsou zveřejňovány informace o vydaných i připravovaných normách. Od 1.1.2018 převzala Česká agentura pro standardizaci (ČAS) od ÚNMZ všechny činnosti související s tvorbou, vydáváním a distribucí technických norem.

Informace o normách vodního hospodářství můžete získat ve Sweco Hydroprojekt a.s. na adrese: www.sweco.cz, ve složce **Služby**, pod nadpisem **Tvorba norem pro vodní hospodářství a ekologii**. Sweco Hydroprojekt a.s. vydává v lednu a v červenci každého roku aktualizovaný seznam technických norem vodního a odpadového hospodářství.

POROVNÁNÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE S BĚŽNĚ POUŽÍVANÝMI METODAMI PRO KONTROLU MIKROBIOLOGICKÉ A BIOLOGICKÉ KVALITY PITNÉ VODY

Jana Zuzáková, Jana Kabátová, Lenka Vavrušková, Zuzana Nováková

Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971/1, Hostivař, 102 00 Praha 10

ABSTRAKT

Kultivační metody využívané dle vyhlášky č. 252/2004 Sb., v platném znění pro laboratorní kontrolu mikrobiologické kvality pitné vody jsou časově náročné a v současnosti nesplňují vysoké požadavky na rychlost zjištění výsledků. Pražské vodovody a kanalizace, a.s. (PVK) v této souvislosti otestovali přístroj založený na principu průtokové cytometrie, která by mohla být vhodným doplňkem ke klasickým metodám. Příspěvek se zaměřuje na vyhodnocení reálných vzorků vod pomocí přístroje BactoSense a jejich porovnání s výsledky vybraných mikrobiologických a biologických ukazatelů.

ÚVOD

S rozvojem a pokrokem analytických metod v posledních letech se stále rozšiřuje seznam sledovaných látek v pitné vodě a vzrůstají požadavky na její kvalitu. Kromě klasického modelu kontroly kvality pitné vody, který zahrnuje manuální odběr vzorků, jejich transport do laboratoře a následnou analýzu je trendem zavádět a používat kontinuální systém sledování s on-line přenosem za účelem získání průběžných informací o kvalitě pitné vody a jejich případných změnách. Tyto systémy jsou prozatím v praxi schopny detekovat pouze fyzikálně-chemické ukazatele, jako jsou například teplota, pH, konduktivita, zákal, volný chlor, A254, TOC, CHSK atd. Jedná se o základní ukazatele kvality vody, které jsou ve většině případů zjišťovány na principu spektrofotometrie. Pokud jde o mikrobiologické a biologické ukazatele, ty jsou stále sledovány laboratorně, a to s využitím kultivačních metod a mikroskopického vyšetření vzorku.

Kultivační metody využívané dle vyhlášky č. 252/2004 Sb., v platném znění pro laboratorní kontrolu mikrobiologické kvality pitné vody jsou založeny na stanovení celkového počtu mikroorganismů a na detekci indikátorových organismů fekálního znečištění, pomocí nichž můžeme usuzovat na přítomnost patogenních organismů v pitné vodě. Jejich zásadní nevýhodou je časová náročnost, kdy požadované informace jsme s jejich využitím schopni získat v rozsahu 24 - 72 hodin. Po havárii v pražských Dejvicích roku 2015 začaly Pražské vodovody a kanalizace, a.s. hledat alternativní metody, které by byly schopné detekovat mikrobiální kontaminaci pitné vody v kratším časovém horizontu a poskytovat informaci o její příčině, která je nezbytná pro zahájení nápravného opatření. Výsledky spolupráce s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze byly představeny již na konferenci Pitná voda roku 2016 [1]. Na základě nejnovějších poznatků došlo k upravení dříve zjištěných hodnot. Mezi otestovanými metodami bylo stanovení amonných iontů, které se osvědčilo pouze v případě masivní fekální kontaminace, kdy je v analyzované vodě přítomno 100 000 KTJ/100 ml *E. coli* nebo koliformních bakterií a více (nelze použít v systému s hygienickým zabezpečením vody chloraminací). Do rutinního používání v PVK byla vzhledem k rychlosti získání výsledku zavedena modifikovaná metoda měření celkového ATP pomocí testu SuperSnap, která přestože není specifická, poskytuje prokazatelný rozdíl hodnoty ATP mezi hygienicky nezávadnou vodou a vodou s fekální kontaminací o úrovni 10 000 KTJ/100 ml *E. coli* nebo koliformních bakterií a více. Vyšší hodnoty ATP u vzorků pitné vody z distribuční sítě mohou být signálem nedostatečně provedeného proplachu, nebo přítomnosti živých organismů. O řád resp. v případě *E. coli* o dva řády nižší úroveň fekální kontaminace je schopna odhalit metoda BactControl. Těmito metodami sice nelze deklarovat nezávadnost pitné vody dle požadavků vyhlášky č. 252/2004 Sb., v platném znění, ale mohou sloužit jako rychlé varování pro zahájení nápravného opatření v případě zjištění atypického výsledku pro sledovanou matici. Zjistit i mírné překročení hygienického limitu, tj. v rozsahu jednotek, či potvrdit hygienickou nezávadnost pitné vody byla z otestovaných alternativních metod v krátkém čase schopna pouze polymerázová řetězová reakce (PCR), která prozatím není standardizována a je náročná jak finančně, tak i na obsluhu.

V roce 2018 a na jaře 2019 PVK otestovaly možnost využití průtokové cytometrie, resp. průtokový cytometr BactoSense poskytující informace o celkovém počtu (TCC/ml) a velikosti buněk v řádu minut, jehož výrobcem je švýcarská firma SIGRIST Photometer a dodavatelem na český trh společnost TECHNOPROCUR CZ, spol. s r.o. Výhodou metody je její rychlost (celková doba stanovení je 30 minut) a možnost jejího využití v automatickém on-line režimu, čímž odpadá časová prodleva vznikající při transportu odebraných vzorků do laboratoře. V rámci testování metody bylo z počátku zjištěno, jaké výsledky přístroj poskytuje u vzorků čistých a sterilních vod. Dále byly analyzovány vzorky z různých míst systému zásobování vodou, od surové vody přes jednotlivé technologické kroky úpravy vody, přítoky a odtoky vodojemů až po vzorky z distribuční sítě. Současně byl vyzkoušen automatický on-line režim přístroje v profilu s podzemní vodou bez hygienického zabezpečení. Hlavním důvodem zapůjčení bylo zjistit schopnost přístroje reagovat na nízkou úroveň fekální

kontaminace pitné vody, resp. ověřit zda průtoková cytometrie dokáže spolehlivě poskytnout prvotní informaci o případné kontaminaci pitné vody. Pro porovnání byly u většiny vzorků v laboratoři zjišťovány také mikrobiologické a biologické ukazatele.

Princip průtokové cytometrie

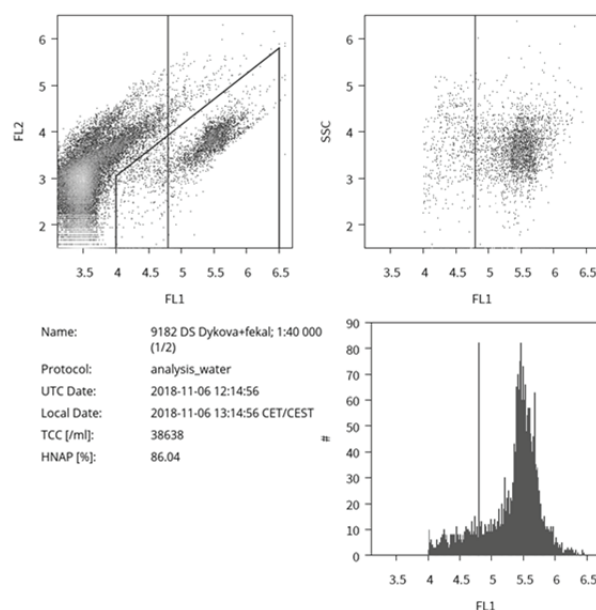
Průtoková cytometrie je rychle se rozvíjející metoda poskytující informace o množství buněk v analyzované kapalině a jejich fyziologickém stavu. Před samotnou analýzou je označena buněčná struktura, která má být průtokovou cytometrií detekována. K tomu se využívají fluorochromy, nejlépe s absorpčním maximem blízcím se excitační vlnové délce daného laseru. Jednotlivé buňky jsou proudem kapaliny vedeny přes laserový paprsek, který vyvolá excitaci fluorochromů a následnou emisi záření o vyšší vlnové délce - fluorescence. Ta je následně detekována pomocí detektorů pro přímý a boční rozptyl a díky počítačovému softwaru převedena na cytometrické diagramy. Intenzita přímého rozptylu je přímo úměrná velikosti buňky, zatímco intenzita bočního rozptylu vypovídá o vnitřní struktuře buňky [2].

METODIKA

Použité metody testování

Průtokový cytometr BactoSense – charakteristika přístroje

Přístroj BactoSense pracuje na principu průtokové cytometrie. K barvení nukleové kyseliny buněk využívá fluorescenční barvivo SYBR Green. Zdrojem světla je laserový paprsek o vlnové délce 488 nm. Následná fluorescence je detekována dvěma detektory při vlnových délkách 525 nm a 715 nm. Boční rozptyl je detekován při vlnové délce 488 nm. Obsluha přístroje je jednoduchá a bezpečná i díky uzavřené recyklovatelné kartridži obsahující potřebné chemikálie a odpad. Udáváná mez detekce je od 100 do 5 milionů buněk/ml. Přístroj poskytuje informace o celkovém počtu buněk (TCC/ml) a o jejich velikosti, resp. o množství velkých buněk (HNAC/ml), malých buněk (LNAC/ml) a současně o podílu velkých buněk na celkovém počtu buněk (HNAP; %). Výsledkem analýzy je „otisk prstu“ měřené vody, viz obrázek 1. Analýzy mohou probíhat buď v manuálním nebo automatickém on-line režimu a výsledky je možné získat po 20 minutách [3].



Obr. 1: „Otisk prstu“ s grafickým rozdělením buněk (vzorek s fekálním znečištěním byl připraven laboratorně)

Kultivační metody a mikroskopické vyšetření

Pro porovnání a doplnění výsledků získaných průtokovou cytometrií byly u vzorků zjišťovány vybrané základní mikrobiologické ukazatele (*Escherichia coli*, koliformní bakterie, počty kolonií při 22 °C a 36 °C) a biologické ukazatele (počty organismů, živé organismy, mrtvé organismy). Stanovovány byly pomocí metod požadovaných vyhláškou č. 252/2004 Sb., v platném znění.

Testované vzorky a jejich příprava

Pro testování v manuálním režimu přístroje je přehled typu testovaných vzorků s jejich případnou úpravou uveden níže. Veškeré připravené vzorky byly před samotnou analýzou v manuálním režimu převedeny do skleněných vialek. Pro tento účel byl využit sterilní laminární box. Pro testování v automatickém on-line režimu

byl přístroj zasazen do systému v profilu s podzemní vodou bez hygienického zabezpečení. Plánovaná doba testování byla v řádu týdnů.

Čisté a sterilní vody

Byly analyzovány různé typy čistých vod (kohoutková, balená, demineralizovaná, sterilní voda z lékárny), a to buď nesterilizované nebo sterilizované pomocí UV záření či autoklávu.

Technologické vzorky

Pro testování byly využity vzorky odebírané v rámci programu kontroly nebo vzorky po výluce či havárii distribuční sítě. Před samotnou analýzou nebyly žádným způsobem upravovány.

Vzorky s fekální kontaminací

Veškeré testované vzorky s fekální kontaminací byly připravovány laboratorně. Jako matrice byla využita pitná voda z distribuční sítě laboratorního pracoviště, ke které byla přidávána v různém poměru reálná odpadní voda (OV) odebraná z přítoku pražské ústřední čistírny odpadních vod.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V této kapitole jsou porovnávány výsledky různých druhů vod, které byly získány přístrojem BactoSense a běžně používanými laboratorními metodami pro mikrobiologické a mikroskopické vyšetření vzorků. Níže uvedené tabulky obsahují zkratky stanovovaných ukazatelů, jejich význam je následující: TCC - celkový počet buněk, HNAC - počet velkých buněk, LNAC - počet malých buněk, HNAP - podíl velkých buněk na celkovém počtu buněk, KB - koliformní bakterie, *E. coli* – *Escherichia coli*, PK 36 °C a 22 °C - počty kolonií při 36 °C a 22 °C. Stanovené biologické ukazatele nejsou v tabulkách uváděny, jelikož všechny zjištěné hodnoty byly u níže prezentovaných vzorků nulové.

Čisté a sterilní vzorky

Na základě získaných výsledků z testování čistých a sterilních vod lze říci, že přístroj je málo robustní vůči znečištění a v případě měření vzorků o vysoké čistotě, resp. s nižším výskytem mikroorganismů je nezbytné navíc zařazovat čistící kroky. V běžném provozu byly při paralelních stanoveních naměřeny vysoké rozdíly výsledků, i přesto, že se během paralelních analýz se vzorky žádným způsobem nemanipulovalo, viz uvedené vybrané výsledky v tabulce 1.

Tab. 1: Počet buněk ve sterilní kohoutkové vodě - porovnání paralelního stanovení

Vzorek	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP [%]
kohoutková voda sterilní	5 638	4 693	945	83,2
kohoutková voda sterilní	40 042	35 094	4 948	87,6

Technologické vzorky

Pro testování byly vybrány dva zdroje surové vody, jednalo se o povrchovou vodu z vodárenské nádrže a tekoucí povrchovou vodu. Počty buněk v tekoucí povrchové vodě byly podstatně vyšší než v případě vodárenské nádrže.

Tab. 2: Zdroje surové vody - počty buněk doplněné o stanovené mikrobiologické ukazatele

profil	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP	KB	<i>E. coli</i>	PK 36 °C	PK 22 °C
	[-]	[-]	[-]	[%]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/ml]	[KTJ/ml]
surová voda (vodárenská nádrž)	1 788 610	1 410 877	377 733	78,9	190	1	13	150
surová voda (tekoucí povrchová voda)	3 251 800	2 535 420	716 380	78,0	-	-	-	-

V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky upravené vody, která byla hygienicky zabezpečena ozonizací a chlorací (upravená voda A). V rámci monitorování k systému patřícího vodojemu byly odebírány a analyzovány vzorky na přítocích a odtocích. Na obou přítocích do vodojemu byly zjištěny o řád vyšší hodnoty TCC/ml než v upravené vodě, přičemž u přítoků stanovené mikrobiologické ukazatele byly nulové, až na zvýšený počet kolonií při 22 °C. Na odtocích byly již všechny sledované mikrobiologické ukazatele nulové a splňovaly tak limity dle vyhlášky č. 252/2004 Sb. v platném znění.

Tab. 3: Vybrané vzorky ze systému zásobování vodou - počty buněk doplněné o stanovené mikrobiologické ukazatele

profil	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP	KB	<i>E. coli</i>	PK 36 °C	PK 22 °C
	[-]	[-]	[-]	[%]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/ ml]	[KTJ/ ml]
upravená voda A	9 909	7 107	2 802	71,7	0	0	0	0
přítok do VDJ 1	163 196	143 654	19 541	88,0	0	0	0	400
přítok do VDJ 2	123 378	103 436	19 942	83,8	-	-	-	440

V tabulce 4 jsou uvedeny výsledky upravené vody, která byla hygienicky zabezpečena pouze chlorací (upravená voda B). Velký rozdíl mezi TCC/ml u sledovaných předávacích míst byl pravděpodobně způsoben dobou kontaktu s chlorem. U předávacího místa, které se nachází v blízkosti úpravní a doba kontaktu s chlorem je kratší, byl zjištěn vyšší počet buněk než v případě předávacího místa vzdálenějšího od úpravní, kde je doba kontaktu s chlorem podstatně delší.

Tab. 4: Vybrané vzorky ze systému zásobování vodou - počty buněk doplněné o stanovené mikrobiologické ukazatele

profil	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP	KB	<i>E. coli</i>	PK 36 °C	PK 22 °C
	[-]	[-]	[-]	[%]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/ ml]	[KTJ/ ml]
upravená voda B	181 637	67 311	114 325	37,0	-	-	-	-
předávací místo (blíže ÚV)	164 566	73 055	91 511	44,4	0	0	0	0
předávací místo (dále od ÚV)	22 400	17 697	4 702	79,0	0	0	0	0

Detekce fekální kontaminace pitné vody

Pro detekci fekálně kontaminované vody byly využity uměle připravené vzorky. Jako matrice byla použita voda z pražské distribuční sítě, kterou byla odpadní voda ředěna v různém poměru (1:400, 1:4 000, 1:10 000, 1:40 000). Z výsledků v tabulce 5 je patrné, že uměle připravené vzorky s fekálním znečištěním obsahovaly v porovnání s výše uvedenými vzorky poměrně nízké hodnoty počtu buněk (TCC/ml), přičemž s klesající koncentrací vzorků se tento počet buněk snižoval. V samotné matrici, tj. vodě z distribuční sítě bylo cca 22 600 buněk v 1 ml. Přestože se hodnoty TCC/ml u testovaných vzorků pohybovaly na nízké úrovni, klasicky používané kultivační metody v mikrobiologickém vyšetření prokázaly jejich výraznou kontaminaci v ukazatelích *E. coli* a koliformní bakterie. Pro srovnání jsou v tabulce 6 uvedeny výsledky analýz reálných vzorků z distribuční sítě, a to po výluce a po havárii. Jedná se o vzorky po zprovoznění opravené části řadu, a to ať již po plánované opravě (výluce) nebo po havárii. V jednom z uvedených případů byl celkový počet buněk srovnatelný s hodnotami uměle připravených vzorků fekálně kontaminované vody, nicméně hygienicky významné mikrobiologické ukazatele stanovené kultivačními metodami (*E. coli*, koliformní bakterie) byly nulové a vyhovovaly tak požadavkům vyhlášky č. 252/2004 Sb. v platném znění. U řady testovaných vzorků pitných vod byly hodnoty TCC/ml dokonce mnohonásobně vyšší než u testovaných fekálně znečištěných vod, jako například v případě vzorku z distribuční sítě po havárii (viz tabulka 6) nebo u vzorků na přítoku do vodojemu (viz tabulka 3), přesto byly hygienicky v pořádku a splňovaly limity dané výše zmíněnou vyhláškou pro pitnou vodu. Z výsledků je patrné, že každé místo v systému má své přirozené pozadí v podobě počtu buněk, a ty se mezi sebou mohou i výrazně lišit, přestože kvalita vody v daném místě vyhovuje limitům stanoveným vyhláškou č. 252/2004 Sb., v platném znění.

Tab. 5: Počty buněk a stanovené mikrobiologické ukazatele u vzorků s fekálním znečištěním

vzorek	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP	KB	<i>E. coli</i>
	[-]	[-]	[-]	[%]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/100 ml]
matrice	22 588	20 177	2 411	89,3	-	-
matrice + OV I; 1:40 000	38 638	33 244	5 394	86,0	1600	370
matrice + OV I; 1:4 000	71 338	58 336	13 001	81,8	17000	2000
matrice + OV II; 1:10 000	57 290	48 203	9 086	84,1	3400	860

Tab. 6: Počty buněk a stanovené mikrobiologické ukazatele u vzorků z distribuční sítě

vzorek	TCC/ml	HNAC/ml	LNAC/ml	HNAP	KB	<i>E. coli</i>	PK 36 °C	PK 22 °C
	[-]	[-]	[-]	[%]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/100 ml]	[KTJ/ ml]	[KTJ/ ml]
DS po výluce	38 238	30 408	7 830	79,52	0	0	2	2
DS po havárii	220 531	185 585	34 946	84,15	0	0	0	4

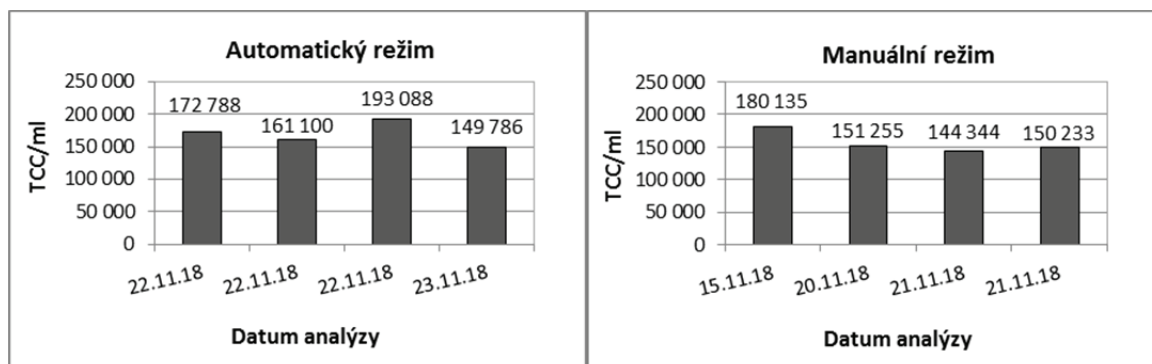
Automatický režim přístroje

V případě automatického režimu byly v prvním kole testování (listopad 2018) přístrojem provedeny pouze 4 analýzy, důvodem byla příliš nízká okolní teplota bránící provozu přístroje. Doporučená teplota okolního prostředí pro provoz přístroje je 5 °C až 30 °C. Druhé kolo testování (na přelomu března a dubna 2019) již proběhlo bez provozních problémů.

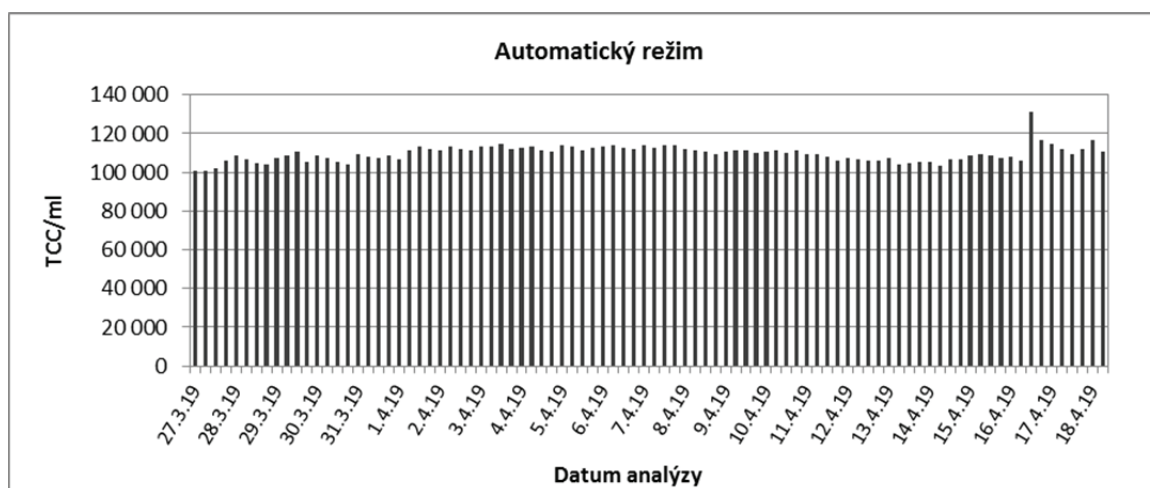
Z prvotních výsledků získaných v listopadu 2018, je patrné, že celkové počty buněk TCC/ml se u všech vzorků pohybovaly na podobné úrovni, a to od cca 150 000 do cca 190 000 buněk/ml. Tomuto rozmezí výsledků z automatického režimu odpovídaly také výsledky získané pomocí manuálního režimu, kdy byl v tom samém období sledován stejný profil, viz obrázek 2. Nálezy koliformních bakterií se v obou režimech pohybovaly v rozmezí od 0 do 2 KTJ/100 ml.

Výsledky získané ve druhém kole testování automatického režimu vykazují stejný „otisk prstu“ vody jako v předchozím případě, viz obrázek 3. Došlo pouze k posunu rozmezí celkového počtu buněk (TCC/ml), což lze očekávat se změnou období a kvality surové vody. Až na jeden zaznamenaný výkyv (dne 17. 4. 2019), kdy byla naměřena hodnota 131 155 buněk/ml, byly celkové počty buněk velmi stabilní a pohybovaly se v rozsahu cca 100 000 až 117 000 buněk/ml. Dne 17. 4. byly zjištěny i vyšší hodnoty mikrobiologických ukazatelů.

Lze tedy předpokládat, že průběžným sledováním počtů buněk vyskytujících se v pitné vodě, ať již manuálním nebo automatickým režimem, bychom byli schopni odlišit aktuální výkyv od jejich „přirozeného pozadí“ a tím rozpoznat případnou změnu v mikrobiologické kvalitě pitné vody.



Obr. 2: Grafické znázornění hodnot TCC/ml získaných pomocí automatického režimu a manuálního režimu přístroje ve sledovaném profilu – první kolo testování (listopad 2018)



Obr. 3: Grafické znázornění hodnot TCC/ml získaných pomocí automatického režimu přístroje ve sledovaném profilu – druhé kolo testování (březen/duben 2019)

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že průtoková cytometrie není vhodnou metodou pro jednorázové zjištění přítomnosti nízké úrovně mikrobiálního znečištění resp. detekce nízké koncentrační úrovně fekální kontaminace v pitné vodě. Vzhledem k širší intervalu naměřených výsledků u pitné vody (v rozsahu několika řádů) je obtížné výsledky bodových vzorků interpretovat. Zjištěné výsledky nasvědčují tomu, že každé místo v systému zásobování vodou má své přirozené pozadí počtu buněk, které je v případě, že chceme zaznamenat změnu mikrobiální kvality pitné vody potřeba průběžně sledovat. Proto se přístroj ukázal jako přínosný spíše pro dlouhodobé monitorování mikrobiální kvality pitné vody, a to jak pro zjišťování účinnosti jednotlivých technologických stupňů úpravy, tak pro on-line monitorování změny kvality vody. V obou zmíněných případech lze využít jak automatický, tak manuální režim přístroje.

V září 2019 bude v PVK zahájeno další testování přístroje v režimu měření s rozlišováním živých a mrtvých buněk (LDC). První výsledky budou představeny v rámci prezentace příspěvku.

LITERATURA

- 1 Vavrušková L., Kolář K., Kabátová J., Vejmelková D., Říhová Ambrožová J. 2016: Možnosti řešení alternativních metod při řešení výjimečných stavů mikrobiální kontaminace. Sbor. konf. Pitná voda 2016, Tábor 23. 5. -26. 5. 2016, 241-246, ISBN:978-80-905238-2-1
- 2 Macey, M. G. 2007: Flow Cytometry: Principles and Applications; Macey, M. G. Ed.; Humana Press Incorporated, ISBN: 978-1-58829-691-7
- 3 Technoprocur cz [online]. [cit. 2019-06-21]. Dostupné z: <http://www.technoprocur.cz/sortiment/upravny-pitne-vody/bactosense-analyzator-mikrobialni-kontaminace/>

STANOVENÍ A VÝSKYT ESTROGENNÍCH HORMONŮ A DALŠÍCH LÁTEK S ESTROGENNÍM ÚČINKEM VE VODÁCH POMOCÍ LC-MS/MS A GC/MS

Martin Ferenčík, Jana Schováňková, Stanislava Stojanová

*Povodí Labe, státní podnik, Víta Nejedlého 951, 500 03 Hradec Králové
e-mail: ferencikm@pla.cz*

ÚVOD

Hormony jsou látky produkované ve žlázách s vnitřní sekrecí a jsou vylučovány přímo do krve. Hormony ovládají většinu fyziologických funkcí v organismu (regulace krevního oběhu, hospodaření se solemi a vodou, řízení tělesné teploty, metabolismu, příjmu potravy, chování, reprodukce, růstu a vývoje). Děje jimi ovlivňované jsou pomalejší než děje řízené nervovou soustavou, ale působí dlouhodoběji a v širší oblasti. Hormony mohou být peptidické povahy (neprocházejí buněčnou membránou – nutný membránový receptor), nebo odvozené od aminokyseliny tyrozinu, nebo odvozené od cholesterolu – steroidní hormony (procházejí buněčnou membránou a působí na intracelulární receptory). Steroidní hormony se tvoří hlavně v pohlavních orgánech a dále v kůře nadledvin spolu s mineralokortikoidy a glukokortikoidy. Ženské pohlavní hormony: estrogeny (17- β -estradiol, estron, estriol) se tvoří v ováriích, placentě, kůře nadledvin, Leydigových buňkách varlat a v tukové tkáni; gestageny (progesteron, pregnolon, pregnandiol) se tvoří v žlutém tělisku a placentě. Mužské pohlavní hormony – androgeny (testosteron je prekurzorem účinnějšího androgenu dihydrotestosteronu DHT) a tvoří se hlavně ve varlatech (95 % v Leydigových buňkách) a 5 % v kůře nadledvin [1, 2].

Estrogeny (přírodní hormon 17- β -estradiol a jeho metabolity estron a estriol, syntetický estrogen 17- α -ethinylestradiol - antikoncepce). Estradiol vzniká převážně z testosteronu procesem steroidogeneze ve žlutém tělisku ve vaječniku a je převažujícím estrogenem u žen od první menstruace po menopauzu. Poté převažuje estron. Hlavní hormonální účinky jsou stimulace první části ovariálního cyklu (např. hyperplazie endometria), vývoj sekundárních pohlavních znaků (např. rozvoj mléčné žlázy, zástava tělesného růstu v pubertě). Mezi metabolické účinky patří retence vody a sodíku, zlepšení resorpce vápníku, zvýšení srážlivosti krve, snížení LDL (Low Density Lipoprotein, „špatný“ cholesterol) a zvýšení HDL (High Density Lipoprotein – „dobrý“ cholesterol) a VLDL (Very Low Density Lipoprotein).

Endokrinní disruptory (EDC) jsou chemické látky exogenního původu, které narušují činnost hormonálního systému a v důsledku toho negativně ovlivňují zdraví lidí a zvířat [3]. EDC zasahují do syntézy, sekrece, transportu, vazby nebo eliminace přírodních hormonů podílejících se na udržení homeostázy, reprodukce, vývoje chování organismu. EDC dělíme na přírodní látky (estrogenní hormony - produkované všemi savci), fytoestrogeny (isoflavonoidy – genistein, daidzein), mykoestrogeny (zearalenon), mikrocystiny produkované sinicemi; a na syntetické EDC (chemické sloučeniny různorodé chemické povahy a účelu použití, např. syntetické estrogeny, polychlorované bifenyly a dioxiny (PCB a PCDD), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), některé změkčovadla (ftaláty, bisfenoly), tenzidy (alkylfenoly), retardátory hoření (PBDE), UV filtry (ethylhexyl- 4-methoxycinnamát), pesticidy (DDT a jeho metabolity DDD a DDE; chlordan, chlordekon, HCH, atrazin, alachlor, amitrol, linuron, organofosfátové insekticidy...). Důsledkem působení EDC mohou být: změny v reprodukčním a sexuální vývoji, negativní dopad na mentální a psychomotorický vývoj exponovaných osob, nádorová onemocnění. Obecně bývají ohroženější jedinci v raném stádiu vývoje (plod, kojenci a dospívající).

Studiem účinků EDC a jejich prokazováním se zabývá velký počet vládních a nevládních organizací, úřadů a univerzit. Například Americká agentura životního prostředí (US EPA) publikovala 1. 6. 2015 databázi více než 1800 chemikálií testovaných pomocí ToxCastTM “ER Model” for bioactivity (estrogenní receptorový model na bioaktivitu) [4]. Některé vybrané látky jsou uvedeny v tabulce č. 1. Aktivity jsou vztaženy k syntetickému estrogenu 17- α -ethinylestradiolu a jsou rozděleny na odezvu agonistickou a antagonistickou. Mezi látky s vysokou aktivitou patří syntetické estrogeny, bisfenoly, parabeny, alkylfenoly, DDT, organociničitě sloučeniny, ftaláty, ale také fytosteroly (výtažky ze sóji – genistein a daidzein, rostlinný flavonoid kamferol) a překvapivě nasycená mastná kyselina stearová (C18:0). Endokrinní disruptory se často nalézají v některých plastech, v účtenkách z termopapíru obsahujícím bisfenoly, v prostředcích osobní hygieny obsahující např. parabeny, v EU již nepoužívané „tvrdé“ tenzidy na bázi ethoxylovaného nonylfenolu (oblečení z dovozu mimo EU, dříve smáčedlo přidávané k herbicidu glyfosátu) atd. Velkými zdroji přírodních a syntetických estrogenů jsou čistírný komunálních odpadních vod, v kterých nejsou 100% odstraněny estrogeny; výtoky z velkovýrob hospodářských zvířat (přírodně tvořené estrogeny i umělé preparáty používané pro synchronizaci říje a tím zefektivnění umělé inseminace) a nečištěné komunální vody z malých sídel.

Tabulka č. 1 Hodnoty Estrogen Receptor Bioactivity

EPA ACToR Code	CAS Registry Number	Chemický název, Chemical Name	ER Agonist Area Under Curve (AUC)	ER Antagonist AUC	ER Bioactivity
C57910	57-91-0	17alpha-Estradiol	1,06	0	1,06
C57636	57-63-6	17alpha-Ethinylestradiol	1	0	1
C56531	56-53-1	Diethylstilbestrol	0,943	0,00992	0,943
C50282	50-28-2	17beta-Estradiol	0,935	0,0153	0,935
C1478611	1478-61-1	Bisphenol AF	0,552	0,000026	0,552
C446720	446-72-0	Genistein	0,538	0	0,538
C77407	77-40-7	Bisphenol B	0,491	0,00196	0,491
C80057	80-05-7	Bisphenol A	0,45	0	0,45
C10540291	10540-29-1	Tamoxifen	0,0199	0,447	0,447
C486668	486-66-8	Daidzein	0,44	0	0,44
C84852153	84852-15-3	4-Nonylphenol, branched	0,435	3,92E-07	0,435
C27193868	27193-86-8	Dodecylphenol	0,392	0	0,392
C57852	57-85-2	Testosterone propionate	0,392	0	0,392
C789026	789-02-6	o,p'-DDT	0,385	0	0,385
C17696627	17696-62-7	Phenylparaben	0,275	5,68E-07	0,275
C1085127	1085-12-7	Heptylparaben	0,269	0	0,269
C1219381	1219-38-1	Octylparaben	0,268	0	0,268
C520183	520-18-3	Kaempferol	0,252	0	0,252
C94268	94-26-8	Butylparaben	0,251	5,16E-07	0,251
C57114	57-11-4	Octadecanoic acid	0,248	0	0,248
C683181	683-18-1	Dibutyltin dichloride	0,000186	0,222	0,222
C50293	50-29-3	p,p'-DDT	0,19	0	0,19
C85687	85-68-7	Butyl benzyl phthalate	0,179	0	0,179
C1461229	1461-22-9	Tributyltin chloride	0	0,114	0,114

Posuzováním rizika EDC v pitných vodách se zabýval Institut životního prostředí a zdraví ve Velké Británii [5].

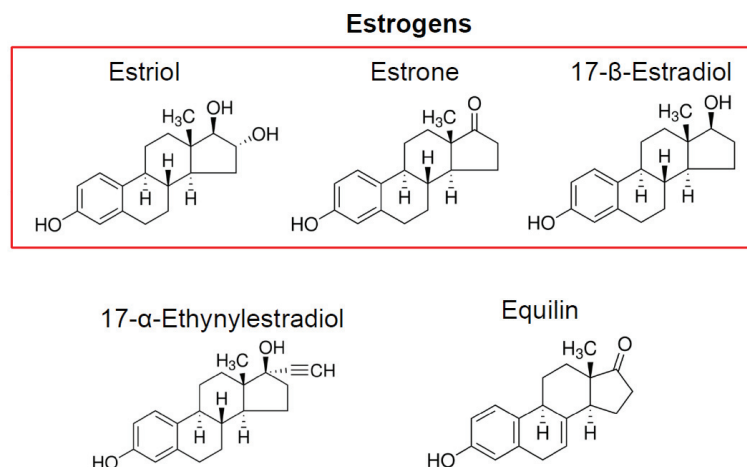
Jako rizikové byla vyhodnocena skupina šesti látek (4-benzylfenol, dibutylftalát, 4-nitrofenol, digoxin, flutikason a salbutamol). Dále bylo doporučeno se více zabývat hodnocením rizika působení směsí látek s endokrinními vlastnostmi.

Analýza látek s estrogenním účinkem patří mezi velice náročné. Je to dáno jednak požadavkem na velice nízké meze stanovitelnosti (17- α -ethinylestradiol má NEK = 35 pg/l, 17- β -estradiol a estron 0,4 ng/l, tributylcín 0, ng/l), jednak velikou chemickou různorodostí látek. Z toho důvodu se musejí používat dedikované analytické metody, např. pro stanovení organociničitých látek (organostannanů) se používá metoda založená na in-situ derivatizaci tetraethylborátem, extrakcí hexanem a po zakoncentrování a přečištění na silikagelu se měří na GC/MS [6]. Fenoly, chlorfenoly, alkylfenoly a některé bisfenoly, které reagují in-situ s acetanhydridem se stanovují pomocí GC/MS [7].

Stanovení estrogenních látek se provádí pomocí GC-HRMS po předchozí extrakci a derivatizaci na trimethylsilyl deriváty [8] nebo pomocí SPE extrakce a LC-MS/MS analýze [9]. Laboratoř Povodí Labe používá právě metodu LC-MS/MS s určitou modifikací a rozšířením o čisticí kroky nezbytnými pro dosažení nižších limitů v náročnější matici, kterou jsou povrchové vody.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Sledovanými látkami jsou 17- α -ethinylestradiol (EE2), 17- β -estradiol (E2) a estron (E1) uvedené na obrázku č. 1.



Obrázek č. 1 Strukturní vzorce vybraných přírodních a syntetických estrogenů

Postup přípravy

Vzorek vody odebraný do tmavé skleněné vzorkovnice o objemu 1 litr je extrahován co nejdříve, nejlépe do 24 hodin. K 0,8 litru vody je přidáno 10 μ l roztoku vnitřních standardů (D3-beta-estradiol, D4-ethinylestradiol, D4-estron o koncentraci 2 ng/ μ l, TRC Canada) a extrahuje se přímo ve vzorkovnici 80 ml dichlormethanu (Honeywell). Oddělená organická fáze se vysuší bezvodým granulovaným síranem sodným (Merck) a odpaří na rotační vakuové odparce na 1 ml. Extrakt se přečistí pomocí gelové permeační chromatografie na koloně PAH prep, odpaří do sucha a převede do hexanu. Následně se provede čištění na sloupci Florisilu a eluuje se směsí hexan : aceton (6:4, v:v). Po odpaření do sucha se rozpustí pomocí 250 μ l methanolu na Vortexu a přidá se 300 μ l vody. Extrakt se přefiltruje pomocí stříkačkového filtru (Nylon, 0,2 μ m, Ø17 mm, Thermo Scientific).

LC-MS/MS analýza

K měření se používá sestava UHPLC-MS/MS Agilent (1290 UHPLC s 6495 trojitým kvadrupólem).

Chromatografické podmínky jsou následující:

Kolona ACQUITY UPLC[®] BEH Phenyl 1,7 μ m, 2,1 mm ID, 100 mm délka

Průtok mobilní fáze: 0,25 až 0,45 ml/min

Teplota termostatu: 40°C

Nástřik: 100 μ l

Složení mobilní fáze: A – methanol,

B – 0,001 % NH₄OH /40% methanol.

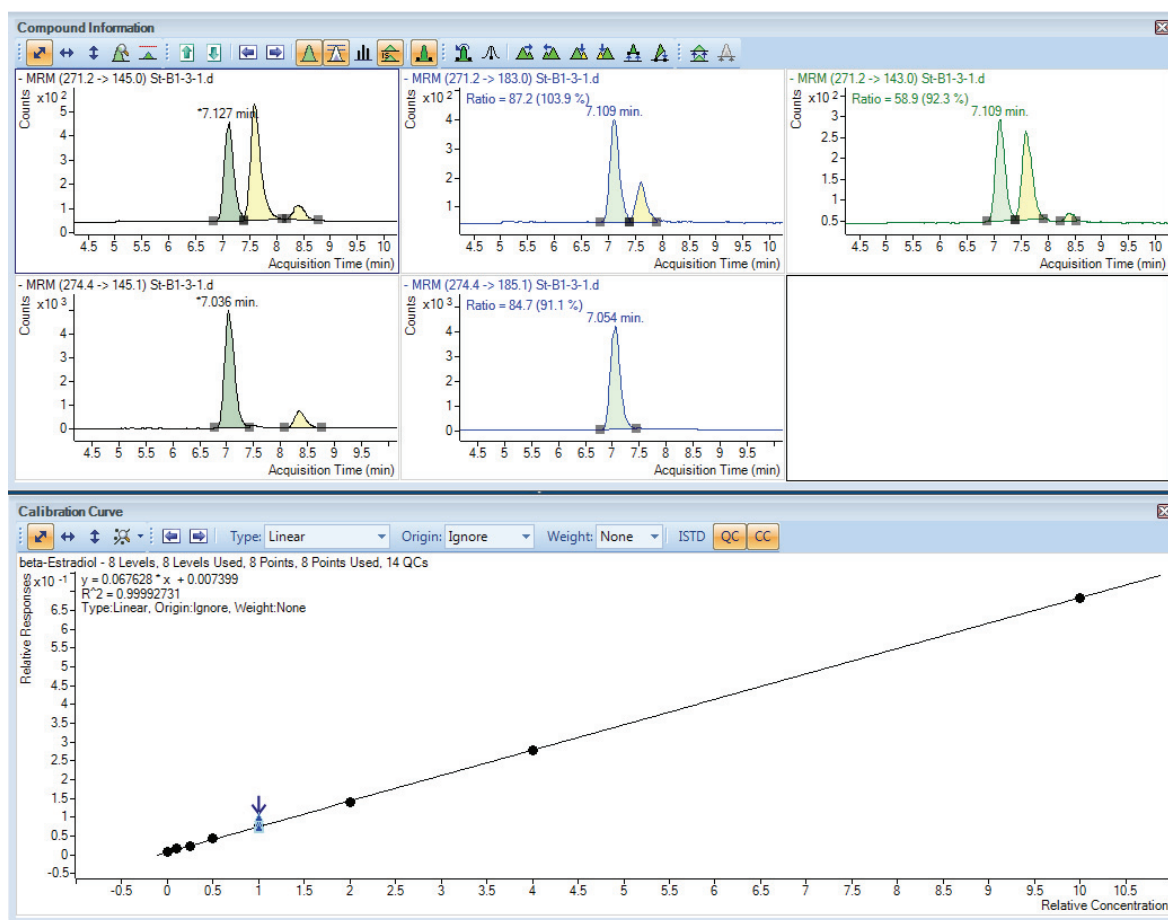
čas [min]	průtok [ml/min]	A [%]	B [%]	křivka
počáteční	0,25	15	85	
1,0	0,25	27	73	6
10	0,25	30	70	6
12	0,25	100	0	6
15,0	0,45	100	0	6
15,1	0,45	15	85	6
17	0,25	15	85	6

Podmínky na trojitým kvadrupolu jsou: sušící plyn dusík o teplotě 120 °C a průtoku 15 l/min, oplachový plyn dusík o teplotě 290 °C a průtoku 11 l/min, tlak na nebulizeru je 25 psi, napětí na ESI kapiláře je -2500 V a zoptimalizované podmínky na kvadrupolu jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tab č. 2 Zoptimalizované podmínky na kvadrupolu

Látka	RT, min	kvantifikační přechod	kolizní energie, V	kvalifikační přechod	kolizní energie, V	LOQ, ng/l
D3 beta-Estradiol	7,036	274,4 > 145,1	46	274,4 > 185,1	46	
beta-estradiol	7,127	271,2 > 183,0	46	271,2 > 145,0	46	0,3
alfa-estradiol	7,695	271,2 > 145,0	46	271,2 > 143,0	60	0,3
D4-Ethynalestradiol	7,452	299,4 > 269,1	30	299,4 > 2147,1	30	
17-alfa-Ethynalestradiol	7,524	295,2 > 267,0	30	295,2 > 145,0	30	0,05
D4-Estron	8,735	273,2 > 147,0	44	273,2 > 145,0	44	
Estron	8,817	269,2 > 145,0	44	269,2 > 143,0	64	0,3

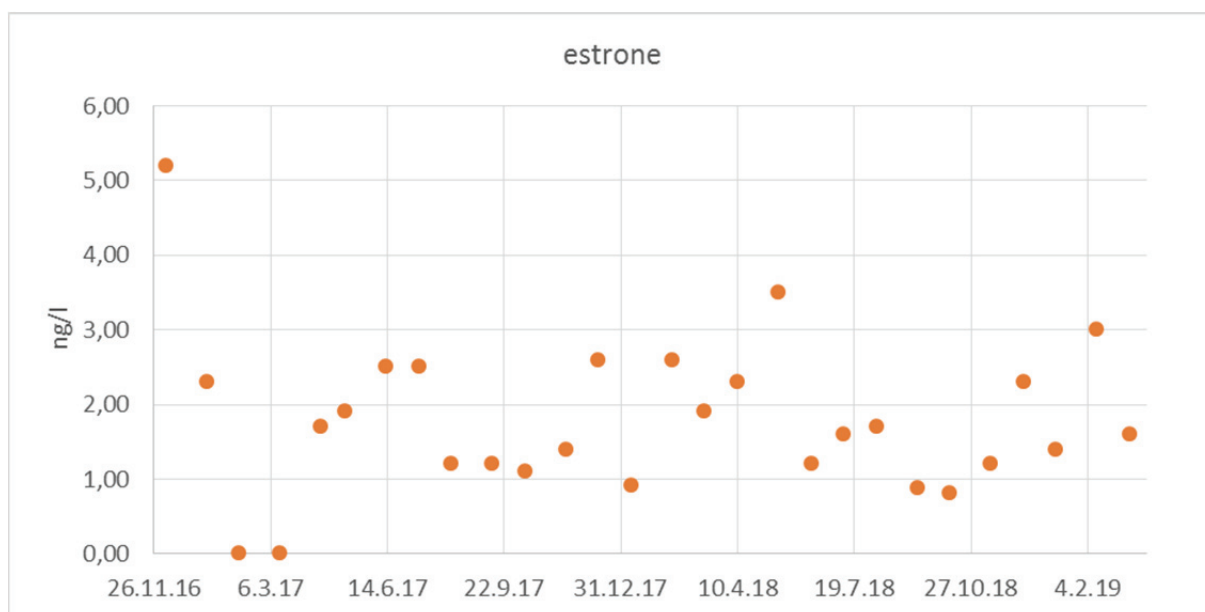
Ukázka chromatogramu a sedmi-bodové kalibrační křivky jsou pro E2 uvedeny na obrázku č. 2.



Obrázek č.2 Chromatogram a kalibrační křivka pro 17-β-estradiol (E2)

DISKUSE A ZÁVĚR

Monitoring estrogenů je prováděn na 9 klíčových profilech (Labe a jeho hlavní přítoky) a v nejvíce zatíženém profilu Lužická Nisa Hrádek (až 190 000 ekvivalentních obyvatel měst Liberec a Jablonec nad Nisou) při průměrných průtocích 4 až 6 m³/s tvoří vypouštěné odpadní vody 10 – 30 % celkového průtoku. Výsledky monitoringu estrogenů v profilu Lužická Nisa Hrádek jsou uvedeny na obrázku č. 3. Průměrná hodnota byla v tomto období 1,8 ng/l. Navrhovaný NEK pro estron byl 3,6 ng/l. Nálezy EE2 a E2 jsou velice sporadické a těsně nad mezí stanovitelnosti. To dokládá, že estrogeny jsou úspěšně odbourávány a nepředstavují obecně velké riziko. Samozřejmě v místě vypouštění nečištěných odpadních vod mohou představovat problém.



Obrázek č. 3 Nálezy estronu v profilu Lužická Nisa Hrádek v ng/l v období 2017-2018

Na estrogenní aktivitě se ale podílí velké množství dalších látek s podobnými účinky, které v celkovém působení mohou představovat riziko především pro vnímavé vodní živočichy.

Příklad reálného výskytu látek s estrogenním účinkem v běžném životě ilustruje případ bisfenolu A a jeho výskyt v účtenkách. Ukázka nálezů bisfenolu A v účtenkách z termopapíru z různých prodejních míst ilustruje tabulka č. 3.

Tabulka č. 3 Koncentrace bisfenolu A v účtenkách [mg/kg]

účtenka	bisphenol A [mg/kg]
parkovací lístek	6
obchodní řetězec 1	150
obchodní řetězec 2	1400
lékárna	1300
domácí potřeby	1500
obchodní řetězec 3	1200
bankomat	1200
obchodní řetězec 4	8
čerpací stanice	15
obchodní řetězec 5/1	13
obchodní řetězec 5/2	9,9
obchodní řetězec 5/3	8,4

Obsah bisfenolu A u některých účtenek překračoval desetinu hmotnostního procenta, což představuje riziko z pohledu analytika, který se daným stanovením zabývá a běžně stanovuje reálné vzorky s mezí stanovitelnosti 10 µg/kg, (0,000001 hm. %), tj. 100 000 x menší hodnoty; tak i z pohledu účinků, které mohou takovéto účtenky vyvolat u vnímavých osob (bisfenol A má estrogenní aktivitu na úrovni 45 % 17-β-estradiolu)!

LITERATURA

- [1] Eduard Ehler: Fyziologie živočichů a člověka, hormonální řízení.
Dostupné na https://dl1.cuni.cz/mod_folder/content/Fyziologie_9_hormony
- [2] Pohlavní hormony. Dostupné na <https://chemikalie.upol.cz/skripta/zell/Hormony>
- [3] Endokrinní disruptory: strategie pro budoucnost, jež chrání občany EU a životní prostředí, 7.11.2018.
Dostupné na https://ec.europa.eu/health/endocrine_disruptors/overview_cs
- [4] US EPA Endocrine Disruptor Screening Project (EDSP). Dostupné na <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/use-high-throughput-assays-and-computational-tools-endocrine-disruptor>
- [5] A review of latest endocrine disrupting chemicals research implications for drinking water, březen 2012.
Dostupné na http://dwi.defra.gov.uk/research/completed-research/reports/DWI70_2_266.pdf
- [6] Koutník M., Sedláková L., Komárek K.: Stanovení organostannanů (OTC) v povrchových vodách. In: Sýkora Vladimír, Kujalová Hana. Sborník 3. konference Hydroanalýtika 2009, Hradec Králové, 2009, s. 143-150, ISBN 978-80-254-4823-6.
- [7] US EPA Method 1653 Chlorinated Phenolics in Wastewater by In Situ Acetylation and GC/MS November 1996. Dostupné na: https://www.epa.gov/documents/method_1653.
- [8] US EPA Method 1698: Steroids and Hormones in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HRGC/HRMS, December 2007. Dostupné na: https://www.epa.gov/documents/method_1698_2007
- [9] US EPA Method 539: Determination of Hormones in Drinking Water by Solid Phase Extraction (SPE) and Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS).
Dostupné na:
<https://nepis.epa.gov/EPA/html/DLwait.htm?url=/Exe/ZyPDF.cgi/P100J76V.PDF?Dockey=P100J76V.PDF>

UHPLC-MS/MS ANALÝZA A MONITORING 1,2,4-TRIAZOLU V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

Marta Václavíková, Taťána Halešová, Daniela Tomešová

ALS Czech Republic, s.r.o., Na Harfě 336/9, 190 00 Praha 9 – Vysočany

ABSTRAKT

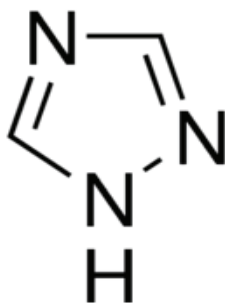
Aplikace a nadužívání pesticidů v zemědělství, vývoj nových preparátů, testování nových účinných látek, vývoj robustních a citlivých analytických metod pro kontrolu kvality potravin, pitné vody a dalších složek životního prostředí, to jsou stále velmi aktuální témata diskutovaná nejen v České republice, ale po celém světě. Fungicidní přípravky na bázi triazolu, jako je např. tebuconazol nebo propiconazol, se často využívají k ochraně různých typů plodin a jejich roční spotřeba je vysoká. Degradací produktů těchto účinných látek, 1,2,4-triazol, je na seznamu relevantních metabolitů pesticidů, a měl by tak být zařazen na seznam rutinně sledovaných pesticidních látek v rámci kontroly kvality pitných vod. Systematická kontrola a monitoring tohoto analytu v České republice stále chybí především díky malé informovanosti a absenci komerčně dostupných analytických metod. V laboratořích ALS Czech Republic byla tato metoda vyvinuta, akreditována a v současnosti je používána ke komerčním i výzkumným analýzám pitných, povrchových i podzemních vod.

ÚVOD

Problematika pesticidů v zemědělství a životním prostředí je globálně diskutované, časté a, do určité míry, kontroverzní téma. Na jedné straně se bez jejich aplikace zemědělská produkce udržitelně neobejde, na druhou stranu je dnes již dobře popsán a znám jejich škodlivý vliv na celý biosystém. Naštěstí, díky kontinuálnímu monitoringu, vědeckým datům, kontrolním analýzám a postupnému vývoji nových účinných látek, se negativní vliv pesticidů na biodiverzitu postupně snižuje.

Jednu z největších a nejdůležitějších skupin pesticidů představují triazolové pesticidy, jedná se o systémové fungicidy, které se využívají ke kontrole a ošetření různých plísňových chorob. Fungicidní přípravky na jejich bázi se aplikují na široké spektrum plodin jako je ovoce, zelenina, semena, ořechy a cereálie. K hlavním představitelům a účinným látkám této skupiny pesticidů patří tebuconazol, epoxikonazol, cyprokonazol, difenoconazol, paclobutrazol, a propiconazol. Roční spotřeba výše uvedených triazolových účinných látek v České republice je přibližně 250 tun.

Strukturně se jedná o látky, které obsahují heterocykl 1,2,4-triazol. Všechny látky této skupiny pesticidů jsou biodegradabilní, poločas rozpadu ovšem závisí na jeho místě, který např. u tebuconazolu může být až 170 dní. Obecně tyto pesticidy podléhají různé metabolické cestě, pokud se vyskytují v rostlinách, a jiné cestě v půdě, kde jsou degradovány mikroorganismy. V závislosti na typu této metabolické cesty mohou vzniknout a byly definovány čtyři hlavní metabolity. Jedná se o diskutovaný 1,2,4-triazol (hlavní metabolit v půdě) a dále pak 1,2,4-triazol alanin, 1,2,4-triazol kyselinu octovou, a 1,2,4-triazol kyselinu mléčnou. Všechny tyto uvedené metabolity triazolových pesticidů se v cizojazyčné odborné literatuře souhrnně označují jako „Triazole Derivative Metabolites“ (TDMs). 1,2,4-triazol je v životním prostředí relativně stabilní, a může být tedy snadno detekován v plodinách, potravinách, zvířatech, vodě i v půdě.



Obrázek 1: Strukturní vzorec 1,2,4-triazolu

Vzhledem k celosvětové tendenci k nadužívání pesticidů, které jsou různým způsobem biodegradabilní, je otázka definice a sledování metabolitů pesticidních látek vysoce důležitá. Je známo, že v posledních letech se rychle zvyšuje tendence k vývoji a používání nových účinných pesticidních látek, které jsou v životním prostředí snadno degradovány. Problém ovšem zůstává s identifikací metabolitů těchto látek, jejich retenci v životním prostředí, stanovení toxicity, a dále pak následnému vývoji analytických metod nebo soustavné a rutinní kontrole jejich výskytu.

Definice uvádí, že metabolit se považuje za významný (v anglickém znění nařízení je použit termín „relevantní“), existuje-li důvod předpokládat, že jeho přirozené vlastnosti jsou srovnatelné s vlastnostmi mateřské látky, pokud jde o účinek na biologický cíl, nebo že představuje pro organismy vyšší riziko než mateřská látka nebo riziko srovnatelné anebo že má určité toxikologické vlastnosti, jež jsou považovány za nepříjemné. Takový metabolit je významný pro rozhodnutí o celkovém schválení nebo pro stanovení opatření ke snížení rizika (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 ze dne 21. října 2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh a o zrušení směrnic Rady 79/117/EHS a 91/414/EHS; článek 3, odstavec 32).

1,2,4-triazol byl posouzen jako toxikologicky relevantní metabolit a měl by tak být zařazen na seznam sledovaných pesticidních látek monitorovaných v rámci posuzování kvality pitných vod vyhláška č. 70/2018 Sb., kterou se mění vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v níž je uvedeno, že se mají sledovat pesticidy s pravděpodobným výskytem v daném zdroji, a to včetně jejich relevantních metabolitů. Pro relevantní metabolit platí hygienický limit 0,1 µg/L.

Na základě zahraničních publikací je známo, že 1,2,4-triazol patří k běžným kontaminantům vod i půd, a bývá detekován na nezanedbatelných hladinách. Analýza „mateřských“ triazolových pesticidů je díky možnostem dnešní moderní instrumentace relativně snadná, běžně jsou součástí multireziduálních analýz pesticidů ve složkách životního prostředí nebo v potravinách. V závislosti na typu matrice a dostupné instrumentaci jsou nejčastěji analyzovány metodou přímého nástřiku nebo pomocí QuChERs extrakce ve spojení s kapalinovou chromatografií a tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC–MS/MS). Vzhledem k malé molekulové hmotnosti 1,2,4-triazolu a jeho spíše polárním charakteru, je analýza 1,2,4-triazolu podstatně problematictější. Díky nízké retenci na C18 analytických kolonách a malé citlivosti, nemůže být tato látka součástí multireziduálních analýz. Dalším problematickým aspektem stanovení je izomer této látky, tedy 1,2,3-triazol, který je možné běžně detekovat ve složkách životního prostředí, ale nejedná se o metabolit triazolových pesticidů. Analytická metoda tedy musí garantovat chromatografickou separaci obou těchto látek.

METODIKA STANOVENÍ

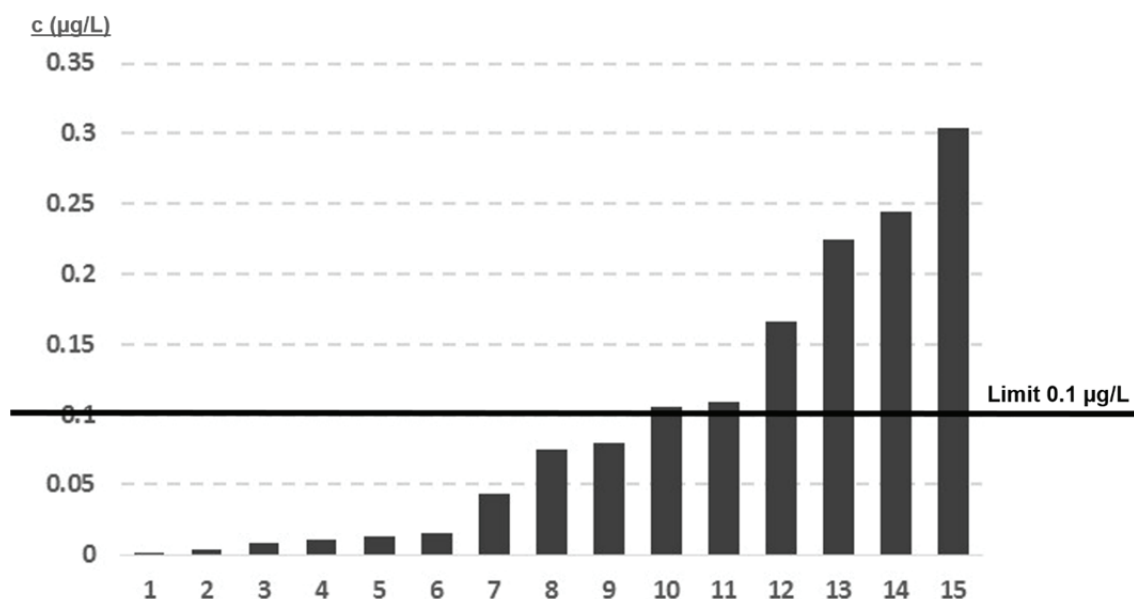
V laboratořích ALS Czech Republic v Praze byla pro stanovení 1,2,4-triazolu v pitných, povrchových a podzemních vodách vyvinuta a akreditována single-reziduální UHPLC-MS/MS metoda s přímým nástřikem vzorku. Vzorek vody je před analýzou pouze přefiltrován přes mikrofiltr. Separace analytu je prováděna na C18 UPLC analytické koloně vhodné ke stanovení polárních látek, za pomoci kapalinového chromatografu UHPLC 1290 Infinity II (Agilent Technologies). Detekce 1,2,4-triazolu probíhá na hmotnostním spektrometru 6495 Triple Quadrupole MS System (Agilent Technologies). Mobilní fáze je složena z 0.1% HCOOH a methanolu, eluce analytu na chromatografické koloně probíhá gradientově. Kvantifikace analytu probíhá metodou isotopově značeného vnitřního standardu (1,2,4-triazol-¹³C₂). Linearita metody je stanovena v rozmezí 0.01 – 10 µg/L, LOD metody je 0.01 µg/L, a díky korekci na vnitřní standard je dosahováno výtěžností analytu nad 85%. Metoda je robustní a opakovatelná.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Díky vzniku samostatného Projektového centra v laboratořích ALS Czech Republic, je možné řešit vývoj nových metod, zabývat se podrobněji aktuální problematikou analýzy xenobiotik a polutantů v jednotlivých složkách životního prostředí, a být součástí řešitelských týmů různých národních výzkumných projektů (v současné době jsou u nás řešeny čtyři TAČR projekty a jeden projekt NAZV).

V rámci projektů je sledován také výskyt mateřských triazolových pesticidů ve vzorcích zemin i vod, a následně 1,2,4-triazolu v příslušných vzorcích podzemních a povrchových vod. Na základě tohoto monitoringu je zřejmé, že triazolový pesticid, který je v zeminách na území ČR detekován nejčastěji, je tebukonazol (průměrné nálezy do 100 µg/kg), jako druhý nejčastější propikonazol (průměrné nálezy do 50 µg/kg), a dále metconazol, epoxikonazol a cyprokonazol.

1,2,4-triazol je v laboratořích ALS v Praze komerčně stanovován od letošního roku. Díky analýzám projektových i komerčních vzorků získává ALS postupně informace o výskytu a koncentračních hladinách tohoto relevantního metabolitu triazolových pesticidů ve vzorcích vod na území České republiky i na Slovensku. Z dosavadních výsledků je možné shrnout, že 1,2,4-triazol je přítomen ve více než 73% testovaných vzorků pitných vod a ve většině (86%) vzorků povrchových vod. Průměrné hladiny v pitných vodách dosahují koncentrace 0.078 µg/L, v povrchových vodách 0.13 µg/L. Vybrané výsledky jsou prezentovány v grafech na Obrázku 2 a 3.



Obrázek 2: Monitoring 1,2,4-triazolu ve vybraných vzorcích pitných vod, jaro-léto 2019



Obrázek 3: Monitoring 1,2,4-triazolu ve vybraných vzorcích povrchových vod, jaro-léto 2019

ZÁVĚR

Celkově je možné shrnout, že degradační produkt triazolových pesticidů a relevantní metabolit 1,2,4-triazol je přítomen ve většině testovaných vzorků pitných a povrchových vod na území České republiky a Slovenska, a to na koncentračních hladinách, které není možné zanedbávat. Díky projektům budou hladiny 1,2,4-triazolu nadále sledovány a bude tak postupně vytvořena „mapa výskytu“ 1,2,4-triazolu ve vodách a průměrné meziroční koncentrační hladiny tohoto analytu. V laboratořích ALS právě probíhá vývoj metody pro stanovení tohoto analytu ve vzorcích půdy a zemin.

PODĚKOVÁNÍ

Problematika 1,2,4-triazolu je v ALS Czech Republic řešena v rámci následujících projektů:

- TAČR TH03030118: Metody dekontaminace a detekce perzistentních chloracetanilidových pesticidů a jejich metabolitů, které jsou legislativně sledované.
- TAČR TH03030178: Nové metody hodnocení rizik přípravků na ochranu rostlin vůči necílovým půdním mikroorganismům: Hodnocení rizik zatížení půdního prostředí xenobiotiky na diverzitu.
- NAZV QK1910282: Možnosti zmírnění dopadů extrémních srážko-odtokových jevů v malých povodích s ohledem na požadavky trvale udržitelného zemědělského hospodaření a produkce ryb

LITERATURA

- www.ukzuz.cz
- Blondel A., Krings B., Ducat N., Pigeon O.: Validation of an analytical method for 1,2,4-triazole in soil using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry and monitoring of propiconazole degradation in a batch study. *Journal of Chromatography A*, 1562 (2018) 123-127.
- Schermerhorn P.G., Golden P.E., Krynitsky A.J., Leimkuehler W.M.: Determination of 22 triazole compounds including parent fungicides and metabolites in apples, peaches, flour, and water by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 88 (2005) 1491-1502.

VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE SLEDOVÁNÍ TRİHALOGENMETHANU VE VODĚ VEŘEJNÝCH BAZÉNŮ

Hana Jeligová, Filip Kotal, František Kožíšek, Lenka Bendakovská

Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, Praha 10, 100 42, e-mail: hana.jeligova@szu.cz;

SOUHRN

Při dezinfekci bazénové vody, která je pro provozovatele veřejných bazénů povinná, se přirozeně tvoří velká skupina toxických látek, které souhrnně označujeme jako vedlejší produkty dezinfekce (VPD). Současná hygienická legislativa reguluje v tomto směru jeden ukazatel (vázaný chlor), který je však především indikátorem skupiny dusíkatých produktů (chloraminů), které mají výrazný dráždivý efekt na sliznice. Ve vodě se však vyskytují i uhlíkaté vedlejší produkty (např. trihalogenmethany – THM), které jsou podezřívány z karcinogenního účinku. Naše studie měla za cíl ověřit, jaké hodnoty THM se ve vodě veřejných bazénů vyskytují a zda ukazatel vázaný chlor a jeho limitní hodnota je dostatečným indikátorem či vhodným nástrojem pro kontrolu i této skupiny látek, nebo zda by bylo potřebné zavést do legislativy umělých koupališť ještě další ukazatel – THM.

KLÍČOVÁ SLOVA

pitná voda; provozovatelé vodovodů; riziková analýza; monitorovací program; legislativa.

SUMMARY

Naturally, when disinfecting pool water, which is mandatory for public pool operators, there is a large group of toxic substances that we collectively refer to as disinfection by-products (DBP). Current hygienic legislation regulates one indicator (bound chlorine), which is, however, primarily an indicator of the group of nitrogenous products (chloramines), which have a significant irritating effect on mucous membranes. However, there are also carbon by-products (eg trihalomethanes – THMs) that are suspected of having a carcinogenic effect. The aim of our study was to verify what THM values are in the water of public pools and whether the indicator bound chlorine is a sufficient indicator or suitable control measure also for this group of by-products, or whether it would be needed to introduce another indicator into the swimming pool legislation – THM.

KEYWORDS

drinking water; operators of water supply systems; risk analysis; monitoring programme; legislation.

ÚVOD

Koupání a plavání patří mezi nejoblíbenější sportovní aktivity, které prokazatelně příznivě ovlivňují zdravotní stav jedince i celé populace. Nicméně i přes stále dokonalejší technologie k úpravě vody je návštěva umělých koupališť a bazénů spojena s určitými riziky. U každého bazénu dochází při běžném provozu ke kontinuální mikrobiální kontaminaci bazénové vody a jediný způsob, jak toto riziko minimalizovat, je její dezinfekce. Dezinfekční prostředky však reagují s organickými látkami, které jsou ve vodě přítomny, za vzniku širokého spektra vedlejších produktů dezinfekce, které zase představují riziko chemické. Je tedy potřeba za pomoci různých opatření udržovat obě rizika v optimální rovnováze, aby ani jedno z nich nepřesáhlo přijatelnou mez.

Provozovatel má k dispozici různé nástroje, aby mohl na proměnlivou zátěž bazénu aktuálně reagovat. Nejdůležitějším z nich je kontrola kvality vody v bazénu podle vyhlášky č. 238/2011 Sb. o stanovení hygienických požadavků na koupaliště, sauny a hygienické limity písků v pískovištích venkovních hracích ploch, která stanovila limitní hodnoty pro 14 mikrobiologických a chemických ukazatelů v bazénové vodě, např. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, pH, volný chlor, vázaný chlor. Posledně uvedený slouží jako hlavní orientační ukazatel obsahu vedlejších produktů dezinfekce, především chloraminů, vznikajících reakcí dusíkatých látek s chlorem. Ve vodě se však vyskytují i VPD vzniklé reakcí dezinfekčního činidla a uhlíkatých sloučenin – trihalogenmethany a haloctové kyseliny. Záměrem naší pilotní studie bylo ověřit, jaké hodnoty THM se ve vodě veřejných bazénů vyskytují, zda lze ukazatel vázaný chlor považovat za dostatečný indikátor i této skupiny látek, nebo by bylo potřeba zavést do legislativy koupališť ještě další ukazatel, konkrétně THM, jak tomu mají v některých jiných zemích, např. v Chorvatsku.

Vedlejší produkty dezinfekce

Chlor je nejstarší a nejčastěji používaný prostředek sloužící k dezinfekci vody, jehož jediným negativem bylo až do 70. let minulého století možné ovlivnění chuti a pachu vody. Ale v roce 1974 holandští a američtí vědci zjistili, že chlor v pitné vodě reaguje s přírodními organickými látkami (prekursory) za vzniku organických i

anorganických sloučenin - tzv. vedlejších produktů dezinfekce [1, 2]. Později bylo totéž zjištěno také u ostatních chemických dezinfekčních přípravků na bázi oxidace, jako jsou oxid chloričitý, chloramin či ozon. Jedná se o široké spektrum několika set látek, z nichž většina se v pitné vodě vyskytuje ve stopových množstvích, ale některé (např. trihalogenmethany nebo haloctové kyseliny) v dobře měřitelných koncentracích [3, 4]. Tyto látky se vyskytují v místně specifických a těžko definovatelných směsích v závislosti na složení huminových kyselin a dalších prekursorů v surové vodě a podmínkách v té které distribuční síti.

V bazénech je situace poněkud jiná, neboť kromě specifík vody užívané k plnění bazénu hrají významnou úlohu organické látky a mikroorganismy, které do bazénu ve velkém množství vnesou sami koupající se (odhaduje se, že celkem vnese jeden návštěvník do bazénu cca 4 g organických látek – moč, pot, slizové a mazové sekrety, zbytky kosmetických a opalovacích prostředků ad.) [5]. Opět vzniká různorodá směs několika set látek s odlišným toxickým potenciálem, nejčastěji chloraminy (vznik reakcí dusíkatých látek a chloru) a THM a haloctové kyseliny (reakcí uhlíkatých látek a chloru). Pokud je jako dezinfekční činidlo použit preparát na bázi bromu nebo jsou v bazénech dezinfikovaných chlorem přítomny bromidy, mohou vznikat také bromované vedlejší produkty dezinfekce, které jsou v porovnání s chlorovanými toxičtější. Co se týká možných zdravotních rizik plynoucích z působení chemických látek vzniklých při použití jiných dezinfekčních prostředků (ozon, oxid chloričitý aj.), jsou k dispozici jen omezené údaje.

Bylo zjištěno, že VPD v pitné vodě mohou mít negativní vliv na zdravotní stav, u mnoha z nich existují laboratorní důkazy o jejich toxicitě a karcinogenitě. Nicméně jak je tomu s účinkem na člověka, který je v porovnání s experimenty na zvířatech exponován relativně velmi nízké dávce, není dosud zcela jasné. Průkaz toxicity je totiž vzhledem k mnoha faktorům, které výzkum omezují, poměrně obtížný. Zásadní roli hraje dlouhá doba latence ve vývoji nádorových onemocnění (účinek se projeví až po velmi dlouhé expozici), nízké koncentrace těchto látek ve vodě, odlišné složení vody v jednotlivých vodovodech a z toho plynoucí neporovnatelnost směsí VPD aj. Navíc z pestré směsi VPD se rutinně sleduje jen pár látek (především THM, ačkoliv jiné VPD, vyskytující se v nižších koncentracích, mohou být toxičtější) a v nepříliš dlouhém časovém úseku, což odhad míry (historické) expozice poněkud zkresluje. Podobně je tomu i s VPD v bazénové vodě, nedávné studie prokázaly souvislost mezi toxickým působením chloraminů či THM a nežádoucím zdravotním efektem.

Chloraminy

Anorganické a organické chloraminy, v praxi označované jako „vázaný chlor“, patří k hygienicky nejvýznamnějším VPD v bazénové vodě. Vznikají reakcí chloru s amonnými solemi a močovinou. V posledních letech se hovoří především o trichloraminu (NCl_3 – derivát čpavku, u něhož jsou tři atomy vodíku nahrazeny atomy chloru), což je látka extrémně dráždivá oči, nos a dýchací cesty. Vyrchává z bazénové vody a je původcem chlorového zápachu typického pro kryté bazény (pachový a chuťový práh činí 0,02 mg/l). Belgické studie popisují zvýšené riziko vzniku astmatu u dětí, které byly již v raném věku vystaveny účinkům VPD chloru v krytých bazénech (míra rizika roste spolu se zvyšující se koncentrací a v závislosti na dalších rizikových faktorech) [6], dále souvislost s výskytem respiračních onemocnění a alergií u závodních i rekreačních plavců a zaměstnanců bazénu [7].

Koncentrace chloraminů v bazénové vodě je ve vyhlášce č. 238/2011 Sb. ošetřena ukazatelem „vázaný chlor“ s limitní hodnotou 0,3 mg/l.

Trihalogenmethany

Trihalogenmethany byly poprvé identifikovány v r. 1974 J. Rookem. Nejčastěji se vyskytující látkou je trichlormethan (chloroform CHCl_3), dále pak bromdichlormethan (CHBrCl_2), dibromchlormethan (CHBr_2Cl) a tribrommethan (bromoform CHBr_3). THM vznikají reakcí volného chloru s látkami organického původu (vnesenými návštěvníky bazénu) či huminovými látkami v plnicí vodě (haloformová reakce). Jedná se o lehce těkavé látky, které se mohou uvolňovat do ovzduší krytých hal bazénů a jsou vdechovány návštěvníky a personálem plaveckých stadionů. Poměrné zastoupení THM závisí na teplotě, hodnotě pH, koncentraci huminových látek, počáteční a konečné koncentraci chloru a reakční době. Reakce probíhá poměrně pomalu, takže zjištěné koncentrace se mohou lišit v závislosti na době odběru po chlorování vody. Na rozdíl od chlorovaných THM stačí k tvorbě bromderivátů velmi malé množství bromidů ve vodách, protože brom uvolněný při chloraci vody reaguje s organickými prekurzory podstatně snáze než chlor.

Trihalogenmethany mohou nepříznivě ovlivňovat lidské zdraví, přičemž bromované THM jsou obecně toxičtější než chlorované. Při testech na zvířatech bylo prokázáno, že tyto látky mají mutagenní a karcinogenní vlastnosti, mohou způsobovat rakovinu jater, ledvin, močového měchýře, stejně jako negativně ovlivňovat některé reprodukční funkce. U člověka byl potvrzen pozitivní vztah mezi vyšší koncentrací THM v pitné vodě a výskytem rakoviny močového měchýře u mužů [8]. Důkazy pro jiné druhy nádorů, včetně dříve uváděného kolorektálního karcinomu, nejsou považovány za dostatečně průkazné [9].

Dřívější studie zkoumaly především jejich orální příjem, který byl považován za nejběžnější způsob expozice. Ale vzhledem k velmi těkavé povaze a dermální permeabilitě těchto látek je nebezpečný také jejich inhalační a dermální příjem, experimentální studie ukázaly významnou expozici i při sprchování/koupání nebo návštěvách

plaveckých bazénů. Španělská studie zkoumající vztah rakoviny močového měchýře a expozice THM ve vodě při požití, koupání, sprchování a plavání v bazénech prokázala možné souvislosti mezi tímto onemocněním a všemi způsoby expozice, tj. i bazénové vodě; testované osoby, které se někdy v bazénu koupaly, vykazovaly zvýšené riziko rakoviny močového měchýře ve srovnání s těmi, kteří v bazénech nikdy neplavali, nezávisle na pohlaví [10]. Další španělská studie přinesla zjištění, že expozice bromovaným THM prostřednictvím plavání v chlorovaných bazénech byla spojena se zvýšením biomarkerů genotoxicity; nálezy byly konzistentní při použití různých testů mutagenity a genotoxicity [11]. Samotné mechanismy, jakými VPD způsobují nepříznivé zdravotní efekty, nejsou dosud zcela jasné.

Ve vyhlášce č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, je limitní hodnota pro THM stanovena jako suma koncentrací všech čtyř v předchozím textu uvedených THM ve výši 100 µg/l. Vedle toho je však ještě „historicky“ stanovena samostatná limitní hodnota pro hlavního zástupce THM – pro chloroform – a to ve výši 30 µg/l (chloroform byl do české legislativy zařazen již v roce 1991, zatímco suma THM až se vstupem do EU). Protože však chloroform obvykle představuje více než 80 % sumy THM, je efektivní limit pro sumu THM stanoven ve skutečnosti mnohem níže, okolo 40 µg/l.

METODIKA

Ve spolupráci s pracovníky hygienických stanic hl. m. Prahy a Středočeského kraje byly odebrány vzorky bazénové vody z vybraných plaveckých a koupelových bazénů (vířivek). Vzorky byly odebírány v ranních a dopoledních hodinách. V rámci testování byla v místě odběru měřena teplota vody, volný a vázaný chlor a celkový organický uhlík (TOC). Vzorky byly po odběru konzervovány chlazením. V případě THM byl do vzorkovnic před odběrem přidán thiosíran sodný. Pro stanovení THM byla použita metoda plynové chromatografie na přístroji Agilent 6890 Plus s duálním systémem detektorů FID/ECD s koncentrační jednotkou Tekmar 3000 Purge & Trap Concentrator. Koncentrační kolona instalovaná v jednotce Purge Trap byla kolona VOCARB 3000. Analýza probíhala za konstantního průtoku po dobu 60 min [12].

Celkem byly vyšetřeny vzorky vody z 6 plaveckých a 5 koupelových bazénů s teplotou vody nad 32 °C v Praze a 4 plaveckých a 4 koupelových bazénů s teplotou vody nad 32 °C ve Středočeském kraji. Celkem tedy bylo vyšetřeno 10 plaveckých a 9 koupelových bazénů.

V rámci projektu byla sledována i kinetika tvorby THM během provozní doby v jednom vybraném pražském bazénu. Odběry probíhaly ve dvouhodinových intervalech (od 9 do 21 hodin) z plaveckého i koupelového bazénu, které mají společnou úpravnu vody.

VÝSLEDKY

Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulkách č. 1 až 4, resp. na obrázcích č. 1 až 4.

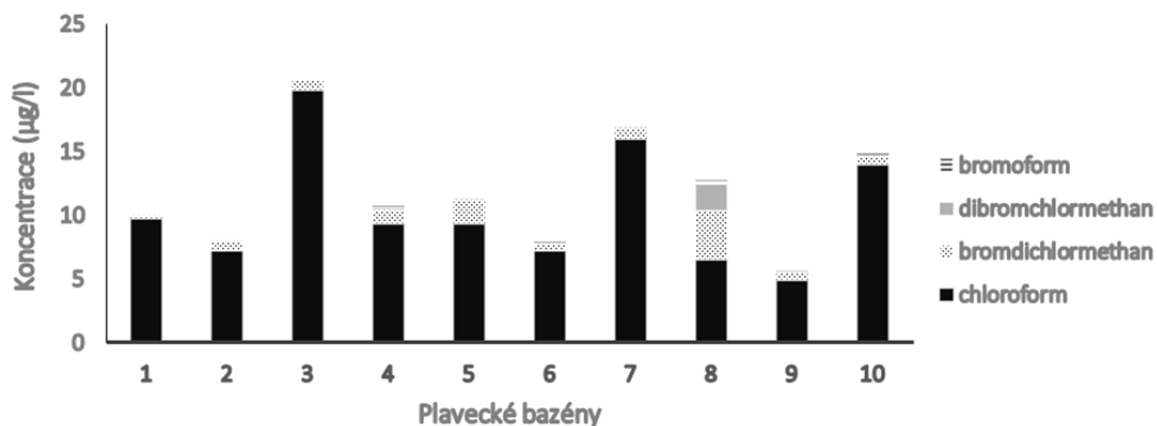
Ve většině případů byly nalezené koncentrace THM v bazénové vodě plaveckých bazénů velice nízké, suma THM se pohybovala v rozmezí 5,73 – 20,7 µg/l, naměřené hodnoty se tedy ani vzdáleně nepřiblížily koncentraci 100 µg/l, což je limitní hodnota stanovená pro PV. V případě chloroformu činí limitní hodnota v pitné vodě 30 µg/l; této koncentrace taktéž nebylo dosaženo – naměřené hodnoty ležely v intervalu 4,83 – 19,8 µg/l. Koncentrace ostatních THM (bromdichlormethan, dibromchlormethan, bromoform) se pohybovaly v řádech setin až jednotek µg/l.

Vázaný chlor, který ukazuje na přítomnost chloraminů v bazénové vodě a jehož limitní hodnota činí 0,3 mg/l, se u plaveckých bazénů pohyboval v rozmezí 0,13 – 0,43 mg/l a byl překročen pouze v jednom případě – 0,43 mg/l. (Tabulka a obr. 1).

Tab. 1. Koncentrace THM ve sledovaných plaveckých bazénech

Číslo bazénu	Teplota °C	Chlor volný mg/l	Chlor vázaný mg/l	TOC mg/l	Chloroform µg/l	Bromdichlor-methan µg/l	Dibromchlor-methan µg/l	Bromoform µg/l	Suma THM µg/l
1	26,5	0,31	0,43	4,4	9,72	0,24	0,02	0,22	10,20
2	26,5	0,38	0,27	4,1	7,21	0,69	0,10	0,01	8,01
3	27,6	0,40	0,21	2,1	19,8	0,75	0,05	0,10	20,70
4	26,9	0,30	0,27	3,1	9,33	1,06	0,20	0,04	10,63
5	28,6	0,60	0,26	1,7	9,30	1,86	0,10	0,05	11,31
6	*	*	*	*	7,21	0,47	0,08	0,02	7,78
7	27,9	0,43	0,28	1,9	15,93	0,87	0,14	0,06	17,00
8	28,3	0,48	0,13	2,2	6,51	3,82	2,10	0,32	12,75
9	26,2	0,32	0,30	2,3	4,83	0,60	0,23	0,07	5,73
10	24,3	0,58	0,19	2,1	13,96	0,64	0,05	0,15	14,80

*neměřeno



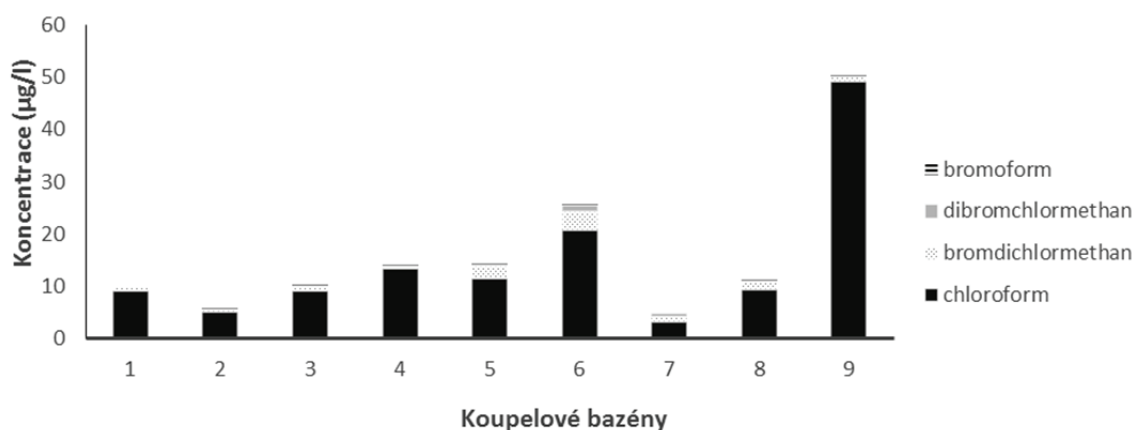
Obr. 1. Koncentrace THM ve sledovaných plaveckých bazénech

U koupelových bazénů s teplotou vody vyšší než 32 °C byly v bazénové vodě nalezeny obdobné koncentrace THM. Suma THM se pohybovala v rozmezí 5,21 – 50,08 µg/l, nedošlo tedy k překročení hodnoty 100 µg/l stanovené pro PV. V případě chloroformu ležely naměřené hodnoty v intervalu 3,25 – 49,15 µg/l, k překročení limitní hodnoty stanovené pro pitnou vodu ve výši 30 µg/l došlo v jednom případě (49,15 µg/l). Koncentrace ostatních THM (bromdichloromethan, dibromchloromethan, bromoform) se pohybovaly stejně jako u plaveckých bazénů v řádech setin až jednotek µg/l.

Vázaný chlor kolísal v rozmezí 0,1 – >2,2 mg/l a byl překročen ve 3 případech (>2,2 – 0,43 – 0,31 mg/l). (Tabulka a obr. 2).

Tab. 2. Koncentrace THM ve sledovaných koupelových bazénech (s teplotou nad 32 °C)

Číslo bazénu	Teplota °C	Chlor volný mg/l	Chlor vázaný mg/l	TOC mg/l	Chloroform µg/l	Bromdichlor-methan µg/l	Dibromchlor-methan µg/l	Bromoform µg/l	Suma THM µg/l
1	35,2	1,00	0,30	3,9	9,13	0,59	0,10	0,03	9,85
2	37,7	0,99	0,19	2,9	5,13	0,34	0,06	0,02	5,55
3	32,1	2,17	>2,20	4,8	9,06	0,84	0,14	0,02	10,06
4	35,6	1,45	0,43	1,8	13,30	0,30	0,05	0,30	13,95
5	34,5	0,76	0,10	1,9	11,45	2,29	0,25	0,05	14,04
6	32,2	0,71	0,29	1,6	20,72	3,47	1,13	0,19	25,51
7	34,6	0,52	0,20	2,1	3,25	0,92	0,72	0,32	5,21
8	30,9	1,11	0,31	1,4	9,33	1,31	0,24	0,02	10,9
9	30,4	0,60	0,26	4,3	49,15	0,89	0,03	0,01	50,08



Obr. 2. Koncentrace THM ve sledovaných koupelových bazénech (s teplotou nad 32 °C)

Sledování tvorby kinetiky THM bylo provedeno v lednu v bazénu, kterému odpovídají čísla bazénů 3 v tabulce č. 1, resp. 4 v tabulce č. 2, a to s dvouměsíčním časovým odstupem oproti individuálnímu odběru. V tomto případě byly ukazatelé teplota a volný a vázaný chlor převzaty od provozovatele.

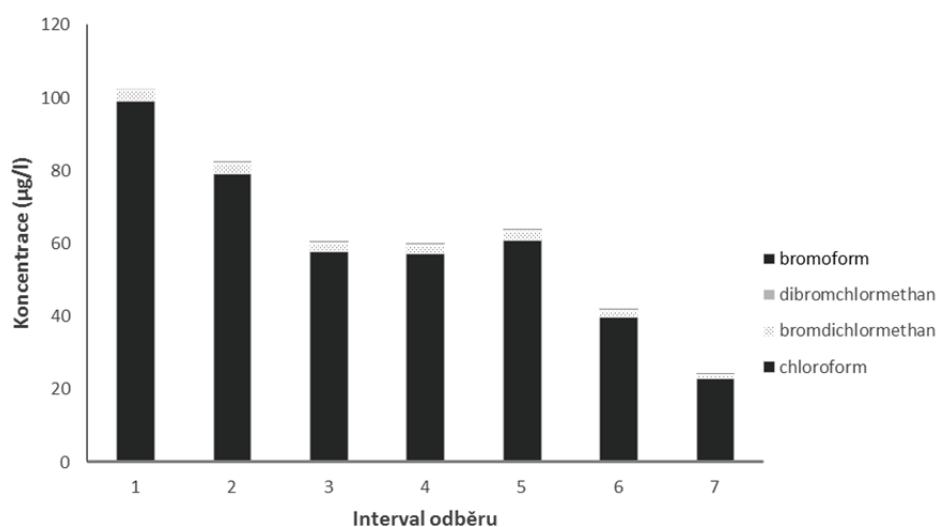
V případě plaveckého bazénu ležely naměřené hodnoty pro jmenované ukazatele v těchto rozmezích: teplota 27–28,7 °C, volný chlor 0,4–0,6 mg/l, vázaný chlor 0,19–0,24 mg/l; v případě koupelového bazénu se hodnoty pohybovaly v těchto intervalech: teplota 26–37 °C, volný chlor 0,78–0,92 mg/l a vázaný chlor 0,23–0,24 mg/l.

Jak vyplývá z dat v tabulce 3, v případě sledování kinetiky koncentrací THM bylo zjištěno, že v průběhu dne množství THM ve vodě plaveckého bazénu postupně klesá – z celkové sumy THM 102,64 µg/l v 9 hodin ráno až na 24,24 µg/l ve 21 hodin večer (obr. 3), nicméně během odpoledne (13–17 hod) zůstávala koncentrace v rozmezí cca 60–64 µg/l. Suma THM byla překročena pouze 1x právě v případě ranního odběru (102,64 µg/l). Naměřené hodnoty chloroformu se pohybovaly v rozmezí 23–99,3 µg/l, koncentrace 30 µg/l nebyla překročena pouze v jednom ze 7 případů (odběr ve 21 hodin). Koncentrace ostatních THM (bromdichloromethan, dibromchloromethan, bromoform), pokud nebyly pod mezí stanovitelnosti metody, se pohybovaly v řádech setin až jednotek µg/l.

Co se týká vázaného chloru, z dat poskytnutých provozovatelem vyplynulo, že ani v jednom případě nedošlo k překročení limitní hodnoty 0,3 mg/l.

Tab. 3. Vývoj koncentrace THM v plaveckém bazénu v průběhu jednoho návštěvního dne (9 – 21 hod)

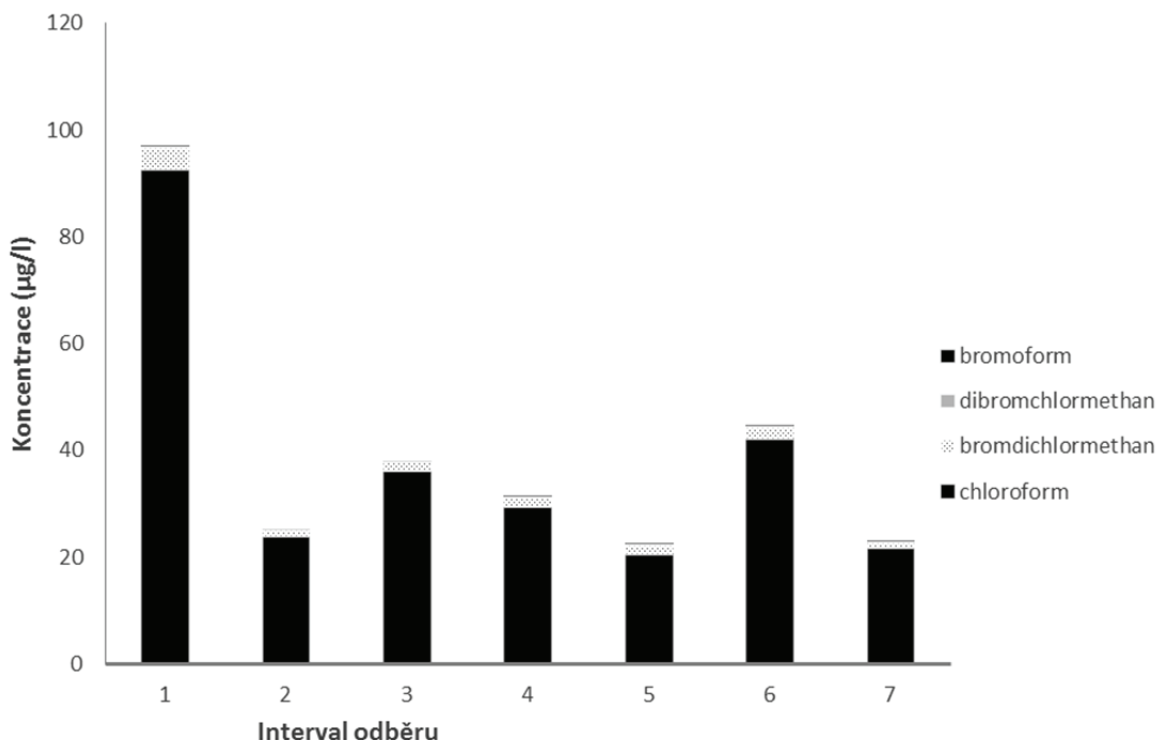
Interval odběru	Chloroform $\mu\text{g/l}$	Bromdichlormethan $\mu\text{g/l}$	Dibromchlormethan $\mu\text{g/l}$	Bromoform $\mu\text{g/l}$	Suma THM $\mu\text{g/l}$
1	99,3	3,1	0,24	$\leq 0,01$	102,64
2	79,3	2,8	0,25	0,02	82,37
3	57,9	2,3	0,22	0,01	60,43
4	57,3	2,3	0,25	0,02	59,87
5	60,9	2,5	0,28	0,02	63,70
6	39,8	1,9	0,23	0,02	41,95
7	23,0	1,1	0,13	0,01	24,24

**Obr. 3. Vývoj koncentrace THM v plaveckém bazénu v průběhu jednoho návštěvního dne (9-21 hod)**

Podobná situace v kinetice THM nastala i u bazénu koupelového – maximum THM bylo naměřeno ráno v 9 hod (suma THM cca 97 $\mu\text{g/l}$), nicméně už při dalším odběru koncentrace výrazně poklesla na cca 25 $\mu\text{g/l}$. V průběhu dne pak kolísala v rozmezí 22,53 – 44,47 $\mu\text{g/l}$ v 17 hod a 19 hod, přičemž poslední hodnota THM z 21. hod činila 22,9 $\mu\text{g/l}$. Suma THM překročena nebyla. Naměřené hodnoty chloroformu kolísaly v rozmezí 20,4 – 92,5 $\mu\text{g/l}$ s maximem v ranních hodinách, koncentrace 30 $\mu\text{g/l}$ byla překročena ve 3 případech (92,5 – 36,1 – 42,2 $\mu\text{g/l}$). Koncentrace ostatních THM (bromdichlormethan, dibromchlormethan, bromoform), pokud nebyly pod mezí stanovitelnosti metody, se pohybovaly stejně jako u plaveckého bazénu v řádech setin až jednotek $\mu\text{g/l}$. Limitní hodnota pro vázaný chlor nebyla dle dat poskytnutých provozovatelem překročena.

Tab. 4. Vývoj koncentrace THM v koupelovém bazénu v průběhu jednoho návštěvního dne (9 – 21 hod)

Interval odběru	Chloroform $\mu\text{g/l}$	Bromdichlormethan $\mu\text{g/l}$	Dibromchlormethan $\mu\text{g/l}$	Bromoform $\mu\text{g/l}$	Suma THM $\mu\text{g/l}$
1	92,5	4,1	0,33	0,02	96,95
2	23,8	1,2	0,12	$\leq 0,01$	25,12
3	36,1	1,8	0,14	$\leq 0,01$	38,04
4	29,4	1,7	0,23	0,02	31,35
5	20,4	1,7	0,39	0,04	22,53
6	42,2	2,0	0,25	0,02	44,47
7	21,7	1,0	0,18	0,02	22,90



Obr. 4. Vývoj koncentrace THM v koupelovém bazénu v průběhu jednoho návštěvního dne (9 – 21 hod)

DISKUSE

Co se týká plaveckých bazénů, z výsledků vyplynulo, že všechny naměřené hodnoty THM v bazénové vodě byly velice nízké. Suma THM ležela v intervalu 5,73 – 20,7 µg/l, maximum pro chloroform nepřekročilo 20 µg/l, v žádném případě tedy nedošlo k překročení limitních hodnot stanovených pro pitnou vodu, tj. 100, resp. 30 µg/l pro sumu THM a chloroform (mějme však na paměti, že díky přísnějšímu limitu pro chloroform a jeho rozhodujícím podílu na sumě THM je skutečný limit pro THM na úrovni cca 40 µg/l). Ukazatel vázaný chlor byl překročen v jednom případě z 10 stanovení.

Obdobná situace se projevila i u bazénů koupelových s teplotou vody vyšší než 32 °C. Suma THM se pohybovala v rozmezí 5,21 – 50,08 µg/l, opět tedy nedošlo k překročení hodnoty 100 µg/l stanovené pro pitnou vodu. V případě chloroformu došlo k překročení limitní hodnoty 30 µg/l v jednom případě (49,15 µg/l). Ukazatel vázaný chlor byl překročen ve 3 případech, což není nikterak překvapující, protože u koupelových bazénů s vyšší teplotou vody bývá jeho dodržení problematictější.

V případě sledování kinetiky koncentrací THM bylo zjištěno, že v průběhu dne množství THM ve vodě plaveckého i koupelového bazénu (zde s drobnými výkyvy) klesá – z celkové sumy THM kolem cca 100 µg/l v 9 hodin ráno až na cca 22 µg/l ve 21 hodin večer, suma THM byla překročena pouze v jednom případě u plaveckého bazénu (102,64 µg/l). Uspokojivé vysvětlení pro tento jev, který byl oproti našim předpokladům zcela opačný, nemáme. Určitě nemůže být hlavním vysvětlením fakt, že se jedná o lehce těkavé látky a že se tedy jejich obsah dostává z vody do ovzduší nad hladinou bazénu. Koncentrace chloroformu byly v průměru výrazně vyšší u plaveckého bazénu (cca 60 µg/l, překročení u cca 86 % měření) v porovnání s bazénem koupelovým (cca 38 µg/l, překročení u cca 43 % měření), pro což také nemáme dostatečné vysvětlení. Dle údajů poskytnutých provozovatelem nebyl ukazatel vázaný chlor překročen v žádném z bazénů ani v jednom případě. Koncentrace chloroformu i THM byla v tomto bazénu výrazně vyšší než v ostatních sledovaných bazénech. Na základě našeho průřezového šetření nejsme schopni říci, nakolik je nalezený průběh koncentrací THM typický nebo naopak výjimečný i pro ostatní bazény. Neprováděli jsme bližší šetření technologie úpravy vody a obměny vody, abychom vysvětlili vyšší hodnoty THM. Je však pravdou, že provozovatel přiznával potíže s úpravou vody v minulosti (což naznačuje i překročená limitní hodnota pro ukazatel vázaný chlor v koupelovém bazénu při individuálním odběru) i záměr celkové rekonstrukce areálu bazénu.

Taktéž nebylo prokázáno, že by výše koncentrace THM nějakým způsobem souvisela s naměřenými koncentracemi vázaného chloru.

V porovnání s pitnou vodou ležely ve většině případů nalezené koncentrace THM v bazénové vodě plaveckých bazénů v podobném intervalu, jako je tomu u vody pitné.

ZÁVĚR

Stejně jako u vody pitné se i v souvislosti s bazénovými vodami řeší problematika vedlejších produktů dezinfekce, látek, které vznikají reakcí dezinfekčního činidla s organickými látkami ve vodě obsaženými. Vyhláška č. 252/2004 Sb. na pitnou vodu sleduje „uhlikaté“ VPD v pitné vodě skrze ukazatele THM a chloroform, což jsou látky s prokázaným karcinogenním účinkem. Vyhláška č. 238/2011 Sb. ošetřila kontrolu VPD v bazénové vodě ukazatelem vázaný chlor, který ukazuje na přítomnost chloraminů, látek taktéž způsobujících negativní zdravotní efekty. Cílem naší studie bylo zjistit, jaké hodnoty THM se v bazénové vodě v různých typech veřejných bazénů vyskytují a zda současná legislativa koupališť dostatečně reflektuje zdravotní rizika VPD.

Na základě výsledků studie můžeme konstatovat, že v naprosté většině případů byly naměřené koncentrace THM (suma THM, chloroform) velice nízké, nacházely se v podobném intervalu jako u vody pitné. Z tohoto pohledu se jeví zavádění nového ukazatele THM do legislativy bazénů a koupališť jako neodůvodněné.

Nicméně bylo zjištěno, že mezi jednotlivými bazény jsou určité rozdíly, které by možná odůvodňovaly provedení plošného a reprezentativnějšího šetření za účelem získání validní informace o dosažitelných úrovních THM. Tyto údaje by pak mohly sloužit provozovatelům bazénů jako určitá vztažná hodnota, na kterou se lze v případě THM pomocí dobré provozní praxe dostat a tím omezit karcinogenní riziko návštěvníků bazénů na rozumné minimum. Moderně se tomuto přístupu říká „benchmarking“ a může být buď dobrovolný (provozovatelé se z vlastní vůle snaží porovnávat své výkonnostní charakteristiky s jinými provozovateli a pokud objektivně zaostávají, snaží se hledat cesty ke zlepšení provozu) nebo (státem) vynucený. V případě provozování vodovodů a kanalizací se stát (prostřednictvím zvláštního odboru ministerstva zemědělství) již několik let snaží benchmarking do tohoto odvětví zavádět. Je otázkou, kdo by měl mít takovou kompetenci v případě provozování umělých koupališť. Další otázkou pak je, kdyby se k benchmarkingu skutečně přistoupilo, kdo by byl provozovatelům bazénů, jejichž parametry by zaostávaly za průměrem, schopen účinně a nestranně poradit, jak situaci v kvalitě vody zlepšit.

LITERATURA

- [1] Bellar, T.A., Lichtenberg, J.J., Kroner, R.C. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. J AWWA, 1974, 66: 703-707.
- [2] Rook, J.J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. J Water Treatment Exam, 1974, 23: 234-243.
- [3] Boorman, G.A., Dellarco, V., Dunnick, J.K. Drinking water disinfection byproducts: review and approach to toxicity evaluation. Environ Health Perspect., 1999, 107(Suppl 1): 207-217.
- [4] Krasner, S.W., Weinberg, H.S., Richardson, S.D. et al. Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. Environ Sci Technol., 2006, 40(23): 7175-7185.
- [5] Jelíková, H., Šašek, J., Kožíšek, F., Chlupáčová, M. Zdravotní a hygienická rizika z bazénových vod a prostředí bazénů. Hygiena. 2008, roč. 53, č. 3, s. 84-92.
- [6] Bernard, A., Carbonelle, S., Michel, O., Higuier, S., De Burbure, C., et al. Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. Occup Environ Med. 2003 Jun, 60(6): 385-394.
- [7] Voisin, C., Sardella, A., Bernard, A. Riziko alergických onemocnění spojené s návštěvou bazénů s chlorovanou vodou. Hygiena. 2008, roč. 53, č. 3, s. 93-101.
- [8] Nieuwenhuijsen, M.J., Smith, R., Golfinopoulos, S., Best, N., Bennett, J. et al. Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE. J. Wat Health, 2009, 7(2): 185-207.
- [9] Villanueva, C.M., Gracia-Lavedan, E., Bosetti, C., Righi, E., Molina, A.J., et al. Colorectal cancer and long-term exposure to trihalomethanes in drinking water: A multicenter case-control study in Spain and Italy. Environ Health Perspect. 2017 Jan, 125(1): 56-65.
- [10] Villanueva, C.M., Cantor, K.P., Grimalt, J.O., Malats, N., Silverman, D., et al. Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering, and swimming in pools. Am J Epidemiol. 2007 Jan 15, 165(2): 148-56. Epub 2006 Nov 1.
- [11] Kogevinas, M., Villanueva, C.M., Font-Ribera, L., Liviak, D., Bustamante, M., et al. Genotoxic Effects in Swimmers Exposed to Disinfection By-products in Indoor Swimming Pools. Environ Health Perspectives 2010 Nov, 118(11): 1531-1537.
- [12] ČSN EN ISO 10301 (75 7551) – Stanovení vysoce těkavých halogenovaných uhlovodíků. Metody plynové chromatografie, vydáno 8/1998.

ZAMĚŘENO NA ODPADNÍ VODY: VÝSLEDKY PRVNÍHO ROKU ŘEŠENÍ PROJEKTU KOMUNÁLNÍ ODPADNÍ VODA JAKO DIAGNOSTICKÉ MEDIUM HLAVNÍHO MĚSTA PRAHY

Věra Očenášková¹, Petr Tužil², Danica Pospíchalová¹, Diana Marešová¹, David Chrastina²,
Tereza Šafránková¹, Eva Bohadlová¹

¹Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i., Podbabská 2582/30 Praha 6

²Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i., Macharova 954/5, Ostrava

ÚVOD

Hypotéza, že ke komunální odpadní vodě lze přistupovat jako k velmi zředěnému vzorku moči byla vyslovena na přelomu tisíciletí (Daughton, C. G. Ternes, T. A., 1999, 2001). Epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE – wastewater based epidemiology), který z této hypotézy vychází, byl záhy použit v povodí řeky Pád ke sledování nezákonných drog, především kokainu (Zuccato et al. 2005). Cílem bylo zjistit spotřebu nezákonných drog ve sledované populaci zpětnou kalkulací ze zjištěných koncentrací drog v komunálních odpadních vodách. Obecný princip nového přístupu k monitorování a zpřesňování odhadu prevalence a užívání drog v populaci metodou epidemiologie odpadních vod – sewage epidemiology (dnes spíše používané označení WBE) byl popsán ve zvláštní zprávě Evropského monitorovacího centra pro drogy a drogové závislosti (EMCDDA) z roku 2008 (Frost, 2008). Od doby svého vzniku se WBE stala plnohodnotnou, velmi rychle se rozvíjející vědní disciplínou, která spojuje práci expertů z mnoha oborů. V moči, a tím i v komunálních odpadních vodách, se vyskytují i další látky (či jejich metabolity), kterým je lidská populace exponována a které jsou v těle metabolizovány, jako např. zákonné drogy a léčiva, kofein, nikotin, ethanol, potravinové a environmentální kontaminanty, ale i specifické biomarkery, které mohou přinášet informace o zdravotním stavu monitorovaného obyvatelstva. Kvantitativní měření těchto látek spolu se zpětnou kalkulací může poskytnout informaci např. o stravovacích návycích, zdravotním stavu, výskytu chorob, spotřebě alkoholu, léčiv a nikotinu nebo expozici potravinovým a environmentálním polutantům. Zároveň lze zjistit také trendy v užívání, či expozici, ať už krátkodobé nebo dlouhodobé.

Příklad možných biomarkerů využitelných pro monitoring zdravotního stavu populace prostřednictvím WBE: uvádějí Thomas a Reid, (2011). Možné biomarkery rozděluje do čtyř skupin. První skupina slouží k monitoringu životního stylu, druhá ke sledování stravovacích návyků, další k hodnocení zdravotního stavu populace a výskytu chorob, poslední na dopady stavu životního prostředí na člověka (expozice pesticidům, PAH, aflatoxinům). Zmínění autoři upozorňují na obrovský potenciál epidemiologického přístupu k analýze komunálních odpadních vod, stejně jako Kasprzyk-Hordern (Kasprzyk-Hordern et al., 2014).

ODBĚRY A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Ve Výzkumném ústavu vodohospodářském T. G. Masaryka, v.v.i., v oddělení hydrochemie odboru Analýz a hodnocení složek životního prostředí je od ledna roku 2018 řešen projekt **Čistá voda – Zdravé město. Komunální odpadní voda jako diagnostické medium hlavního města Prahy**. Vedle nezákonných látek a některých léčiv jsou v rámci projektu sledovány také metabolity alkoholu (ethylsulfát), nikotinu (kotinin a trans-3-hydroxykotinin) a pesticidů. Na vybraných místech kanalizační sítě hlavního města Prahy probíhá od dubna loňského roku pravidelný monitoring výše uvedených látek. Vedle celkového přítoku na ÚČOV Praha jsou odběry po dohodě a ve spolupráci s PVK, a.s. prováděny také na kmenových stokách B, D, E, F a na kolektoru stok ACK. V roce 2018 vzorkování probíhalo přibližně každý čtvrtý den, v roce 2019 jsou odběry realizovány přibližně každý 8 den. Odebírány jsou 24 hodinové slévané vzorky.

Po dopravení laboratoře je každý vzorek převeden do 4 plastových vzorkovnic. Pokud nejsou vzorky zpracovány do 48 hodin, jsou zmrazeny a uchovávány při – 20 °C až do doby zpracování. Před vlastní analýzou jsou vzorky přefiltrovány a podle potřeby jednotlivých metod naředěny UHQ vodou, aby byl snížen matriční efekt. Po přidání příslušných standardů jsou vzorky zakoncentrovány pomocí SPE a analyzovány několika metodami na principu kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (on-line-SPE-LC/MS v ESI+ nebo ESI- módu).

POUŽITÉ METODY STANOVENÍ SLEDOVANÝCH LÁTEK

Do již dříve v laboratoři zavedených metod pro stanovení nezákonných drog byly doplněny další látky ze skupiny nových syntetických drog, pro stanovení ethylsulfátu, nikotinu a jeho metabolitů a pesticidů byly vyvinuty a zvalidovány metody nové a jsou prezentovány v samostatných příspěvcích na této konferenci. Přehled sledovaných látek je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Seznam monitorovaných látek

Skupina látek	Název
"Klasické" drogy	11-nor-9-karboxy-delta-9-THC
	3,4-methylen-dioxy-metamfetamin
	metamfetamin
	amfetamin
	kokain
	kokaethylen
	benzoylecgonin
	diethylamid kyseliny lysergové (LSD)
	heroin
	morfin
Substituční léčba	metadon
	EDDP (2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine)
	buprenorfin
Nové syntetické drogy	ethylcathinone
	pentedron
	methylone
	4-methylethcathinon
	mefedron (4-methylmethcathinone)
	nor-mephedrone
	alpha-pyrrolidinovalerophenone
Zneužívaná léčiva	cis-tramadol HCl
	nor-diazepam
	fentanyl
	nor-fentanyl
Nikotin a jeho metabolity	nikotin
	kotinin
	trans-3-hydroxykotinin
Metabolit ethanolu	ethylsulfát
Prekurzor pro výrobu drog	efedrin hydrochlorid

PŘÍKLADY VÝSLEDKŮ

V prvním roce řešení projektu (2018) byly odběry zahájeny v dubnu. Zpočátku byly sledovány pouze již dříve sledované látky, od července 2018 byly do sledování doplněny látky, pro které byly vyvíjeny nové metody. Celkem bylo odebráno více než 300 vzorků. Ze zjištěných koncentrací, průtoku odpadní vody v jednotlivých odběrových profilech a z počtu napojených obyvatel jsou postupně počítány odnosy jednotlivých sloučenin.

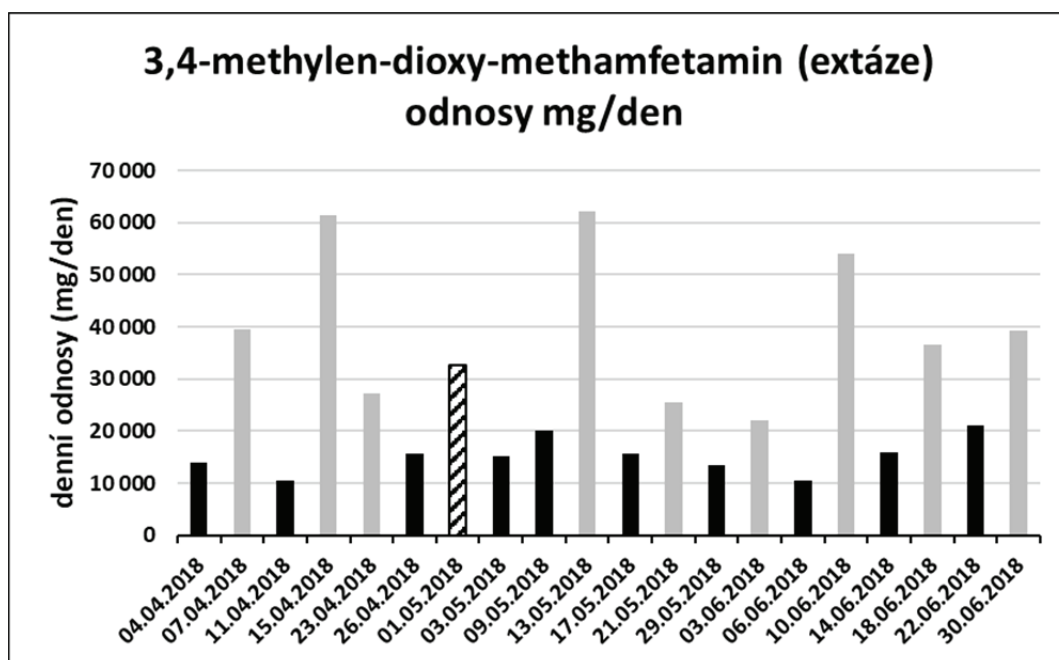
Ve všech odebraných vzorcích byly nalezeny všechny sloučeniny ze skupiny označené v předchozí tabulce jako „klasické“ drogy (kromě heroinu a LSD), cis-tramadol, nor-diazepam, nikotin a jeho metabolity, ethylsulfát a efedrin.

Téměř ve všech vzorcích byl nalezen metadon a jeho metabolit EDDP. Fentanyl se vyskytuje v koncentracích okolo meze stanovitelnosti. Heroin nebyl nalezen v žádném vzorku, stejně tak jako buprenorfin a většina látek ze skupiny nových syntetických drog. Nálezy některých z nich (mefedron) jsou zcela ojedinělé.

Příklady výsledků jsou na následujících obrázcích.

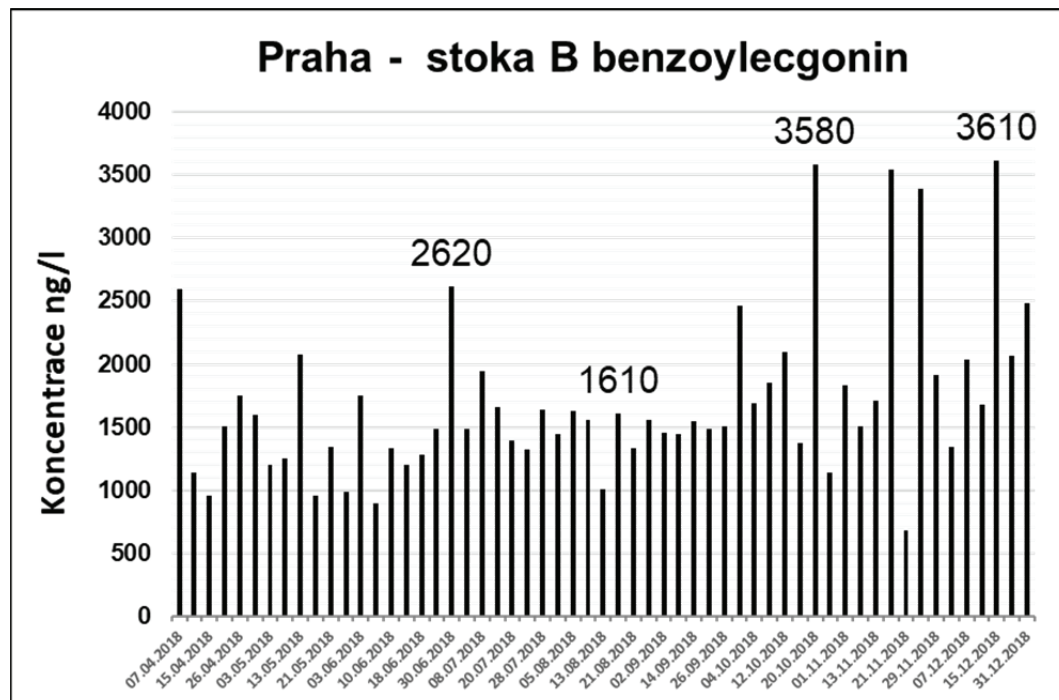
Nejvyšší koncentrace nezákonných drog jsou jako vždy nalézány pro THC a metamfetamin (pervitin), které na české drogové scéně patří k „nejoblíbenějším“.

N obrázku 1 jsou odnoxy extáze na stoce ACK. Jsou zde vidět velmi výrazné rozdíly mezi konzumací drogy v pracovních a víkendových dnech, případně o svátcích.



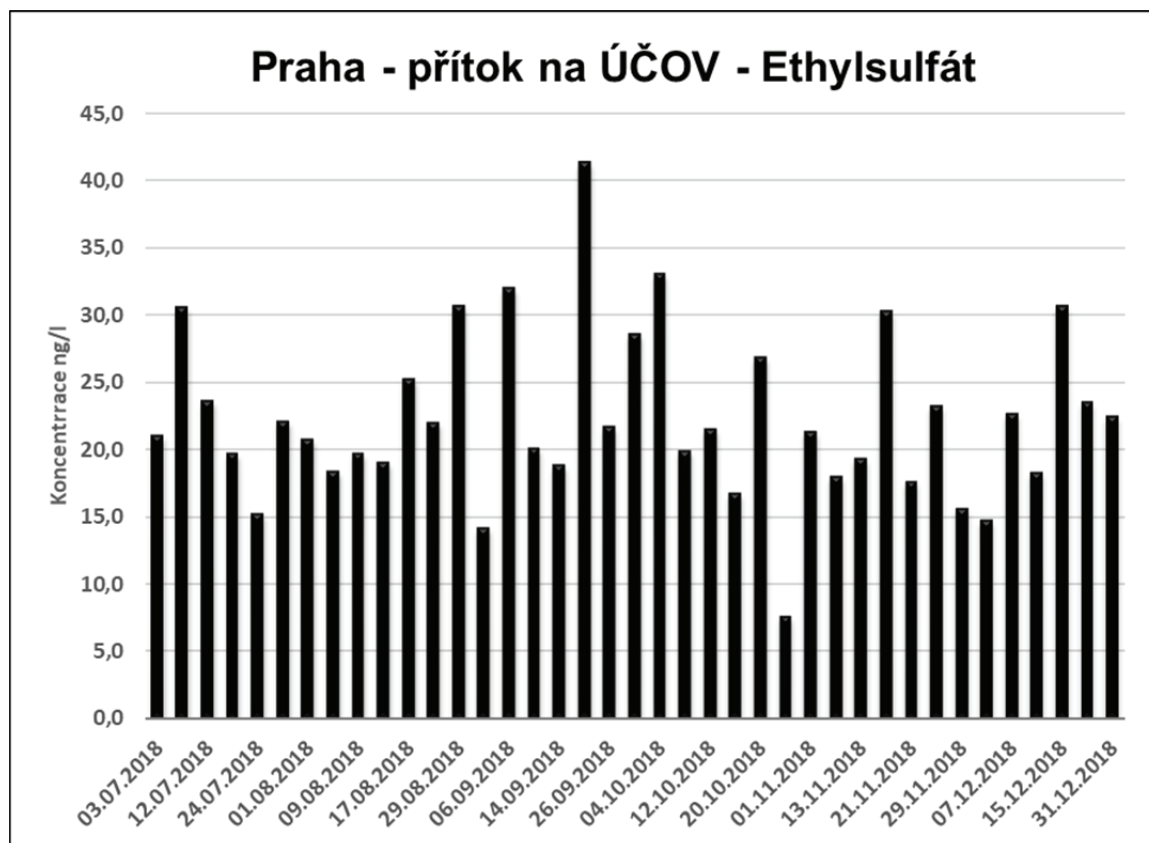
Obrázek 1: Denní odnoxy extáze (stoka ACK). ■ pracovní dny, ■ víkendové dny, ■ státní svátek, kterému předcházelo „pálení čarodějnic“.

Kokain patří mezi dražší drogy a Praha je v České republice městem s jeho nejvyšší spotřebou. Nejvyšší koncentrace v Praze byly nalezeny na kmenové stoce B (viz obr. 2). Benzoylcgonin je hlavním metabolitem kokainu.



Obrázek 2: Koncentrace benzoylcgoninu ve vzorcích ze stoky B.

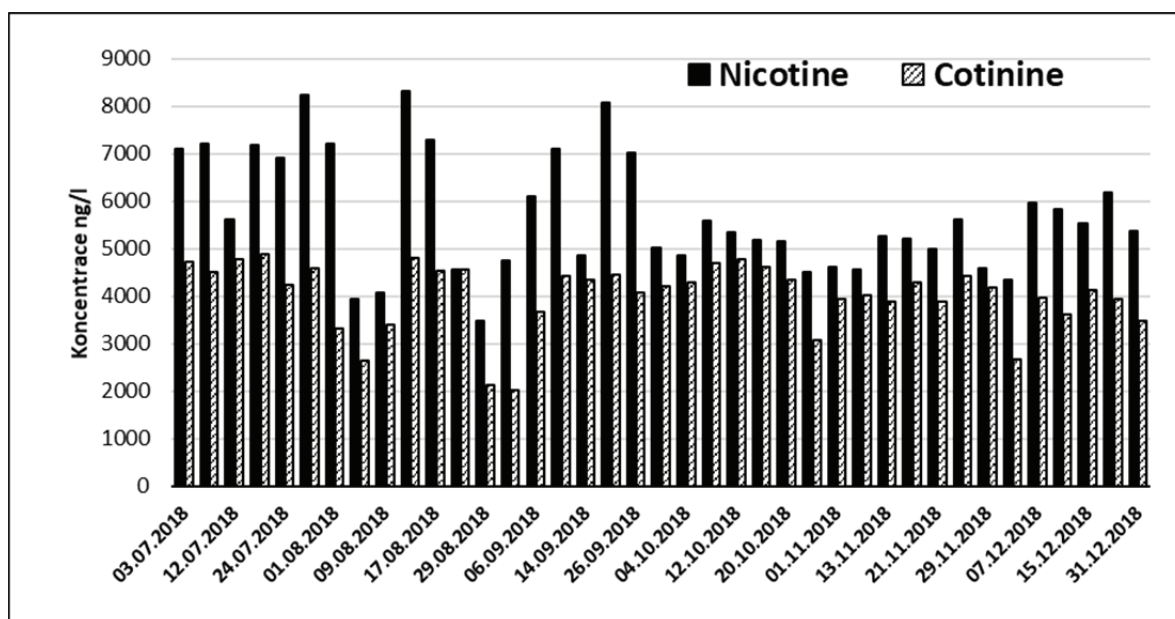
Mezi nově sledované látky patří ethylsulfát, který je vedle ethylsulfát glukuronidu významným metabolitem prokazujícím požití ethanolu (viz obr. 3).



Obrázek 3: Koncentrace metabolitu ethanolu ethylsulfátu na přítoku na ÚČOV Praha

Koncentrace ethylsulfátu jsou relativně velmi nízké, ale to je způsobeno tím, že pouze 0,1 % zkonsumovaného ethanolu je vyloučena močí jako stabilní metabolit ethylsulfát.

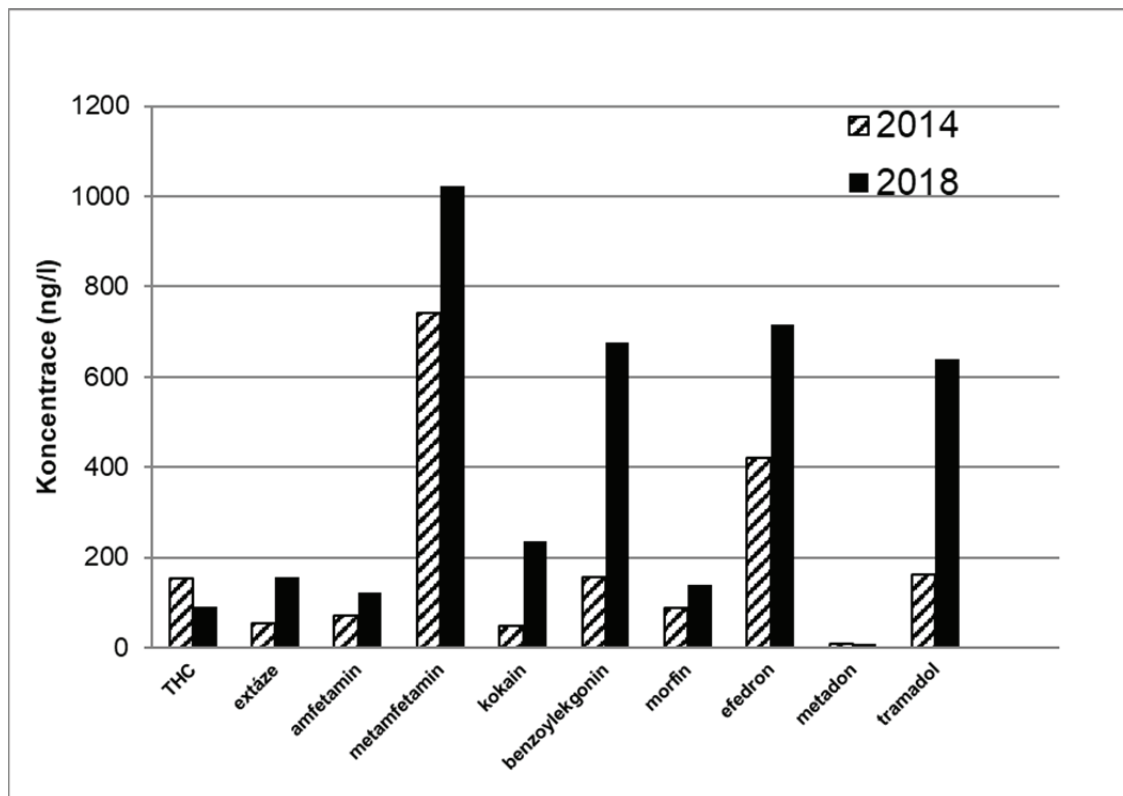
Dalšími nově sledovanými látkami jsou nikotin a jeho metabolity kotinin a trans-3-hydroxykotlinin. V grafu na obr. 4 jsou zobrazeny koncentrace nikotinu a stabilnějšího z obou metabolitů, kotininu.



Obrázek 4: Koncentrace nikotinu a jeho metabolitu kotininu na přítoku na ÚČOV Praha

Zjištěné výsledky se ještě dále zpracovávají, především se počítají odnosy monitorovaných látek. K výpočtům odnosů (spotřeby) monitorovaných látek jsou vedle koncentrací nezbytné průtoky odpadní vody v době odběru vzorků a počet obyvatel napojených na danou kanalizační síť.

V předchozím projektu zaměřeném na podobnou problematiku v rámci celé republiky byla Praha jedním z monitorovaných měst. Na následujícím obrázku (Obr. 5) je porovnání průměrných ročních koncentrací jednotlivých drog na přítoku na ÚČOV v letech 2014 a 2018. Z těchto výsledků by bylo předčasné utvářet jakékoliv závěry. Porovnání odnosu (spotřeby) jednotlivých látek bude jistě přesnější, ale v době přípravy příspěvku nebyly tyto hodnoty pro rok 2018 ještě k dispozici.



Obrázek 5: Porovnání průměrných koncentrací jednotlivých drog v letech 2014 a 2018 (přítok na ÚČOV Praha)

ZÁVĚR

V roce 2018 bylo celkem odebráno a zpracováno více než 300 vzorků a provedeno cca 1100 analýz.

Výsledky jsou postupně zpracovávány, jsou prováděny zpětné přepočty odnosů jednotlivých sledovaných látek jak v dílčích monitorovaných oblastech (jednotlivé stoky pražské kanalizační sítě, tak na přítoku na ÚČOV hlavního města Prahy. Byla vypracována první verze Socioekonomické studie prostorového rozložení obyvatelstva a identifikace rizikových oblastí z hlediska životního stylu obyvatelstva, subdodavatelem této studie je institut ACCENDO – Centrum pro vědu a výzkum, z.ú.

Průběžné informace o projektu jsou k dispozici na:

<https://www.vuv.cz/index.php/cz/resene-projekty/vybrane-projekty>

PODĚKOVÁNÍ

Projekt Čistá voda – Zdravé město. Komunální odpadní voda jako diagnostické medium hlavního města Prahy financuje Hlavní město Praha v rámci Operačního programu Praha – pól růstu ČR, Registrační číslo: CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000378

LITERATURA

- DAUGHTON, C. D. a T. A. TERNES. (1999). Pharmaceutical and personal care products in the environment: Agent of subtle Change? *Environ. Health perspect.*, (107), 907-938.
- DAUGHTON, C.G. (2001). Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev.Environ. contam. toxicology.*, (210), 59 -110.
- FROST, Norbert. (2008). Assessing illicit drugs in wastewater: potential and limitations of a new monitoring approach. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 100 p. EMCDDA insights series, 9. ISBN 92-916-8317-5.
- KASPRZYK-HORDERN, Barbara, Lubertus BIJLSMA, Sara CASTIGLIONI, Adrian COVACI, Pim deVOOGT, Erik EMKE, Félix HERNANDEZ, Christoph ORT, Malcolm REID, Alexander van NUIJS, and Kevin. V. THOMAS, (2014). Wastewater-based epidemiology for public health monitoring. *Water and Sewerage Journal*, 4, pp. 25-26.
- THOMAS, Kevin V. a Malcolm J. REID. (2011). What Else Can the Analysis of Sewage for Urinary Biomarkers Reveal About Communities? *Environmental Science.*, 45(18), 7611-7612. DOI: 10.1021/es202522d. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es202522d>
- ZUCCATO, Ettore, Chiara CHIABRANDO, Sara CASTIGLIONI, (2005). Davide CALAMARI, Renzo BAGNATI, Silvia SCHIAREA a Roberto FANELLI. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor. *Environmental Health: A Global Access Science Source.*, 4(1), 14-. DOI: 10.1186/1476-069X-4-14. ISSN 1476069x. Dostupné také z: <http://www.ehjournal.net/content/4/1/14>

OPTIMALIZACE METODY STANOVENÍ VYBRANÝCH SYNTETICKÝCH DROG V KOMUNÁLNÍCH ODPADNÍCH VODÁCH

Eva Bohadlová, Věra Očenášková, Tereza Šafránková, Václav Janda

Výzkumný ústav vodohospodářský T.G.M., v.v.i., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

ABSTRAKT

Ve VÚV byla optimalizována metoda off-line SPE-LC-MS/MS pro analýzu nízkých koncentrací syntetických katinonů, patřících do skupiny nových psychoaktivních látek, v surové komunální odpadní vodě.

Metoda byla zkoumána na reálných vzorcích odebraných v kanalizační síti Prahy v rámci projektu Čistá voda – zdravé město. Pro SPE extrakci byly vybrány kolonky typu XRDAH506 (500mg/6ml, UCT) a objem vzorku 500 ml.

Měřená výtěžnost metody u 7 analytů vycházela mezi 5 a 112 % v závislosti na analytu. Nejvyšší výtěžnost měl mefedron a metylon, naopak nejnižší výtěžnost poskytoval pentedron.

KLÍČOVÁ SLOVA

analýza odpadních vod, katinony, off-line SPE

ÚVOD

Užívání nelegálních drog je celosvětovým problémem, jejich užívání má za následek vážné zdravotní a sociální dopady nejen na jednotlivce, ale i na celou společnost. Analýzou drog v komunálních odpadních vodách se dá diagnostikovat jejich spotřeba a očekávaný vývoj konzumovaného množství. Touto metodou se dají zjistit i nelegálně konzumované druhy drog v populaci. Tato metoda se jeví jako velice účinná, protože poskytuje výsledky trendů a spotřeby prakticky okamžitě, ne jako metody epidemiologické založené na dotazování se uživatelů, což je časově a administrativně náročné. Analýzy jsou nejčastěji provedeny metodou extrakce na pevnou fázi a kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií (Kvíčalová a Pospíchalová, 2015; Kinyua et al., 2015; van Nuijs *et al.*, 2014).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vzorky použité v této práci byly odebraných v kanalizační síti Prahy v rámci projektu Čistá voda – zdravé město. Byly to směsné vzorky odbírané po dobu 24 hodin a dále skladovány při teplotě 4 °C. Vzorky byly nejprve přefiltrovány přes filtrované dvoustupňovou filtrací, nejprve přes skleněný filtr GF/D (2,7 µm) a poté přes filtr GF/C (1,2 µm) na vakuovém filtračním zařízení. Takto bylo získáno 500 ml filtrátu. Filtrátu bylo upraveno pH na hodnoty 4-5 a byl do něho přidán roztok standardů vybraných drog a roztok interního standardu značených drog.

SPE extrakce probíhala na kolonkách typu XRDAH506, UCT s adsorbentem 500 mg a objemem 6 ml. Kondicionace kolonek byla provedena pomocí metanolu, UHQ vody, acetátového pufru a kyseliny octové. Zachycené analyty byly eluovány elučním činidlem [96 % (DCM:IPA,80:20):4 % NH₃]. Eluát byl v odpařovací jednotce turbopumpou pomocí dusíku vysušen do sucha. Odparek byl rozpuštěn v mobilní fázi, která byla složena z vodného roztoku mravenčanu amonného a methanolového roztoku mravenčanu amonného v poměru 1:1. Takto upravené vzorky byly přefiltrovány pomocí PTFE filtrů do vialek.

Analýza vzorků byla provedena na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 RR s hmotnostním detektorem Applied Biosystem – Sciex 4000 Q Trap s trojitým kvadrupólem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem.

VÝSLEDKY A DISKUZE

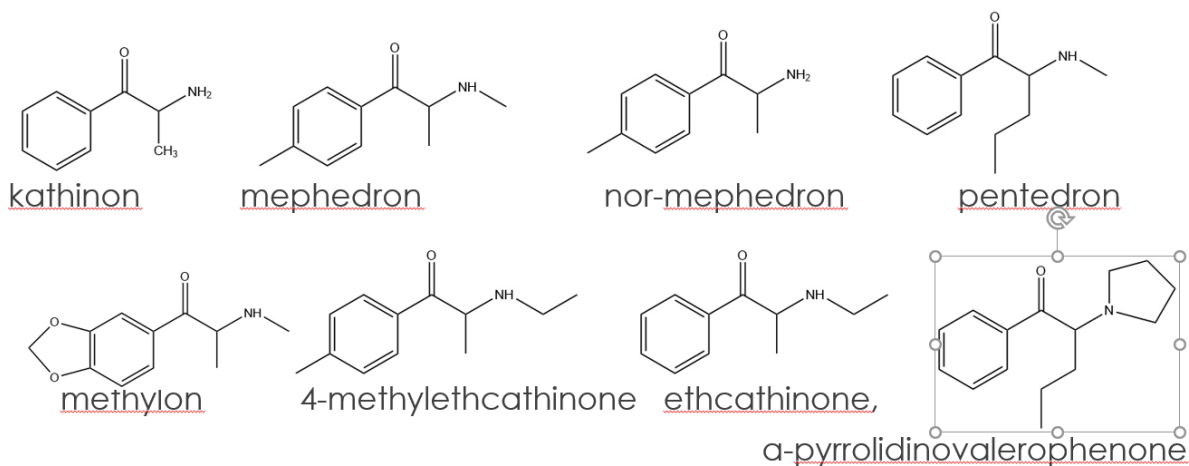
Kontrolní i reálné vzorky byly vyhodnoceny podle nejprve naměřené kalibrační křivky, která je zobrazena v tabulce 1. Měření kontrolních vzorků probíhalo podle očekávání, metoda tedy běžela správně a mohla být dále optimalizována. Koncentrace analytů v reálných vzorcích byly pod mezí stanovitelnosti, to bylo způsobeno jejich nízkou nebo nulovou koncentrací ve vzorcích. Za účelem stanovení zpětné výtěžnosti metody bylo do jednotlivých vzorků přidáno různé množství standardů jednotlivých drog. Zpětná výtěžnost se pohybovala mezi 5 a 112 % v závislosti na analytu, jednotlivé hodnoty jsou uvedeny v tabulce 2. Jednotlivé analyty jsou uvedeny na obrázku 1. U dalších měření v rámci optimalizace by bylo zajímavé zkusit snížit objem a vyzkoušet různé typy SPE kolonek.

Tabulka 1: Naměřené hodnoty jedné z kalibračních křivek

koncentrace ng/ml	4-MEC	alfa-PVP	bk-MDMA	Eth-cat	MMC	nor-MMC	PENT
0,0	0,07	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00
0,5	0,24	0,29	0,11	0,19	0,12	0,21	0,17
1,0	0,77	0,90	0,35	0,70	0,39	0,25	0,62
5,0	5,09	5,42	5,31	5,11	5,14	5,80	5,26
10,0	9,10	10,70	10,40	9,28	10,20	10,60	9,70
20,0	20,30	20,70	20,60	20,50	21,10	20,30	20,50
40,0	40,60	38,10	38,80	40,10	38,50	38,30	39,60

Tabulka 2: Průměrná výtěžnost metody při přidavku standardu 20 ng/l vzorku

	4-MEC	alfa-PVP	bk-MDMA	Eth-cat	MMC	nor-MMC	PENT
Výtěžnost %	63,70	37,79	108,80	78,01	112,70	74,35	5,76
RSD %	19,17	34,40	4,52	37,12	5,05	36,28	46,75



Obrázek 1: Struktury vybraných syntetických katinonů

ZÁVĚR

Metodu se zoptimalizovat nepodařilo a zatím se nejeví jako vhodná pro stanovení nízkých koncentrací nových syntetických drog, které se vyskytují v reálných vzorcích komunálních odpadních vod.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla měřena v rámci projektu Čistá voda – zdravé město. Komunální odpadní vod jako diagnostické medium hlavního města Prahy. Program je financován z Operačního programu Praha – pól růstu ČR. Registrační číslo projektu: CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000378

Odběry vzorků byly realizovány ve spolupráci s PVK a.s.

SEZNAM ZKRATEK

MMC – 4-methylmethcathinone (mephedron)
 nor-MMC – 4-methylcathinone (nor-mephedron)
 PENT – Pentedron
 4MEC – 4-methylethcathinone
 bk MDMA – methylon
 Eth-cat – Ethcathinone
 α -PVP – α -pyrrolidinovalerophenone

LITERATURA

- Kvíčalová M., Pospíchalová D. (aut) (2015): *Nové psychoaktivní látky v České republice: výskyt, rizika a související opatření*. Klinika adiktologie 1. LF UK v Praze a VFN v Praze.
- Kinyua J., Covaci A., Maho W. *et al.* (2015): Sewage-based epidemiology in monitoring the use of new psychoactive substances: Validation and application of an analytical method using LC-MS/MS. *Drug Testing and Analysis* 7(9): 812-818.
- van Nuijs A.L., Gheorghe A., Jorens P.G. *et al.* (2014): Optimization, validation, and the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of new drugs of abuse in wastewater. *Drug Test Anal* 6(7-8): 861-7.

SLEDOVÁNÍ PESTICIDNÍCH LÁTEK VE VYBRANÝCH VODOVODECH V PRŮBĚHU JEDNOHO ROKU

Lenka Bendakovská, Filip Kotal, Alena Moulisová, Hana Jeligová, Adam Vavrouš, František Kožíšek

Státní zdravotní ústav Praha, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10; lenka.bendakovska@szu.cz

SOUHRN

V roce 2017 realizoval SZÚ reprezentativní monitoring pitné vody v ČR na přítomnost 21 pesticidních látek (PL), každé místo bylo odebráno na jaře a na podzim. Výsledky byly částečně prezentovány na konferenci Hydroanalytika 2017. Následně byly na 4 vybraných vodovodech, kde bylo nalezeno více látek nad mez stanovitelnosti, prováděny každý měsíc odběry po dobu jednoho roku, aby se zjistila bližší dynamika sledovaných látek v čase. V místě A byla nalezena PL desethylterbuthylazin, deriváty metazachloru a deriváty metolachloru. V místě B byly nalezeny deriváty metazachloru, deriváty chloridazonu, alachlor ESA, acetochlor ESA a metolachlor ESA. V místě C pak byly nalezeny deriváty chloridazonu, deriváty metolachloru, metazachlor OA a v jednom případě alachlor ESA. V místě D byla nalezena PL atrazin a její derivát desethylatrazin i deriváty metolachloru.

KLÍČOVÁ SLOVA

pesticidní látky; metabolity; pitná voda; znečištění, dynamika výskytu

SUMMARY

In 2017 The National Institute of Public Health realised representative monitoring of presence of 21 pesticide substances (PS) in water conduits in ČR where each sampling site was sampled in spring and autumn. The results were particularly partly presented at the conference of Hydroanalytika 2017. Subsequently were 4 selected water conduits with detected occurrence of more pesticides with values exceeding limit of determination sampled monthly within one year in order to recognize dynamics of monitored substances in time of more properly. At the site A, pesticide of desethylterbuthylazine, metazachlor derivatives and metolachlor derivatives were found. At the site B, metazachlor derivatives, chloridazone derivatives, alachlor ESA, acetochlor ESA and metolachlor ESA were found. At the site C point, chloridazone derivatives, metolachlor derivatives and metazachlor OA were found and in one case alachlor ESA was found. Pesticide of atrazine and its desethylatrazine derivate and metolachlor derivatives were found at the site D.

KEYWORDS

pesticides; metabolism; drinking water; pollution, dynamics of occurrence

ÚVOD

Pravidelné sledování pesticidních látek (PL) se v České republice (ČR) datuje od r. 1990, kdy se začalo podle ČSN 757 111 kontrolovat 10 jednotlivých pesticidních látek (2,4-D, DDT, lindan (HCH), dichlorfenol, hexachlorbenzen, heptachlor, metoxychlor, pentachlorfenol, trichlorfenoly (2,4,6- a 2,4,5-)). Po r. 2000 byly do české legislativy implementovány požadavky směrnice 98/83/ES na pitnou vodu, podle níž mají být sledovány pouze „PL s pravděpodobným výskytem v daném zdroji“. Z této směrnice vyplývá limitní hodnota (LH) pro jednotlivé PL ve výši 0,1 µg/l a pro PL celkem ve výši 0,5 µg/l. Výběr „PL s pravděpodobným výskytem v daném zdroji“ byl a je pro provozovatele vodovodu poměrně problematický, protože dostupnost aktuálních informací o aplikaci PL na konkrétních lokalitách je velmi omezena. Dlouhá léta se proto rozsah rozboru PL odvíjel od (omezených) analytických možností laboratoří.

V roce 2013 se z podnětu některých krajských hygienických stanic, které na základě údajů od ÚZKÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský) samy doporučily seznamy pravděpodobných PL pro daný kraj nebo okres, začaly poprvé ve větším rozsahu sledovat metabolity PL. Následně došlo v r. 2014 k úpravě vyhlášky č. 252/2004 Sb. – metabolity se začaly rozlišovat na relevantní a nerelevantní. V témže roce vydal Státní zdravotní ústav (SZÚ) metodické doporučení pro hodnocení relevantnosti metabolitů PL v pitné vodě, jelikož se jednalo o novou problematiku [1]. Zároveň také výrazně pokročily možnosti laboratorních metod a v pitné vodě se začalo sledovat větší spektrum PL a jejich metabolitů (dle dat z IS PiVO bylo v r. 2018 provedeno cca 237 tisíc analýz 214 různých PL a jejich metabolitů). Prakticky bezproblémový obraz se najednou výrazně změnil, protože dnes je ve vodě detekováno mnohem více PL než do r. 2014. Přibližně u 70 % vodovodů jsou detekovány PL, i když ne ve všech jsou překračovány stanovené limity, nicméně překračování stanovené limitní hodnoty 0,1 µg/l je čtenější než dříve. V roce 2017 PL dokonce zaujaly první místo jako příčina stanovení mírnějšího hygienického limitu, tzv. „výjimky“ z kvality pitné vody.

Přes veškerý pokrok stále ještě nemůžeme v rámci celé ČR hovořit o systematickém a místně specificky zaměřeném přístupu k monitorování PL. Proto Státní zdravotní ústav (SZÚ) v letech 2016 – 2017 realizoval úkol ministerstva zdravotnictví „Pitná voda - cílené vyšetření širšího spektra pesticidů a jejich metabolitů v pitné vodě“. Účelem tohoto projektu bylo zmapování „reprezentativní“ situace ve vybraných veřejných vodovodech v celé ČR [2]. K monitorování bylo vybráno 21 PL či jejich metabolitů, jejichž záchyt se jevil jako nepravděpodobnější. Je nutné si uvědomit, že stanovená limitní hodnota 0,1 µg/l není odvozena toxikologicky, ale na základě předběžné opatrnosti. Překračování tohoto limitu tedy není automaticky spojeno s ohrožením zdraví spotřebitelů. Souběžné výskyty PL a jejich metabolitů (bylo nalezeno až 11 látek z 21 sledovaných látek v jednom vzorku), však dávají této preventivně stanovené limitní hodnotě své opodstatnění, protože schopnost současné toxikologie hodnotit zdravotní riziko směsi většího počtu chemických látek je omezená.

Na základě šetření, které bylo provedeno v roce 2017 ve dvou fázích (jaro – podzim), pokračoval SZÚ v roce 2018 – 2019 v šetření bližší dynamiky sledovaných látek v čase ve 4 vybraných vodovodech, kde bylo nalezeno nejvíce PL nad mez stanovitelnosti. Odběry byly prováděny každý měsíc po dobu jednoho roku. Měsíc srpen byl vynechán z časových důvodů, a proto byl tento srpnový odběr nahrazen v lednu následujícího roku 2019.

METODIKA VÝBĚRU SLEDOVANÝCH ANALYTŮ

Na základě analýzy dat o spotřebě, chování a nálezech pesticidních látek v různých druzích vod bylo k monitoringu navrženo celkem 21 pesticidních látek a jejich metabolitů (viz tabulka 1), které se pro pozitivní záchyt jeví jako nejvíce pravděpodobné. Monitorované byly také již zakázané PL: atrazin (2004) včetně metabolitu desethylatrazin, metabolit PL alachlor (2008) – alachlor ESA a metabolity PL acetochlor (2013) – acetochlor ESA a OA.

METODA STANOVENÍ

Analýza všech sledovaných látek byla provedena jednou metodou za použití HPLC systému Agilent 1290, který byl spojen s hmotnostním spektrometrem typu trojitý kvadrupól (MS/MS) Agilent 6490 vybaveným Jetstream electrospray ionizačním (ESI) zdrojem (Agilent Technologies). Na rozdíl od úvodní etapy monitorování v roce 2017, kdy byl v rámci metody použit přímý nástřik vzorku o objemu 100 µl (čímž bylo dosaženo mezi stanovitelnosti (LOQ) 10 – 50 µg/l), ve druhé etapě jsme využívali přímého nástřiku vzorku 20 µl na kolonu, čímž se LOQ zvýšily, viz tab. 1. Pro vzorkování byly zvoleny polypropylenové vialky, v nichž nedocházelo k sorpci analytů na stěny a k úbytku odezvy. Pro stabilizaci vzorků během odběru byla použita koncentrovaná kyselina octová. Optimalizace podmínek zahrnuje kromě použití polypropylenových vialek a okyselení vzorku také použití interních standardů pro problematické analyty. Podrobnosti o použité metodě jsou uvedeny v samostatné publikaci [2, 3].

Tabulka 1: Přehled sledovaných látek, jejich meze stanovitelnosti (LOQ), směrodatné odchylky (RSD) a limitní hodnoty v pitné vodě.

Analyt	CAS	LOQ (ng/l)	RSD (%)	DLH u nerelevantních metabolitů * (µg/l)
Acetochlor ESA	187022-11-3	200	8,0	-
Acetochlor OA	194992-44-4	200	13	-
Alachlor ESA	142363-53-9	200	5,0	1
Atrazin	1912-24-9	50	5,0	-
Bentazon	25057-89-0	50	8,8	-
Desethylatrazin	6190-65-4	50	24	-
Desethylterbuthylazin	30125-63-4	50	23	-
Hexazinon	51235-04-2	50	5,1	-
Hydroxyatrazin	2163-68-0	50	8,2	2
Chloridazon-desphenyl	6339-19-1	150	3,7	6**
Chloridazon	1698-60-8	50	17	-
Chloridazon-methyl-desphenyl	17254-80-7	50	7,6	6**
Chlortoluron	15545-48-9	50	13	-
Isoproturon	34123-59-6	50	9,9	-
Metazachlor	67129-08-2	60	6,6	-
Metazachlor ESA	172960-62-2	150	5,6	5
Metazachlor OA	1231244-60-2	120	24	5
Metolachlor ESA	171118-09-5	200	9,6	6
Metolachlor OA	152019-73-3	200	7,1	6
S-Metolachlor	87392-12-9	50	8,2	-
Terbuthylazin	5915-41-3	50	21	-

(*) Tam, kde není uvedena žádná hodnota, platí limitní hodnota 0,1 µg/l daná vyhláškou č. 252/2004 Sb. na pitnou vodu.

(**) DLH (doporučená limitní hodnota) platí pro sumu obou látek (chloridazon-methyl-desphenyl a chloridazon-desphenyl) za předpokladu, že hodnota mateřské látky chloridazon bude menší než 0,1 µg/l.

VÝBĚR MONITOROVANÝCH MÍST

Díky výsledkům z prvotní etapy monitorování [2] byly zjištěny 4 vodovody (zde značené jako lokality A, B, C a D), kde pitná voda obsahovala nejvíce PL nad mez stanovitelnosti. Na těchto místech, ležících v oblastech s vysokým podílem zemědělské činnosti, probíhal v průběhu roku 2018 s měsíční frekvencí monitoring 21 PL. Účelem bylo sledování případné dynamiky monitorovaných PL s ohledem na sezónnost pěstební činnosti a aplikaci přípravků na ochranu rostlin v daných lokalitách. Tabulka č. 2 charakterizuje místa odběru.

Tabulka 2: Charakteristika míst

Lokalita (vodovod)	Kraj	Zdroj surové vody	Počet zásobovaných obyvatel
A	Středočeský	Povrchový	44 784
B	Královéhradecký	Podzemní	7 000
C	Královéhradecký	Podzemní	18 945
D	Liberecký	Podzemní	23

VÝSLEDKY

V rámci této etapy monitorování pesticidů a jejich metabolitů v pitné vodě ve čtyřech vybraných vodovodech v průběhu roku 2018 a lednu 2019 bylo odebráno celkem 48 vzorků pitné vody (podzemní zdroje 36 vzorků, povrchový zdroj 12 vzorků). Výsledky měření jsou sumarizovány v tabulce č. 3.

V tabulce č. 3 jsou uvedeny nálezy jednotlivých analytů ve vztahu k mezi stanovitelnosti, limitní hodnotě pro PL 0,1 µg/l dané vyhláškou č. 252/2004 Sb. či doporučené limitní hodnotě u nerelevantních metabolitů. V tabulce je uvedena sumarizace a porovnání výsledků odběrů čtyř stejných míst po dobu 12 měsíců (celkem 48 vzorků).

Tabulka 3: Rozdělení nálezů jednotlivých analytů ve vztahu k mezi stanovitelnosti (LOQ), limitní hodnotě 0,1 µg/l a DLH (u nerelevantních metabolitů).

Analyt	Počet vzorků - nálezy			
	< LOQ µg/l	> LOQ ≤ 0,1 µg/l	> 0,1 µg/l	> DLH * (nerelevantní metabolity) µg/l
Acetochlor ESA	38	0	10	-
Acetochlor OA	48	0	0	-
Alachlor ESA	33	0	15	0
Atrazin	36	0	12	-
Bentazon	48	0	0	-
Desethylatrazin	36	0	12	-
Desethylterbuthylazin	42	6	0	-
Hexazinon	48	0	0	-
Hydroxyatrazin	48	0	0	0
Chloridazon	48	0	0	-
Chloridazon-desphenyl	24	0	24	0
Chloridazon-methyl-desphenyl	24	6	18	0
Chlorotoluron	48	0	0	-
Isoproturon	48	0	0	-
Metazachlor	48	0	0	-
Metazachlor ESA	30	0	18	0
Metazachlor OA	22	0	26	0
Metolachlor ESA	18	0	30	0
Metolachlor OA	43	0	5	0
S-Metolachlor	48	0	0	-
Terbuthylazin	48	0	0	-

(*) DLH – doporučená limitní hodnota (1, 2, 5, resp. 6 µg/l).

Po dobu našeho sledování (1 rok s měsíční frekvencí) byla limitní hodnota 0,1 µg/l překročena jen u jedné mateřské látky, a to u atrazinu (12x) a pouze v odběrovém místě D. Z relevantních metabolitů byl tento limit překročen v případě desethylatrazinu (12x) taktéž v místě D a acetochloru ESA (10x) v místě B. Ve všech případech se jedná o podzemní zdroje.

Z nerelevantních metabolitů bylo nejvíce překročení hodnoty 0,1 µg/l zaznamenáno v případě metolachloru ESA (30x), a to na všech čtyřech odběrových místech. Poté následovaly metazachlor OA (26x) na třech odběrových místech (A, B a C), chloridazon-desphenyl (24x) a chloridazon-methyl-desphenyl (18x) na dvou místech (B a C), metazachlor ESA (18x) na dvou místech (A a B), alachlor ESA (15x) na třech místech (A, B, C) a metolachlor OA (5x) na třech místech (A, C a D). U nerelevantních metabolitů nebyla v žádném vzorku překročena doporučená limitní hodnota.

Deset PL, s výjimkou hydroxyatrazinu se jednalo o mateřské látky a relevantní metabolity, byly ve všech případech pod mezi stanovitelnosti.

V tabulce č. 4 je uveden souhrn výsledků jednotlivých analytů – hodnoty mediánu, maximální hodnoty a počty stanovení s výsledkem nižším než mez stanovitelnosti. Z tabulky vyplývá, že maxima byla v jednotkách mikrogramů naměřena pouze u nerelevantních metabolitů metazachlor OA (3,8 µg/l) a chloridazon-desphenyl (2,6 µg/l). V případě mateřské látky atrazin bylo naměřené maximum v desetinách mikrogramů (0,15 µg/l), stejně jako u relevantních metabolitů acetochlor ESA (0,45 µg/l) a desethylatrazin (0,44 µg/l). V tabulce je uvedena sumarizace a porovnání výsledků odběrů čtyř stejných míst po dobu 12 měsíců (celkem 48 vzorků).

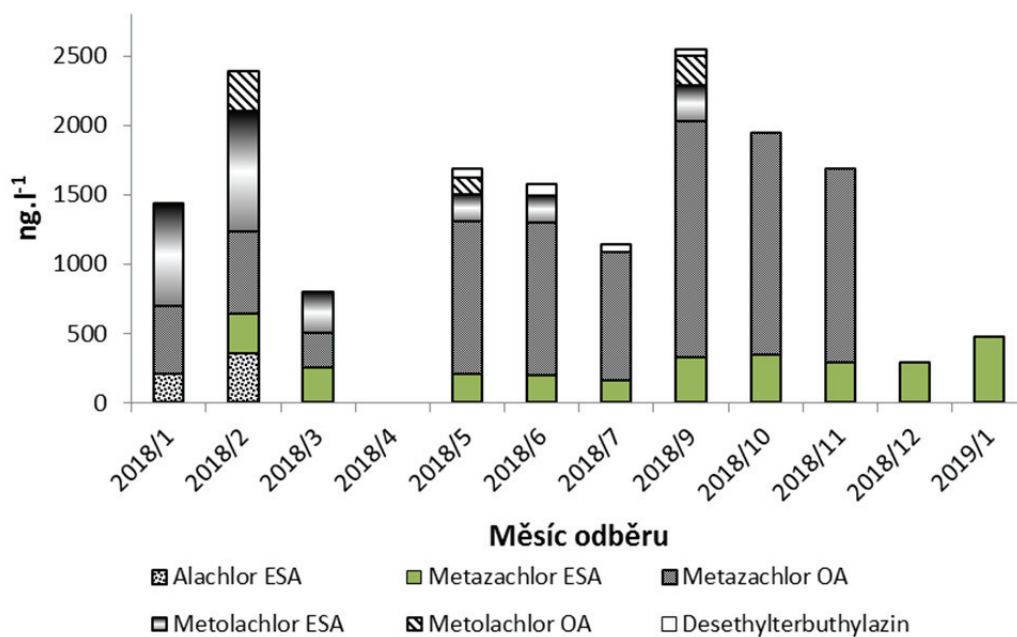
Tabulka 4: Souhrn výsledků jednotlivých analytů (medián, maximum, počet stanovení pod mezí stanovitelnosti /LOQ).

Analyt	Medián > LOQ (µg/l)	Maximum (µg/l)	Místo odběru nálezu maxima	Počet stanovení < LOQ
Acetochlor ESA	0,365	0,450	B	38
Acetochlor OA	0	0	-	48
Alachlor ESA	0,320	0,640	B	33
Atrazin	0,140	0,150	D	36
Bentazon	0	0	-	48
Desethylatrazin	0,255	0,440	D	36
Desethylterbuthylazin	0,062	0,082	A	42
Hexazinon	0	0	-	48
Hydroxyatrazin	0	0	-	48
Chloridazon	0	0	-	48
Chloridazon-desphenyl	1,800	2,600	A	24
Chloridazon-methyl-desphenyl	0,400	0,860	B	24
Chlortoluron	0	0	-	48
Isoproturon	0	0	-	48
Metazachlor	0	0	-	48
Metazachlor ESA	0,335	0,750	B	30
Metazachlor OA	0,554	3,800	B	22
Metolachlor ESA	0,300	0,920	D	18
Metolachlor OA	0,210	0,290	A	43
S-Metolachlor	0	0	-	48
Terbuthylazin	0	0	-	48

Maximální nálezy PL atrazinu (0,15 µg/l) a desethylatrazinu (0,44 µg/l) byly nalezeny v Libereckém kraji (D), maximální nálezy relevantního metabolitu acetochlor ESA (0,45 µg/l) a nerelevantního metabolitu alachlor ESA (0,64 µg/l) byly zjištěny v Královéhradeckém kraji (B). Jelikož atrazin (2004), alachlor (2008) a acetochlor (2013) se již v ČR nesmí používat, jedná se v těchto případech o důsledek staré zátěže.

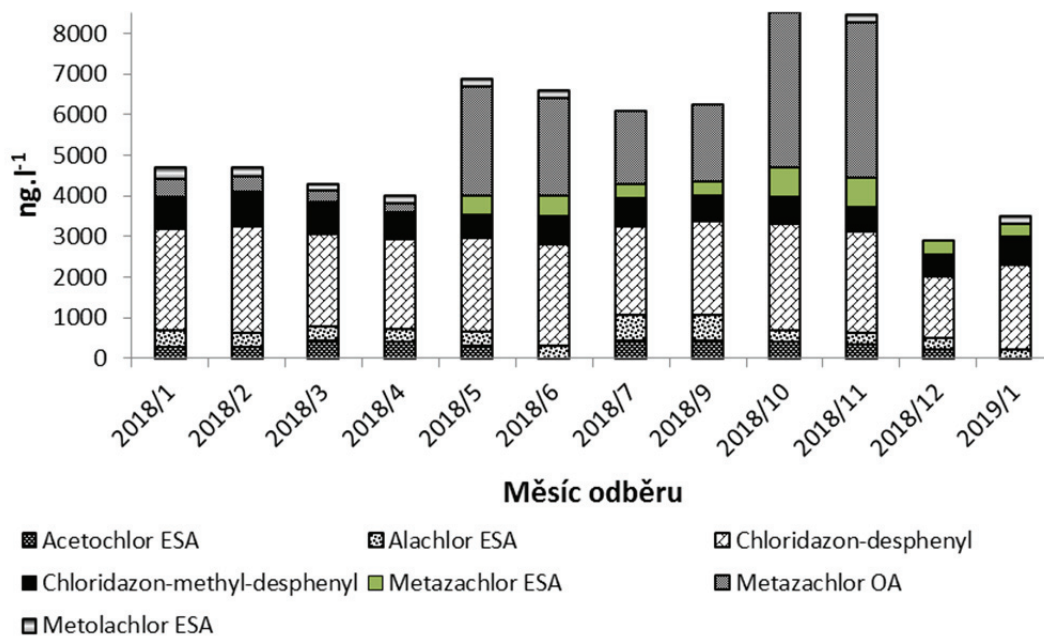
Obrázky 1 – 4 zachycují vývoj koncentrace nalezených PL na konkrétním odběrovém místě během období leden 2018 až leden 2019. Počet nalezených PL v jednom vzorku se pohyboval od 0 do 7 z hodnoceného spektra 21 PL. V odběrových místech A a C bylo každý měsíc nalezeno v jednom vzorku maximálně 5 PL, v místě B maximálně 7 PL v jednom vzorku a v místě D pak nejméně, a to maximálně 4 PL v jednom vzorku; mezi ně jsou počítány i nálezy, které splňují limitní hodnotu 0,1 µg/l. Ostatní PL byly pod LOQ. Uvedené obrázky jsou v jednotkách ng/l z důvodu kvalitnějšího zobrazení dynamiky jednotlivých PL a jejich metabolitů.

Místo A

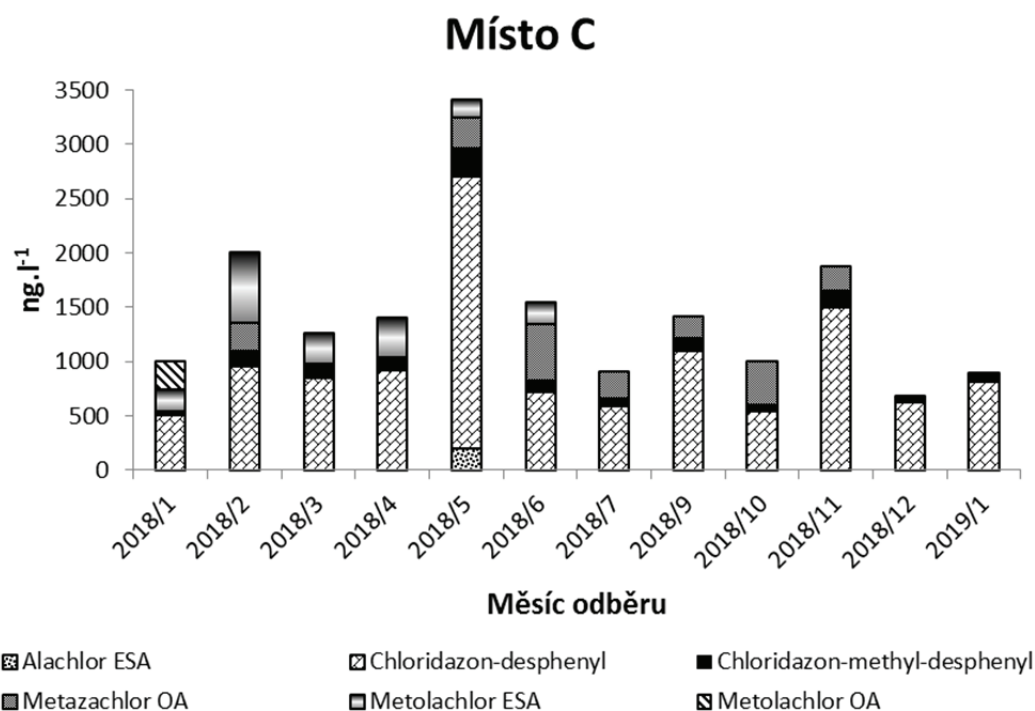


Obrázek 1: Vývoj koncentrace nalezených PL v místě A (2018 – 2019).

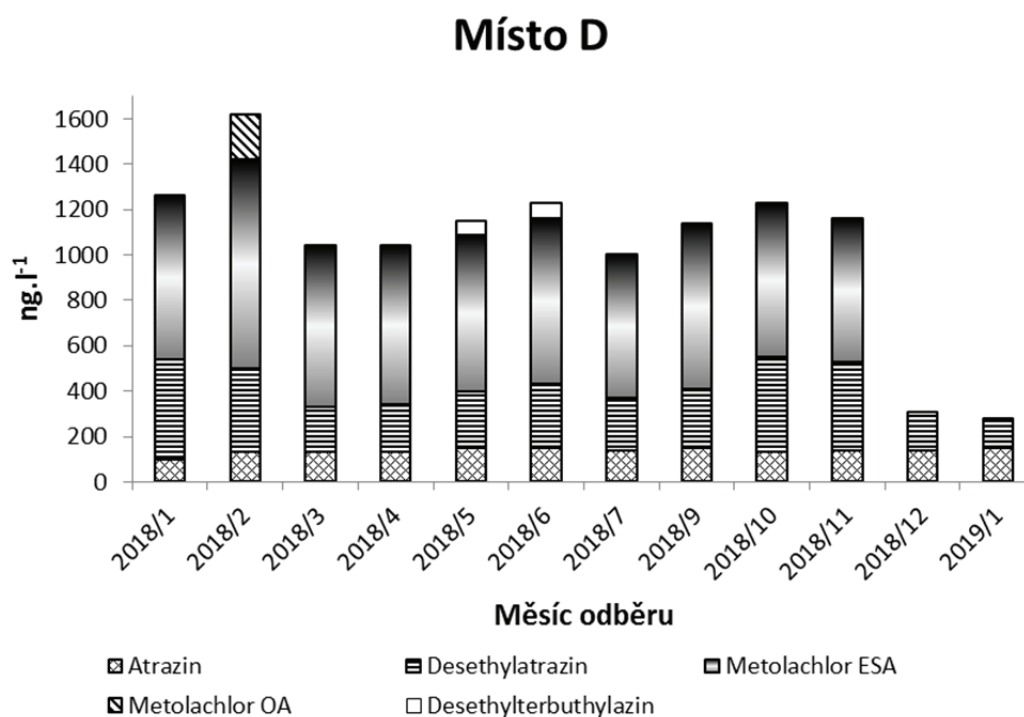
Místo B



Obrázek 2: Vývoj koncentrace nalezených PL v místě B (2018 – 2019)



Obrázek 3: Vývoj koncentrace nalezených PL v místě C (2018 – 2019).



Obrázek 4: Vývoj koncentrace nalezených PL v místě D (2018 – 2019).

V tabulce č. 5 a č. 6 jsou uvedeny konkrétní hodnoty celoročního monitoringu i s nálezy z jara a podzimu předchozího roku pro sledování dynamiky daných PL.

Tabulka 5: Souhrnná dynamika všech výsledků nalezených PL pro místa A a B

Místo - A	2017 /4	2017 /9	2018 /1	2018 /2	2018 /3	2018 /4	2018 /5	2018 /6	2018 /7	2018 /9	2018/ 10	2018/ 11	2018/ 12	2019 /1
PL a jejich metabolity	µg/l													
Acetochlor ESA	0,11	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Alachlor ESA	0,18	0,04	0,21	0,36	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Desethylterbutylazin	0,02	0,03	< Q	< Q	< Q	< Q	0,07	0,08	0,06	0,05	< Q	< Q	< Q	< Q
Chlorotoluron	0,01	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Metazachlor ESA	0,91	0,14	< Q	0,28	0,25	< Q	0,21	0,20	0,16	0,33	0,35	0,29	0,29	0,48
Metazachlor OA	6,6	0,11	0,49	0,59	0,25	< Q	1,1	1,1	0,93	1,7	1,6	1,4	< Q	< Q
Metolachlor ESA	0,38	0,08	0,74	0,87	0,30	< Q	0,19	0,19	< Q	0,26	< Q	< Q	< Q	< Q
Metolachlor OA	0,15	< Q	< Q	0,29	< Q	< Q	0,12	< Q	< Q	0,21	< Q	< Q	< Q	< Q
Terbutylazin	0,02	0,03	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Místo - B	2017 /4	2017 /9	2018 /1	2018 /2	2018 /3	2018 /4	2018 /5	2018 /6	2018 /7	2018 /9	2018/ 10	2018/ 11	2018/ 12	2019 /1
PL a jejich metabolity	µg/l													
Acetochlor ESA	0,40	0,27	0,28	0,29	0,42	0,41	0,31	< Q	0,45	0,42	0,39	0,34	230	< Q
Acetochlor OA	0,12	0,06	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Alachlor ESA	0,42	0,24	0,40	0,35	0,35	0,32	0,34	0,31	0,61	0,64	0,31	0,28	280	0,21
Chloridazon	0,05	0,02	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Chloridazon- desphenyl	0,71	2,9	2,5	2,6	2,3	2,2	2,3	2,5	2,2	2,3	2,6	2,5	1500	2,1
Chloridazon-methyl- desphenyl	0,71	0,71	0,79	0,86	0,78	0,66	0,59	0,69	0,69	0,64	0,66	0,61	540	0,68
Metazachlor ESA	0,40	0,35	< Q	< Q	< Q	< Q	0,45	0,51	0,34	0,34	0,75	0,73	350	0,32
Metazachlor OA	2,4	0,25	0,43	0,39	0,27	0,21	2,7	2,4	1,8	1,9	3,8	3,8	< Q	< Q
Metolachlor ESA	0,19	0,12	0,30	0,21	0,17	0,21	0,20	0,19	< Q	< Q	< Q	0,20	< Q	0,20

< Q = < LOQ – menší než limit kvantifikace

Z tabulky č. 5 je patrné, že v místě A nebyly nalezeny žádné mateřské PL. Relevantní metabolit desethylterbutylazin byl v podlimitních (setinových) koncentracích nalezen pouze v období 2018/5 – 2018/9. Co se týká nerelevantních metabolitů, metazachlor OA (v předchozím sledování (2017/4) naměřen jako PL s vůbec nejvyšší koncentrací) se ve vodě nacházel téměř po celý rok s maximem na podzim (1,7 – 1,4 µg/l, 2018/9 – 2018/11), poté náhle poklesl pod LOQ. Metolachlor ESA se v maximálních koncentracích vyskytoval v prvním čtvrtletí (0,87 µg/l; 2018/2). Alachlor ESA byl nalezen v podlimitních hodnotách jen v lednu a únoru.

V místě B relevantní metabolit acetochlor ESA s výjimkou dvou nálezů pod LOQ vždy převyšoval limitní hodnotu, pohyboval se v rozmezí 0,23 – 0,45 µg/l s maximy na jaře (2018/3 a 2018/4) a v létě (2018/7 a 2018/9). Z nerelevantních metabolitů byly celoročně nalézány metabolity alachlor ESA (0,21 – 0,64 µg/l) s maximem v letních měsících (2018/7 a 2018/9), chloridazon-desphenyl (1,5 – 2,6 µg/l) a chloridazon-methyl-desphenyl (0,54 – 0,86 µg/l), u nichž nebyla pozorována žádná zvláštní dynamika. Metazachlor OA vykazoval nízké hodnoty na začátku roku, poté jeho koncentrace skokově vzrostla a v období 2018/5 – 2018/11 se pohybovala v rozmezí 1,8 – 3,8 µg/l s maximem v říjnu a listopadu.

Tabulka 6: Souhrnná dynamika všech výsledků nalezených PL pro místa C a D

Místo - C	2017 /4	2017 /9	2018 /1	2018 /2	2018 /3	2018 /4	2018 /5	2018 /6	2018 /7	2018 /9	2018/ 10	2018/ 11	2018/ 12	2019 /1
PL a jejich metabolity	µg/l													
Alachlor ESA	0,10	0,09	< Q	< Q	< Q	< Q	0,20	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Chloridazon-desphenyl	0,43	1,4	0,50	0,96	0,85	0,92	2,5	0,72	0,59	1,1	0,54	1,5	0,62	0,81
Chloridazon-methyl-desphenyl	0,28	0,13	0,04	0,13	0,13	0,12	0,26	0,10	0,07	0,11	0,06	0,16	0,07	0,09
Metazachlor ESA	0,09	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Metazachlor OA	0,56	< Q	< Q	0,26	< Q	< Q	0,29	0,52	0,25	0,20	0,41	0,22	< Q	< Q
Metolachlor ESA	0,12	0,06	0,20	0,65	0,28	0,36	0,16	0,21	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Metolachlor OA	< Q	< Q	0,26	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Místo - D	2017 /4	2017 /9	2018 /1	2018 /2	2018 /3	2018 /4	2018 /5	2018 /6	2018 /7	2018 /9	2018/ 10	2018/ 11	2018/ 12	2019 /1
PL a jejich metabolity	µg/l													
Alachlor ESA	0,13	0,06	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Atrazin	0,16	0,15	0,10	0,13	0,13	0,13	0,15	0,15	0,14	0,15	0,13	0,14	0,14	0,15
Desethylatrazin	0,65	0,28	0,44	0,37	0,20	0,21	0,25	0,28	0,23	0,26	0,42	0,39	0,17	0,13
Desethylterbuthylazin	0,0,5	0,03	< Q	< Q	< Q	< Q	0,06	0,0,7	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Metolachlor ESA	0,20	0,39	0,72	0,92	0,71	0,70	0,69	0,73	0,63	0,73	0,68	0,63	< Q	< Q
Metolachlor OA	0,04	< Q	< Q	0,20	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q
Terbuthylazine	0,02	0,02	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q	< Q

< Q = < LOQ – výsledky jsou pod limitou kvantifikace

Z tabulky č. 6 je patrné, že v místě C se vyskytly pouze nerelevantní metabolity. Koncentrace metabolitů chloridazonu v průběhu roku kolísaly, s maximem v květnu 2018 (2,5 µg/l – chloridazon-desphenyl a 0,26 µg/l – chloridazon-methyl-desphenyl). Metolachlor ESA se v nízkých koncentracích vyskytoval pouze v první polovině roku (s maximem v únoru), od července však již hodnoty poklesly pod mez stanovitelnosti. Metazachlor OA se naopak v nízkých koncentracích vyskytl v létě a na podzim.

V místě D byla nalezena jediná mateřská látka, a to atrazin. Spolu s relevantním metabolitem desethylatrazin byly nalezeny v každém vzorku a jejich obsah průběžně kolísal (0,1 – 0,15 µg/l pro atrazin, 0,13 – 0,44 µg/l pro desethylatrazin). Nevysoké koncentrace metolachloru ESA prvních deset měsíců ve sledovaném roce dosahovaly podobných hodnot, s náhlým prosincovým poklesem pod mez stanovitelnosti.

DISKUSE

V roce 2018 se SZÚ věnoval sledování dynamiky 21 PL ve čtyřech vodovodech, kde byl z předchozího sledování zjištěn nejvyšší záchyt těchto PL. Sledování dynamiky probíhalo jen u těch z nich, které byly nad limitou kvantifikace po celý rok. Mezi 21 sledovaných látkami bylo 10 PL pod mezí stanovitelnosti (acetochlor OA, bentazon, hexazinon, hydroxyatrazin, chloridazon, chlorotoluron, isoproturon, metazachlor, S-Metolachlor, terbuthylazin), která se nám v této etapě monitorování zvýšila a pohybovala se od 50 do 200 ng.l⁻¹.

V jediném povrchovém zdroji, odběrovém místě A, byl v období květen až září prokázán relevantní metabolit desethylterbuthylazin (maximum v červnu), což může být spojeno s aplikací mateřské látky terbuthylazin (použití na kukuřici). Dále zde byly nalezeny pouze nerelevantní metabolity. Koncentrace metazachloru OA postupně narůstala, s dosaženým maximem v září (1,70 µg/l), poté hodnoty v prosinci poklesly pod LOQ; vysvětlením může být postřik polí s řepkou ozimou přípravkem obsahujícím metazachlor. Metolachlor ESA se vyskytoval spíše v první půli roku, s maximem v únoru. Nicméně koncentrace PL se v povrchové vodě během srážko-odtokových epizod mění v řádu desítek minut, takže běžný čtyřtýdenní monitoring nemůže odhalit detailní dynamiku jejich vyplavování [4].

V odběrovém místě B byl s výjimkou dvou stanovení pod LOQ v nadlimitní koncentraci s maximem na jaře a v létě prokázán relevantní metabolit acetochlor ESA; jelikož mateřská látka acetochlor je zakázaná, jedná se o vyplavování z půdního horizontu. I zde byly dále nalezeny pouze nerelevantní metabolity. Celoročně byly prokázány metabolity chloridazon-desphenyl a chloridazon-methyl-desphenyl (mateřská látka chloridazon se

používá k ošetření cukrové řepy), jejich suma ve všech případech převyšovala hodnotu 2 µg/l. Koncentrace metazachloru ESA a OA se v květnu prudce zvýšila, shodně dosáhla maxima v měsíci říjnu a listopadu (0,75 – 0,73, resp. 3,8 µg/l), vysvětlením může být stejně jako v místě A postřik polí s řepkou ozimou. Metolachlor ESA byl v nízkých koncentracích nalézán převážně v první polovině roku. Jedná se o oblast s vysokým podílem zemědělské činnosti, proto zde bylo nalezeno o něco více PL a ve vyšších koncentracích.

V místě C byly nalezeny pouze nerelevantní metabolity. Koncentrace derivátů chloridazonu během roku kolísaly, s maximem v květnu. Metolachlor ESA byl v nízkých koncentracích nalézán jen v první polovině roku, od července již byly všechny hodnoty pod LOQ. Od jara do podzimu (2018/5 – 2018/11) se v nevysokých koncentracích ve vodě vyskytoval metazachlor OA.

V místě D byly po celý rok nalézány nadlimitní hodnoty mateřské látky atrazin a relevantního metabolitu desethylatrazin (obě již zakázané látky), jejichž koncentrace průběžně kolísaly v důsledku vyplavování z půdního horizontu. Metolachlor ESA dosahoval v průběhu roku podobných nevysokých koncentrací, v posledních dvou odběrech už se však ve vodě nevyskytl. Jeho nálezy ukazují na použití přípravku proti plevelům v kukuřici seté.

Co se týká celkového počtu nalezených PL v jednom zdroji v průběhu roku, můžeme konstatovat, že v odběrových místech A (jediný povrchový zdroj) a C bylo nalezeno 6 PL, v místě B bylo prokázáno 7 PL a v místě D pak 5 PL.

Ve všech odběrových místech byla prokázána pouze jediná PL – metolachlor ESA (mateřská látka S-metolachlor se používá k ošetření kukuřice), a to především v první polovině roku.

Celoročně se vyskytovaly PL alachlor ESA (A), chloridazon-desphenyl a chloridazon- methyl-desphenyl (B, C), atrazin a desethylatrazin (D).

Z výsledků vyplývá, že limitní hodnota 0,1 µg/l pro mateřské látky a jejich relevantní metabolity byla překročena pouze u acetochloru ESA (B), atrazinu a desethylatrazinu (D). V žádném vzorku pak nebyla překročena doporučená limitní hodnota u nerelevantních metabolitů; hodnota 0,1 µg/l však byla s výjimkou 5 nálezů PL chloridazon-methyl-desphenyl (C) překročena ve všech případech.

Získané výsledky některých PL a jejich metabolitů jsou velmi podobné výsledkům nalezeným v literatuře [5].

Co se týče struktury zdroje, v povrchovém zdroji byly nejčastěji nalezeny nerelevantní metabolity metazachlor OA a ESA a metolachlor ESA, z relevantních metabolitů desethylterbuthylazin. V podzemních vodách se kromě výše uvedených vyskytovaly i relevantní metabolity acetochlor ESA a desethylatrazin, z nerelevantních metabolitů pak alachlor ESA, chloridazon-desphenyl a chloridazon-methyl-desphenyl. S podzemním zdrojem je spojen i ojedinělý nález mateřské látky – atrazinu.

Opět byla prokázána určitá geografická a časová souvislost výskytu PL v závislosti na pěstební činnosti některých plodin. Nerelevantní metabolity metazachloru (účinná látka v POR používaných k ošetření řepky olejky ozimé) metazachlor OA a ESA se ve vysokých koncentracích objevily v lokalitách, kde se tato plodina pěstuje (odběrová místa A a B). Nerelevantní metabolity chloridazon-desphenyl a chloridazon-desphenyl-methyl se zase nacházejí v lokalitách, kde se pěstuje cukrová řepa (místo B a C), a to v podzemních zdrojích.

Bohužel musíme konstatovat, že jsou dosud nalézány pesticidní látky (či jejich metabolity), jejichž použití bylo zakázáno před 10 a více lety (atrazin v r. 2004, alachlor v r. 2008 a acetochlor v r. 2013), a to i v koncentracích převyšujících limitní hodnotu. To ukazuje jednak na dlouhou dobu perzistence těchto látek, jednak na staré lokální zátěže. Jde o látky, které se užívaly především k ošetření technických plodin kukuřice a řepky.

Četnější vzorkování přináší přesnější výsledky o výskytu a množství pesticidů a jejich metabolitů v pitné vodě. Obsah těchto látek totiž během roku výrazně kolísá v závislosti na různých faktorech – jaká PL, v jakém množství a v jakém období byla aplikována, plodina, na kterou je aplikována, vlastnosti půdy (např. obsah organické hmoty, pH, salinita), množství a charakter srážek atd. Z tohoto důvodu by měl mít výrobce vody k dispozici přesné informace o aplikaci PL v blízkosti vodních zdrojů (ideálně formou spolehlivé elektronické evidence).

ZÁVĚR

Zvýšený výskyt reziduí PL v pitné vodě s sebou nese řadu problémů a rizik nejen pro konzumenty pitné vody, ale i pro její výrobce. Naše sledování potvrdilo již známé skutečnosti, že pro vodu jsou riziková především rezidua PL, které se používají pro ošetření technických plodin řepky a kukuřice (metazachlor, metolachlor) a cukrové řepy (chloridazon). Způsob jejich aplikace umožňuje snadný transport do půdního profilu, kde dochází k tvorbě metabolitů, které mohou kontaminovat povrchové i podzemní zdroje. Vzhledem k podobnosti v dynamice vyplavování chloracetanilidových PL z půdního profilu můžeme zřejmě již předem počítat s tím, že si v případě metazachloru a metolachloru, které mezi ně patří, vytváříme další budoucí „starou“ zátěž jako v případě alachloru a acetochloru.

Aby se tak nestalo, je potřeba přijmout taková preventivní opatření k ochraně vodních zdrojů, která by zamezila či zmírnila jejich kontaminaci PL. Mělo by se jednat především o změny ve způsobu hospodaření v ochranných

pásmech vodních zdrojů, např. formou podpory ekologického zemědělství. Nelze totiž donekonečna spoléhat na to, že tento problém vyřeší provozovatel vodovodu za pomoci nákladných technologií úpravy vody.

LITERATURA

- [1] Metodické doporučení SZÚ – Národního referenčního centra pro pitnou vodu pro hodnocení relevantnosti metabolitů pesticidů v pitné vodě. SZÚ, Praha 2014. Dostupné online: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/metodicke-doporuceni-pro-hodnoceni-relevantnosti-metabolitu>.
- [2] Moulisová A., Bendakovská L., Kožíšek F., Vavrouš A., Jelíková H., Kotal F., Pesticidy a jejich metabolity v pitné vodě: jaký je současný stav v České republice? *Vodní hospodářství*, 68(7): 4-10, 2018.
- [3] Kotal F., Vavrouš A., Moulisová A. a kol. Výsledky první etapy národního monitorování pesticidů a jejich metabolitů v pitné vodě v České republice. In: Sýkora V. a Kujalová H. (eds.) *Sborník 7. konference HYDROANALYTIKA 2017* (Hradec Králové, 12. – 13. 9. 2017). Vydal CSlab s.r.o., Praha 2017. Str. 69-76.
- [4] Dobiáš J. a kol. *Dynamika vyplavování pesticidních látek v povodí Čechtického potoka*, 2018. Dostupné online: <https://www.vtei.cz/wp-content/uploads/2018/08/5925-VTEI-Dynamika-vyplvovani-pesticidnich.pdf>.
- [5] Kodeš V., *Výskyt a chování pesticidů v podzemních vodách ČR*. 22. konference Ústředního monitoringu ZDRAVÍ A ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ, Milovy 2017. Dostupné online: http://www.szu.cz/uploads/documents/szu/akce/materialy/10.10.2017/Kodes_chmu.pdf?highlightWords=pitn%C3%A1+voda.

METODY STANOVENÍ NIKOTINU A JEHO METABOLITŮ A ETHYLSULFÁTU V ODPADNÍ VODĚ

Danica Pospíchalová, Diana Marešová, Tereza Šafránková, Věra Očenášková

Výzkumný ústav vodohospodářský T.G.M., v.v.i.

ÚVOD

Epidemiologie odpadních vod byla navržena v roce 2001 [1] ke sledování koncentrace nelegálních drog a jejich metabolitů v odpadních vodách přitékajících do komunálních čistíren odpadních vod, do kterých se zmíněné sloučeniny dostávají z moče konzumentů drog cestou kanalizační sítě. Poprvé byla použita v roce 2005 ke sledování kokainu v Itálii [2]. Postupně byl přístup aplikován na sledování dalších nezákonných drog jako např. heroin, kanabis nebo stimulantů na bázi amfetaminu [3-6]. V České republice proběhlo např. sledování v rámci projektu Dragon [7], byly sledovány metamfetaminy, kokain a jeho metabolity, opioidy, LSD, buprenorfin, metadon a jeho metabolit EDDP, efedrin a pseudoefedrin, tramadol a nor-THC s využitím metodiky vyvinuté ve VÚV TGM [8].

Výhodou epidemiologie odpadních vod je, že je možno získat informace od velkého vzorku populace rychle a anonymně. Komunální odpadní voda je komplexní směs chemických látek včetně lidských metabolických produktů. Kvantitativní měření těchto specifických metabolických reziduí (biomarkerů) v odpadní vodě dovoluje získat informace o životním stylu obyvatel dané oblasti. Epidemiologie odpadních vod tak poskytuje objektivní okamžitou informaci o xenobiotikách užívaných obyvateli a umožňuje sledovat látky ohrožující zdraví populace [9]:

- Nelegální drogy a léčiva
- Kontaminanty vznikající z produktů osobní péče
- Patogeny
- Expozici chemickými látkami
- Markery některých chorob

S pokračujícím výzkumem se epidemiologie odpadních vod může stát velmi efektivní cestou ke zlepšení monitoringu zdraví populace. Její rozšíření je podmíněno mnoha faktory např. vývojem vzorkovací techniky a dostupností moderní analytické techniky. Dalšími důležitými faktory je znalost lidského metabolismu sledovaných xenobiotik a charakteristických údajů kanalizační sítě (počet obyvatel v území obsluhovaném kanalizační sítí, průtok odpadní vody).

Na základě literatury a dřívějších prací byly vybrány další skupiny látek, na jejichž zavedení se pracuje. Jedná se o nikotin a jeho metabolity, metabolity alkoholu a kationy.

Analýza odpadních vod je velmi slibný způsob k monitorování legálních stimulantů, jako je nikotin a jeho metabolity. Avšak koncentrace těchto látek značně kolísá v průběhu roku a často dosahuje velmi nízkých hodnot. Je to způsobeno hlavně nestabilitou nikotinu v odpadní vodě [11]. Proto se sledují hlavně stabilní metabolity – cotinine a trans-3'-hydroxycotinine. V lidském těle je nikotin metabolizován na cotinine (70-80 %) a nicotine N'oxide (4-7 %). Cotinine je potom dále metabolizován na další submetabolity tj. jenom 10-15 % zkonsumovaného nikotinu je vyloučeno jako cotinine [11]. Část nikotinu přechází do moči nemetabolizována. Nikotin se ale může dostávat do odpadní vody nejen s močí, ale i oplachem z nedopalků cigaret a popela [12,13]. Dalším zdrojem nikotinu je substituční léčba (nikotinové náplasti a žvýkačky) a elektronické cigarety [14]. Analýza nikotinu v odpadní vodě není specifická a nevystihuje nebezpečnou konzumaci tabáku. Proto se pro kvantifikaci nikotinu v některých studiích využívají např. alkaloidy anabasine a anatabine, které jsou specifické pro sušený tabák a stanovují se spolu s nikotinem a cotininem jako biomarkery pro konzumaci tabáku v odpadní vodě [14].

Alkoholické nápoje jsou jednou z nejpobulárnějších látek ve společnosti s obsahem psychoaktivní sloučeniny ethanol. Ethanol je v játrech oxidován především na acetaldehyd (90-95 %). Malá část (<0,1 %) přechází na ethylsulfát (EtS) a ethylglucuronid [29]. Ethylglucuronid není vhodný jako biomarker v odpadních vodách, protože je v nich velmi nestabilní [30]. Ethylsulfát je specifický biomarker pro monitorování spotřeby alkoholu. EtS je metabolit ethanolu, který indikuje nedávnou konzumaci alkoholu s dobou detekce do 48 hodin u zdravých jedinců a je stabilní v odpadní vodě [30].

MOŽNOSTI STANOVENÍ

Ke stanovení nikotinu a jeho metabolitů se nejvíce používají přístroje LC-MS/MS [11,13-20], výjimečně LC-QTOF [21] nebo hybridní MS Q-Exactive s vysokým rozlišením [22-25].

Detekce a kvantifikace se provádí s hmotnostním detektorem typu trojitého kvadrupolu s ionizací v pozitivním modu ESI+.

Odpadní vody jako složitá matrice obsahují velké množství koeluuujících sloučenin, které mohou ve velké míře ovlivňovat ionizaci sledovaných sloučenin. Proto se před extrakcí přidávají ke vzorku odpadní vody deuterované izomery stanovených analytů a kvantifikace se provádí metodou interního standardu [11-28].

Ke zvýšení citlivosti stanovení a čištění se používá prekoncentrace vzorku extrakcí na pevné fázi (SPE) v zapojení on-line [25-27] nebo off-line [11,13,15-24, 28]. Používají se kolony Oasis HLB [13,19-21,26-29], Oasis MCX [15], StrataX [14]. V on-line SPE kolonka Hypersil Gold [23-25].

Stanovení nikotinu a jeho metabolitů se provádí většinou s kolonami s reverzní fází C18 [11,13-28] a středně polární mobilní fází, která obsahuje organickou fázi (nejčastěji acetonitrile nebo methanol) a vodnou fázi (voda s přísadkou mravenčanu nebo octanu amonného v proměnlivém poměru podle nastaveného programu gradientu).

Ke stanovení ethylsulfátu v odpadní vodě se používá metoda kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem s trojitým kvadrupolem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem v negativním modu (ESI-) [29-37].

EtS je polární sloučenina a na tradičních kolonách C18, C8 s reverzní fází je málo zadržován. Proto se rozšířilo jeho stanovení pomocí iontově párové chromatografie. Používají se iontově párová činidla: 5 mM dibutylamonium acetát [24], 7mM dihexylamonium acetát [14,25]. Používané mobilní fáze jsou voda a methanol. Ionově párové činidlo se přidává do jedné nebo obou fází.

Úspěšně byla ke stanovení EtS použita kolona Synergi Polar-RP (polar endcaped phenylpropyl reverzní fáze) [33,34]. K eluci se používá voda s 0,1 % HCOOH a acetonitril. Ke zlepšení ionizace se za kolonu přidává acetonitril.

V poslední době se vyrábějí inertní kolony s navázaným trifunkčním alkylovým ligandem C18, který podporuje retenci polárních sloučenin a eliminuje potřebu přísadky iontových párů [27,31,32]. Jsou to např. Kolony: Atlantis T3, nebo Chrompack Inertsil ODS-3 (Varian). Používají se s mobilními fázemi voda s 0,1 % HCOOH a acetonitrile. S post column přísadkou acetonitrilu ke zvýšení ionizace.

Stanovení ethyl sulfátu se dá provádět i s HILIC kolonami, např. SeQuant ZIC-HILIC (Merck) a mobilními fázemi 5 mM octan amonný (pH 6,8) a acetonitril [35].

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Zpracovávají se 24 hodinové kompozitní vzorky odebírané na nátok na čistírnu komunálních odpadních vod.

Po odběru se vzorky uchovávají v chladu a temnu. Pokud nelze vzorek analyzovat do 72 hodin po odběru, vzorek se zmrazí a do vlastní analýzy se skladuje při teplotě $-20 \pm 4^\circ\text{C}$.

Před vlastním stanovením se vzorky odstředí (10 minut, 4500 ot./min.) a ze vzorku se odstraní pevné částice filtrací přes jednorázové membránové filtry o porozitě $0,45 \mu\text{m}$. Po přísadce směsného roztoku vnitřních standardů je vzorek připraven k LC-MS/MS analýze s on-line SPE prekoncentrací (nikotin a jeho metabolity) nebo s nástřikem $5 \mu\text{l}$ vzorku (ethylsulfat).

Stanovení nikotinu a jeho metabolitů

Podkladem pro stanovení nikotinu a jeho metabolitů (cotinin a trans-3'-hydroxycotinin) byla již dříve ve VÚV zavedená metodika stanovení nelegálních drog a jejich metabolitů [8].

Přefiltrovaný vzorek odpadních vod se před vlastním stanovením ředí demineralizovanou vodou (10x) z důvodu omezení matričního efektu. Po přísadce směsného roztoku vnitřních standardů je vzorek analyzován metodou LC-MS/MS s on-line SPE prekoncentrací (1 ml vzorku).

Základní údaje podmínek měření

- kapalinový chromatograf Agilent 1200 RR s binárním čerpadlem, degaserem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems–Sciex 4000 Q Trap s trojitým kvadrupólem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem.
- Autosampler GX-271 Aspec (Gilson)
- SPE kolona: Hypersil Gold $20 \times 2,1 \text{ mm}$, $12 \mu\text{m}$ (Thermo Scientific)
- Předkolona: Security guard cartridge AQC18 $4 \times 20 \text{ mm}$ (Phenomenex)
- Analytická kolona: Synergi Hydro – RP80A ($150 \times 2,00 \text{ mm}$, $4 \mu\text{m}$) (Phenomenex)
- Mobilní fáze A – vodný roztok mravenčanu amonného $c = 5 \text{ mmol/l}$
- Mobilní fáze B - roztok mravenčanu amonného v methanolu $c = 5 \text{ mmol/l}$
- Průtok mobilní fáze $300 \mu\text{l/min}$.

Tabulka 1: Vybrané diagnostické ionty používané při stanovení

Analyt	MRM přechody (m/z)		DP (V)	EP (V)	CE (V)	CX (V)
	Q1	Q3				
COT-D3	180,1	80,1	41	10	41	4
COT	177	80,1	66	10	33	4
	177	98,1	66	10	31	6
NIC-D4	167,3	84,1	56	10	33	6
NIC	163,3	132,1	51	10	21	8
	163,3	130,1	51	10	29	8
T3H-COT-D3	196,1	80,2	76	10	47	4
T3H-COT	193,3	80,1	56	10	41	4
	193,3	134,1	56	10	27	10

Vysvětlivky:

Q1.....prekurzor

Q3.....produktový ion

DP.....deklastrační potenciál

EP.....vstupní potenciál

CE.....kolizní energie

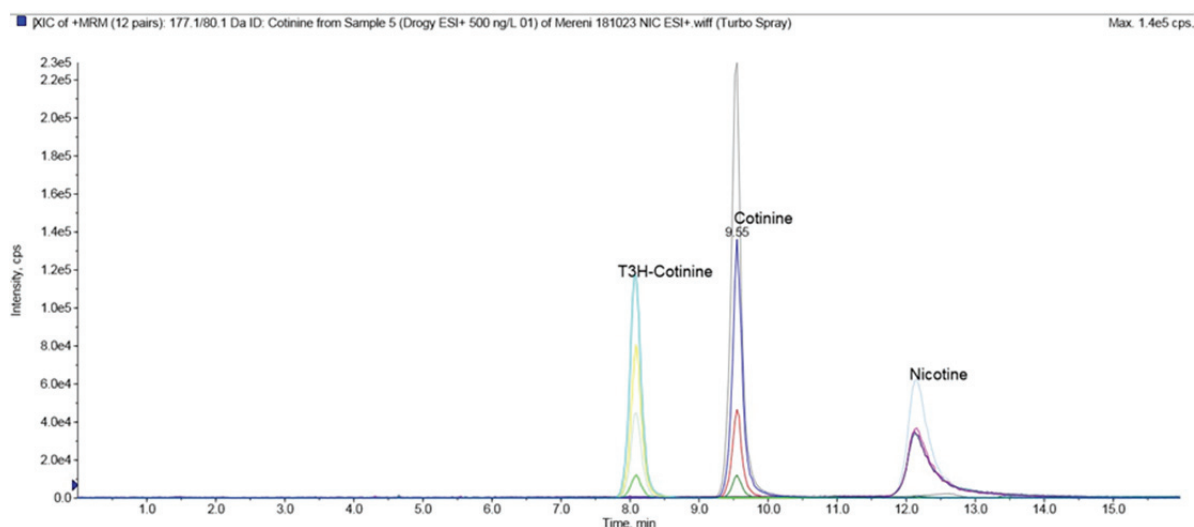
CX.....výstupní potenciál na kolizní cele

Meze detekce (LOD) a kvantifikace Limity detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ) byly experimentálně stanoveny z on-line analýzy spikované UHQ vody jako koncentrace analytu, která má poměr signál/šum 3 a 10. Reprodukovatelnost metody byla vypočítána jako relativní standardní odchylka (RSD) deseti opakování analýzy UHQ vody s přidavkem směsi standardů o výsledné koncentraci 500 ng/l. Vypočítané hodnoty jsou uvedeny v tabulce

V odpadních vodách se meze detekce (LOD) pohybují od 11,2 ng/l do 89,3 ng/l podle dané látky. V UHQ (ultra high quality – ultra čistá) vodě a povrchové vodě se meze detekce (LOD) pohybují od 2,7 ng/l do 36,1 ng/l podle dané látky. Hodnoty LOD jednotlivých látek pro čisté vody jsou uvedeny v tabulce 1, pro odpadní vody v tabulce 2.

Tabulka 2: Kontrolní parametry analytické metody: LOD, LOQ a RSD (n=10, 500 ng/l)

Analyt	LOD	LOQ	RSD
	[ng/l]	[ng/l]	%
NIC	36,1	120	29,5
COT	3,4	11,5	13,2
T3H-COT	2,7	9	5,4

**Obr. 1 Ukázka XIC chromatogramu nicotine, cotinine a T3H-cotinine (je zobrazen prekurzorový, produktový)**

Stanovení ethylsulfátu

Podkladem pro postup byla metoda prezentovaná Li et al. 2011 [37]. Pracovní rozsah pro ethylsulfat je 1-100 µg/l.

K přefiltrovanému vzorku odpadních vod se před vlastním stanovením přidá roztok vnitřního standardu a vzorek je analyzován metodou LC-MS/MS s přímým nástřikem vzorku na kolonu (5 µl)..

Základní údaje podmínek měření

- kapalinový chromatograf Agilent 1200 RR s binárním čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplerem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems–Sciex 4000 Q Trap s trojitým kvadrupólem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem.
- Předkolona: Security guard cartridge AQC18 4 x 20 mm (Phenomenex)
- Analytická kolona: Synergi Hydro – RP80A (150 x 2,00 mm, 4 µm) (Phenomenex)
- Mobilní fáze A – 10 mM vodný roztok octanu amonného, pH 7,6
- Mobilní fáze B - ACN : MeOH (1:1)
- Průtok MF 400 µl/min
- Nástřik 5 µl

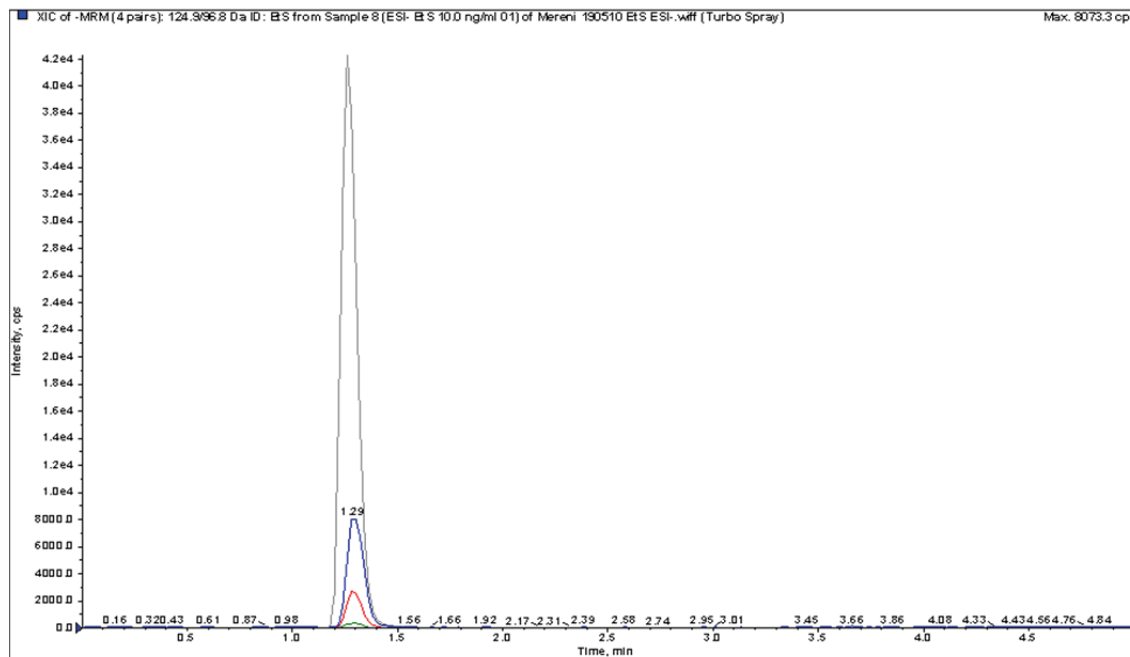
Pro ukázkou je na obr. 2 uveden chromatogram standardu ethyl-sulfate. Je zobrazen prekurzorový, produktový ion a vnitřní standard.

Tabulka 3: Vybrané diagnostické ionty používané při stanovení

Analyt	MRM přechody (m/z)		DP (V)	EP (V)	CE (V)	CX (V)
	Q1	Q3				
EtS – D5	129,9	97,8	-40	-10	-22	-5
EtS	124,9	96,8	-35	-10	-22	-5
EtS 2	124,9	79,9	-35	-10	-44	-13
EtS 3	124,9	97,8	-35	-10	-42	-15

Vysvětlivky:

- Q1.....prekurzor
- Q3.....produktový ion
- DP.....deklastrační potenciál
- EP.....vstupní potenciál
- CE.....kolizní energie
- CX.....výstupní potenciál na kolizní cele



Obr. 2 Ukázka XIC chromatogramu ethylsulfátu
(je zobrazen prekurzorový, produktový ion a vnitřní standard)

Meze detekce (LOD) a kvantifikace Limity detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ) byly stejně jako u nikotinu a jeho metabolitů experimentálně stanoveny z on-line analýzy spikované UHQ vody jako koncentrace analytu, která má poměr signál/šum 3 a 10. Reprodukovatelnost metody byla vypočítána jako relativní standardní odchylka (RSD) deseti opakování analýzy UHQ vody s přidavkem ethylsulfátu o výsledné koncentraci 1 ng/ml a 100 ng/ml. Vypočítané hodnoty jsou uvedeny v tabulce

Tabulka 4: Kontrolní parametry analytické metody: LOD, LOQ a RSD (n=10)

Analyt	LOD	LOQ	RSD 1 ng/ml	RSD 100
	[ng/ml]	[ng/ml]	%	%
ethylsulfát	0,5	1,3	6,9	5,5

ZÁVĚR

Cílem práce bylo vypracovat metodiky stanovení nikotinu a jeho metabolitů cotininu a trans-3'-hydroxycotininu a metabolitu ethylalkoholu ethylsulfátu v odpadní vodě

Stanovení bylo prováděno kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí po separaci a zakoncentrování analytů extrakcí tuhým fází v on-line uspořádání (nikotin a jeho metabolity), nebo s nástřikem 5 µl vzorku na kolonu (ethylsulfát).

Metodou byly zpracovány vzorky odebírané z nátoky na komunální čistírnu odpadních vod v Praze. Výsledky stanovení jsou uvedeny v příspěvku V. Očenáškové a kol.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu „Čistá voda – Zdravé město. Komunální odpadní voda jako diagnostické medium hlavního města Prahy“. Financuje Hlavní město Praha v rámci Operačního programu Praha – pól růstu ČR, Registrační číslo: CZ.07.1.02/0.0/0.0/16_040/0000378.

LITERATURA

1. Daughton, C.D.: Illicit Drugs in Municipal Sewage: Proposed New Nonintrusive Tool to Heighten Public Awareness of Societal Use of Illicit/Abused Drugs and Their Potential for Ecological Consequences, in *Pharmaceutical and Personal Care Products in The Environment: Scientific and Regulatory Issues*, American Chemical Society: Washington, D.C., (2001), p. 348-364
2. Zuccato, E. et al: Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ. Health Global Access Sci. Source* 4(2005) 14-20.
3. Van Nuijs, A., Mougel, J.-F., Tarcomnicu, I., et al. (2011), 'Sewage epidemiology: a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium', *Environment International*, 27, pp. 612–621.
4. Castiglioni, S., Thomas, K. V., Kasprzyk-Hordern, B., Vandam, L. and Griffiths, P. (2014), 'Testing wastewater to detect illicit drugs: State of the art, potential and research needs', *Science of the Total Environment* 487, pp. 613–620.
5. Been, F., Bijlsma, L., Benaglia, L., et al. (2016), 'Assessing geographical differences in illicit drug consumption: A comparison of results from epidemiological and wastewater data in Germany and Switzerland', *Drug and Alcohol Dependence* 161, pp. 189–199.
6. Du, P. (2015), 'Methamphetamine and ketamine use in major Chinese cities, a nationwide reconnaissance through sewage-based epidemiology', *Water Research*, Volume 84, pp. 76–84.
7. Očenášková, V. (2016) Využití epidemiologie odpadních vod pro sledování spotřeby nelegálních drog a dalších látek v českém a mezinárodním kontextu, *VTEI*, 58, 6, p. 27-30.
8. Očenášková, V. a kol.: Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení odnosu nezákonných látek (drog) v České republice. Certifikovalo České ekologické manažerské centrum, 28. pluku 524/25, 101 00 Praha 10. Certifikováno 29.12.2015.
9. Prasse, C.: <https://medium.com/@SimpleWater/wastewater-epidemiology-real-time-public-health-research-4900c92e0711>
10. Statistický úřad České republiky (2014), [http://www.czso.cz/csu/edicniplan.nsf/t/BC00298FFF/\\$File/1300721403.pdf](http://www.czso.cz/csu/edicniplan.nsf/t/BC00298FFF/$File/1300721403.pdf) 2014
11. Lopes A., Silva N., Bronze M.R., Ferreira J., Morais J.: Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community, *Science of the Total Environment* 487 (2014) 673–680

12. Ort Ch., Alexander L. N. van Nuijs, A.L.N., Berset J.D., Lubertus Bijlsm L., Castiglioni S., Covaci A., et al.: Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis, *Addiction*, 109, 1338–1352
13. Castiglioni, S., Senta, I., Borsotti, A., Davoli, E., Zuccato, E.: A novel approach for monitoring tobacco use in local communities by wastewater analysis, *Tob Control*, (2015);24: 38-42.
14. Rico, M., Andrés-Costa, M.J., Picó, Y.: Estimating population size in wastewater-based epidemiology. Valencia metropolitan area as a case study. *Journal of Hazardous Materials* 323 (2017)
15. Kinyua, J., Covaci, A., Maho, W. et al.: Sewage-based epidemiology in monitoring the use of new psychoactive substances: Validation and application of an analytical method using LC-MS/MS. *Drug Test. Analysis* (2015), 7, 812-818
16. Van Nuijs, A.L.N., Gheorge, A., Jorens, P.G., Maudens, K., Neels, H., Covaci, A.: Optimization, validation, and the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of new drugs of abuse in wastewater, *Drug Test. Analysis* (2014), 6, 861-867.
17. Castiglioni, S.: Assessing illicit drugs in wastewater: Advances in wastewater-based drug epidemiology publication of the European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA)
18. Jones, J., Thermo Fisher Scientific, Runcorn, Cheshire, UK: SPE-LC-MS/MS Method for the Determination of Nicotine, Cotinine, and Trans-3-hydroxycotinine in Urine, appl. Note 20709 Thermo Scientific.
19. Huerta-Fontela, M., Garcelan, M.T., Ventura, F.: Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal. Chem.* (2007), 79, 3821-9.
20. Bueno, M.J., Udes, S., Hernando, M.D.: Evaluation of selected ubiquitous contaminants in the aquatic environment and their transformation products. A pilot study of their removal from a sewage treatment plant. *Wat. Res.* (2011), 45, 2331-41.
21. Baz-Lomba, J.A., Salvatore S., Gracia-Lor, E., Richard Bade, R., Castiglioni, S. et al.: Comparison of pharmaceutical, illicit drug, alcohol, nicotine and caffeine levels in wastewater with sale, seizure and consumption data for 8 European cities, *Public Health* (2016) 16:1035
22. Hernandez, F., Castiglioni, S., Covaci, A., Pim de Voogt, Emke, E. et al.: MASS SPECTROMETRIC STRATEGIES FOR THE INVESTIGATION OF BIOMARKERS OF ILLICIT DRUG USE IN WASTEWATER, *Mass Spectrometry Reviews*, 2016 by Wiley Periodicals, Inc, *Mass Spectrometry Reviews* DOI 10.1002/mas
23. Fedorova, G., Randak, T., Lindberg, R.H. and Grabic, R.: Comparison of the quantitative performance of a Q-Exactive high-resolution mass spectrometer with that of a triple quadrupole tandem mass spectrometer for the analysis of illicit drugs in wastewater, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2013, 27, 1751–1762
24. Mackulak, T., Grabic, R., Gál, M., Birošová, L.: Evaluation of different smoking habits during music festivals through wastewater analysis. *Environ. Toxicol. And Pharmacology*, 40 (2015) 1015-1020.
25. Mackulak, T., Birošová, L., Grabic, R., Škubák, J.: National monitoring of nicotine use in Czech and Slovak Republic based on wastewater analysis. *Environ. Sci Pollut Res.* (2015) DOI 10.1007/s11356-015-4647-7
26. Senta, I., Gracia-Lor, E., Borsotti, A., Zuccato E.: Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment, *water research* 74 (2015) 23-33.
27. Tschärke, B.J., White, J.M., Gerber, J.P.: Estimate of tobacco use by wastewater analysis of anabasine and anatabine. *Drug Test Anal* (2016), Jul 8(7): 702-707.
28. Wang, D.G., Dong, Q.Q., Du, J. et al.: Using Monte Carlo simulation to assess variability and uncertainty of tobacco consumption in a city by sewage epidemiology, *BMJ Open* 2016;6:e010583. doi:10.1136/bmjopen-2015-010583
29. Mastroianni, N., Lopez de Alda, M., Barcelo, D.: Analysis of ethyl sulfate in raw wastewater for estimation of alcohol consumption and its correlation with drugs of abuse in the city of Barcelona *Journal of Chromatography A*, 1360 (2014) 93–99.
30. Reid, M.J., Langford, K.H., Mørland, J. and Thomas, K.V.: Analysis and Interpretation of Specific Ethanol Metabolites, Ethyl Sulfate, and Ethyl Glucuronide in Sewage Effluent for the Quantitative Measurement of Regional Alcohol Consumption *Alcohol Clin Exp Res*, Vol 35, No 9, 2011: pp 1593–1599.
31. Ryu, Y., Barceló, D., Barrone, L.P. et al: Comparative measurement and quantitative risk assessment of alcohol consumption through wastewater-based epidemiology: An international study in 20 cities, *Science of the Total Environment* 565 (2016) 977–983
32. Boogaerts, T., Covaci, A., Kinyua, J., Neels, H., van Nuijs, L.N. Spatial and temporal trends in alcohol consumption in Belgian cities: A wastewater-based approach, *Drug and Alcohol Dependence* 160 (2016) 170–176.

33. Dresen, S., Weinmann, W., Wurst, F.M.: Forensic Confirmatory Analysis of Ethyl Sulfate – A New Marker for Alcohol Consumption - by Liquid-Chromatography/Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry. 2004 (september) American Society for Mass Spectrometry. Published by Elsevier Inc. 1044-0305/04, doi:10.1016/j.jasms.2004.08.004
34. Albermann, M.E., Musshoff, F., Madea, B.: A High-Performance Liquid Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Method for the Determination of Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate in Urine Validated According to Forensic Guidelines. *J. Chromatogr. Sci.* 2012, Jan, 50(1): 51-56.
35. Al-Asmari, A.I., Anderson, R.A., Appelblad, P.: Direct Determination of Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate in Postmortem Urine Specimens Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-tandem Mass Spectrometry. *J. Anal. Tox.* 34 (2010) 261-272.
36. Politi, L., Morini, L., Groppi, A. et al.: Direct Determinatin of the ethanol metabolites ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spektrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrm.* 2005, 19, 1321-1331.
37. Li, S., Layne, J., Countryman, S. et al.: A Sensitive, Specific, Accurate, and Fast LC-MS-MS Method for Measurement of 42 Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate in Human Urine. *LCGC North America*, (Jul 01, 2011), Volume 29, Issue 7.

SOUČASNÉ TRENDY VE SLEDOVÁNÍ HYDROSFÉRY ANEB CO NOVÉHO NA LABI

Jiří Medek

*Povodí Labe, státní podnik, Vita Nejedlého 951, Slezské Předměstí, 500 03 Hradec Králové 3
E-mail: medekj@pla.cz*

1. ÚVOD

Sledování kvality hydrosféry je jedním ze základních úkolů vodohospodářských laboratoří. Programy monitoringu povrchových vod by měly vycházet z předpokladu, že sledování nemá být samoúčelné, ale má mít jasný cíl a že sledování nemá být nahodilé, ale má mít jasnou koncepci. Hlavním účelem monitoringu povrchových vod je potom získání dostatku spolehlivých relevantních dat pro hodnocení stavu hydrosféry a jeho vývoje. Toto hodnocení v sobě zahrnuje hodnocení stavu povrchových vod, resp. vodních útvarů podle vodního zákona, upřesnění rizikovosti vodních útvarů, identifikaci a sledování vlivů způsobujících rizikovost, sledování dopadů aplikace programů opatření a zhodnocení efektivity těchto opatření, dosažení cílů a požadavků pro chráněná území, hodnocení koncentračních trendů znečišťujících látek apod. Monitoring by měl zabezpečit rovněž splnění legislativních a jiných požadavků včetně zájmů a doporučení správce povodí a dalších dotčených institucí a organizací. Rozsah sledování a výběr ukazatelů byl měl být navržen tak, aby byl technicky a ekonomicky efektivní. Programy monitoringu pro dílčí oblasti povodí, které zpracovávají správci povodí a které schvalují ministerstva životního prostředí a zemědělství, vycházejí z platné národní a nadnárodní legislativy a ze zásad uvedených v Rámcovém programu monitoringu, který vždy pro plánovací období zpracovává Český hydrometeorologický ústav. Na úrovni mezinárodního povodí Labe představuje jednotící rámec monitoringu Mezinárodní program měření Labe, který každoročně schvaluje Mezinárodní komise pro ochranu Labe, přičemž pro rok 2019 byla při tvorbě monitorovacího programu poprvé použita nová Strategie měření MKOL. Pro detailní a komplexní popis stavu hydrosféry a pro hodnocení trendů by se vedle jakosti vody měla sledovat jakost dalších složek hydrosféry, tj. pevné matrice (sedimentů/plavenin) a bioty. Sledování této složky však bývá často opomíjeno. Nedílnou součástí monitorovacích programů, stejně jako nedílnou součástí laboratorní činnosti obecně potom musí být opatření k zabezpečení kvality dat, resp. zabezpečování kvality celé činnosti laboratoře.

2. STRATEGIE MĚŘENÍ MKOL

Významnou změnou v monitorování kvality řeky Labe na mezinárodní úrovni je nově zpracovaná Strategie měření MKOL, která byla na podzim 2018 schválena Mezinárodní komisí pro ochranu Labe (MKOL) jako strategický dokument pro budoucí spolupráci při monitoringu řeky Labe. Strategii zpracovala skupina expertů „Povrchové vody (SW-MKOL)“ a byla poprvé uplatněna při návrhu Mezinárodního programu měření Labe pro rok 2019. Strategie vychází ze zkušeností dlouholetého sledování a hodnocení jakosti vody v Labi a jeho hlavních přítocích v mezinárodním povodí řeky Labe, kdy se sledování jakosti vody podle společných principů provádí již od roku 1990. Mezinárodní program měření Labe se v průběhu času měnil a vyvíjel, reagoval jak na změny a doporučení legislativy na národních úrovních i později na evropské úrovni, tak na vývoj technických a metodických možností laboratoří a na rozvoj poznání. Vedle sledování chemických a fyzikálně-chemických ukazatelů v prostých vzorcích vody se postupně začaly sledovat další typy vzorků a další matrice charakterizující jakost hydrosféry (slévané vzorky vody, sedimentovatelné plaveniny, biota) a významně se rozšířil okruh sledovaných chemických a biologických ukazatelů. Rozsah monitoringu ovlivňoval i rozvoj a později částečný útlum sítě monitorovacích stanic vybudovaných v klíčových profilech mezinárodního povodí řeky Labe. Do Mezinárodního programu měření Labe se přidávaly nově sledované ukazatele, ale také se postupně redukovalo sledování látek, které nebyly pro Labe relevantní. Poslední dobou se objevovala potřeba vytvořit nový koncept monitoringu, který by zohlednil aktuální stav legislativy a aktuální úroveň poznání, ale který by byl orientován do budoucna a představoval určitý jednotící rámec pro další období mezinárodní spolupráce na Labi.

Cílem Strategie je koordinace národních a zemských přístupů při monitorování a následném hodnocení jakosti vody v Labi, přičemž klíčovou roli nadále hraje Mezinárodní program měření MKOL. Strategie v sobě zahrnuje i další požadavky, které mají vazby na jakost vody a stav hydrosféry v mezinárodním povodí řeky Labe, jako jsou výstupy a doporučení Česko-německé komise pro hraniční vody, závazky vyplývající z Úmluvy o ochraně mořského životního prostředí Severního moře a severovýchodního Atlantiku (OSPAR) či doporučení Koncepce MKOL pro nakládání se sedimenty. Ve Strategii jsou uvedeny měrné profily, které slouží pro charakterizaci stavu v celém mezinárodním povodí, včetně vymezení jejich zvláštních kategorií, tj. dvojice pilotních profilů s maximálním rozsahem sledování (Hřensko/Schmilka na česko-německé hranici a Seemannshöft na přechodu řeky do slapového úseku Severního moře) a šest bilančních profilů s dlouhodobým sledováním relevantních látek významných pro hodnocení vývojových trendů a hodnocení cílů Mezinárodního plánu oblasti povodí Labe a úspěšnosti Koncepce MKOL pro nakládání se sedimenty. Ve Strategii je uveden minimální rozsah sledovaných

ukazatelů pro jednotlivé typy profilů i pravidla pro výběr dalších ukazatelů. Z hlediska sledovaných matric je nadále preferována voda (prosté a slévané vzorky), ale pro sledování trendů a tam, kde to vyžaduje relevance výskytu, resp. kde jsou stanoveny odpovídající normy environmentální kvality, je třeba využít i další matrice – plaveniny/sedimenty (sedimentovatelné plaveniny) či biotu. Strategie nově definuje úlohu měřicích stanic jakosti vody a jejich minimální vybavení, a to jak z pohledu odběru reprezentativních vzorků pro následná stanovení v laboratoři, tak z pohledu kontinuálních či kvazikontinuálních měření prováděných na měřicích stanicích. Strategie dále obsahuje doporučení týkající se četnosti a intervalů sledování a rámcová pravidla pro vzorkování, analýzy a zabezpečení kvality výsledků, která musí laboratoře respektovat, aby byla zajištěna spolehlivost a srovnatelnost naměřených dat, což má těsné vazby na srovnatelné a jednotné hodnocení stavu v rámci celého mezinárodního povodí Labe. Samostatná kapitola je věnována zásadám pro mimořádný program měření pro extrémní hydrologické situace (povodně, sucho), kdy je rovněž potřeba zaručit jednotný přístup k monitoringu jakosti Labe za těchto situací. Další významná kapitola popisuje mechanismus sestavování Mezinárodního programu měření Labe a jeho aktualizací, a to jak z časového, tak obsahového hlediska. Je snaha sladit požadavek na dostatek relevantních dat s požadavkem na efektivní vynakládání prostředků na monitoring. Proto je definován různý rozsah sledovaných ukazatelů v profilech různé úrovně (pilotní, bilanční, ostatní). Poslední kapitola se potom věnuje pravidlům pro předávání, vyhodnocení a zveřejňování výsledků měření, což zahrnuje i dohodnutou metodiku pro výpočet látkových odnosů, způsob hodnocení trendů a pravidla pro vydávání společných zpráv o vývoji jakosti vody v Labi. Strategie obsahuje řadu příloh včetně seznamu sledovaných znečišťujících látek specifických pro povodí Labe na základě národní legislativy a „vybraných“ látek MKOL.

Strategie měření MKOL představuje nejen společný rámec pro sledování a hodnocení jakosti vody v rámci česko-německé spolupráce na úrovni mezinárodního povodí Labe, ale může být i vhodnou inspirací pro vodohospodářské laboratoře při odhadu dalších vývojových trendů, resp. pro všechny, kteří sestavují monitorovací programy na národní či lokální úrovni.

3. MONITORING PEVNÝCH MATRIC

Monitoring pevných matric z hydrosféry včetně monitoringu sedimentů je nedílnou součástí monitoringu povrchových vod v působnosti Povodí Labe, státního podniku. Kvalita sedimentů se monitoruje pravidelně od roku 2004 na cca 62 profilech s četností 2x ročně (jaro, podzim), přičemž se sleduje až cca 150 ukazatelů (TOC, AOX, těžké kovy a metaloidy, organické polutanty, základní zrnitostní složení apod.). Sledování jakosti sedimentů je harmonizováno s aktivitami Českého hydrometeorologického ústavu tak, aby nedocházelo k duplicitním měřením. V rámci Mezinárodního programu měření Labe se dále sledují měsíční sbírané vzorky sedimentovatelných plavenin ze tří lokalit, ve kterých provozujeme měřicí stanice (Valy, Obříství, Děčín), v roce 2018 bylo sledováno 123 ukazatelů. Pro vybrané relevantní znečišťující látky jsou výsledky zpracovány do tabulárních výstupů ve formě indexů kvality sedimentů (SQI – Sediment Quality Index) pro jednotlivé lokality i pro celkový podélný profil řeky Labe

4. ZABEZPEČENÍ KVALITY DAT V RÁMCI MEZINÁRODNÍ SPOLUPRÁCE

V rámci mezinárodní spolupráce při sledování jakosti hydrosféry v mezinárodním povodí Labe a v rámci sledování jakosti vody v přeshraničních vodních tocích s Německem a Polskem je nadále věnována velká pozornost zabezpečení kvality dat. Vedle dodržování základních zásad jako je činnost laboratoří v souladu s normou EN ISO/IEC 17025:2017, resp. akreditace národními akreditačními orgány pro laboratoře, které se podílejí na mezinárodních monitorovacích programech, pokračují i další společné experimenty, které mají prokázat srovnatelnou úroveň zúčastněných laboratoří, resp. přispět k získání časově a prostorově srovnatelných dat

Příkladem takových akcí jsou terénní experimenty společného odběru vzorků vody, které probíhají s dvouletou periodou od roku 2007 a o kterých jsem podrobně informoval v rámci konference Hydroanalytika 2017. Na letošní rok je tento experiment plánován na 11. září v lokalitě Labe – Čelákovice za pořádání Povodí Labe, státního podniku. Společného odběru by se po dobrých zkušenostech z posledního odběru v roce 2017 (Lužická Nisa – Görlitz) měli opět účastnit české, německé a polské laboratoře, které jsou zapojené do monitoringu v rámci mezinárodního povodí řeky Labe a řeky Odry a do monitoringu jakosti vody v hraničních vodních tocích, a dále několik přizvaných českých laboratoří, které zvýší počty laboratoří při analýzách zejména organických polutantů. Předpokládáme účast cca 20 laboratoří. Každá laboratoř si bude sama svými prostředky odebírat vzorky a provádět terénní měření a terénní předúpravu vzorků, zajišťovat transport do laboratoře a následné analytické zpracování. Celkem by mělo být analyzováno cca 120 ukazatelů včetně některých dosud málo sledovaných látek, přičemž řadu z nich nepůjde vyhodnotit, pokud se látka nebude ve vzorku vyskytovat v měřitelné koncentraci či pokud ji bude analyzovat jen málo laboratoří. V rámci společného odběru bude distribuován i zmrazený homogenizovaný nativní vzorek labského sedimentu, u kterého bude analyzováno cca 80 až 90 ukazatelů, ani zde nepůjde všechny ukazatele vyhodnotit ze stejných důvodů jako u matrice voda. Analýz sedimentu se zúčastní jenom české a německé laboratoře, protože polské vodohospodářské laboratoře tyto analýzy neprovádějí. Současně jednáme o zapojení některých dalších zahraničních laboratoří, aby se porovnání účastnilo cca 15 – 20 laboratoří.

Obdobné společné experimenty se na česko-německé úrovni provádějí i v oblasti biologických zkoušek s dvouletou periodou vždy v sudém roce. Nadále pokračuje i pravidelné porovnávání výsledků ze společně odebíraných vzorků v hraničním profilu Labe – Schmilka, které paralelně analyzují laboratoře Povodí Labe, státního podniku na straně české a BfUL (Staatliche Betriebsgesellschaft für Umwelt und Landwirtschaft) na straně německé. Toto porovnávání se provádí čtvrtletně pro celý rozsah měsíčně sledovaných ukazatelů Mezinárodního programu měření Labe. Vzhledem ke skutečnosti, že obě laboratoře jsou zapojeny do mezilaboratorních porovnávání zkoušek na národní úrovni, lze takto nepřímou získat dobrý přehled o porovnatelnosti používaných postupů a metod v České republice a v Německu.

5. ZÁVĚR

Uvedený příspěvek se snažil podat aktualizovaný přehled o monitorovacích aktivitách na Labi, a to jak z národního pohledu, tak z pohledu mezinárodního povodí řeky Labe. Významným mezníkem je schválení nové Strategie měření MKOL, která byla poprvé uplatněna při sestavení Mezinárodního programu měření Labe pro rok 2019. Monitorovací programy by měly zahrnovat i někdy podceňované sledování jakosti pevných matric (sedimenty, plaveniny, biota), které jsou nutné pro komplexní hodnocení stavu hydrosféry a vývojových trendů. Nedílnou součástí všech monitorovacích programů potom musí být opatření k zabezpečení kvality dat, do kterých jsou zapojeny laboratoře podílející se na zajištění monitoringu. Monitorovací programy jsou obecně cenným zdrojem informací pro vodohospodářské laboratoře, neboť ukazují současné potřeby a požadavky, ale mohou být i inspirací pro budoucí vývoj a budoucí úkoly, na které musí být vodohospodářské laboratoře připraveny technicky, metodicky i personálně.

STANOVENÍ ORGANICKÉHO DUSÍKU V ODTOCÍCH Z ČOV

Jan Vilímeček

*Pražské vodovody a kanalizace a.s., Ke Kablu 971, 102 00 Praha 10,
e-mail: jan.vilimec@pvk.cz*

ÚVOD

Evropská směrnice 91/271/EEC [1] o čištění komunálních odpadních vod stanovuje s ohledem na snižování eutrofizace povrchových vod limitní koncentrace pro živiny celkový dusík a celkový fosfor v odtocích z ČOV. Celkový dusík je limitován koncentrací 10 mg/l N v odtoku pro čistírny s kapacitou vyšší než 100 000 ekvivalentních obyvatel (EO). Poprvé se tento požadavek pro tuto kategorii ČOV objevil v nařízení vlády 61/2003 Sb. [2] a samozřejmě je obsažen i ve všech jeho dalších novelizacích.

Stanovení anorganických forem dusíku obvykle nepředstavuje problém, protože pro ně existuje řada osvědčených spektrofotometrických metod stanovení. Sumací jejich výsledků se pak získává hodnota koncentrace celkového anorganického dusíku, který byl do roku 2003 limitujícím ukazatelem pro dusík v odtocích z ČOV (a dodnes se zachoval jako zpoplatněný ukazatel dle přílohy 2 část B vodního zákona [3]). Při stanovení celkového dusíku se pak kromě anorganických forem stanovuje i organicky vázaný dusík, jehož nízké koncentrace ve vyčištěných vodách v odtocích z ČOV mohou být předmětem různých diskusí.

MOŽNOSTI STANOVENÍ CELKOVÉHO DUSÍKU

Jako nejstarší varianta stanovení celkového dusíku se používala sumace jednotlivě stanovených koncentrací dusičnanového dusíku, dusitanového dusíku a Kjeldahlova dusíku (= suma amoniakálního a organického dusíku). Jedná se o sumární ukazatel, a proto může být výsledná hodnota ovlivněna chybou při stanovení jednoho ze tří sčítaných výsledků. V moderní době se pak uplatňuje řada metod často využívajících stávající nebo nové instrumentální vybavení hydroanalytických laboratoří - tabulka 1.

SETOVÉ METODY PRO STANOVENÍ CELKOVÉHO DUSÍKU

Firma Merck [4] nabízí tři produkty pro stanovení celkového dusíku metodou dle Koroleffa – oxidace veškerých dusíkatých sloučenin na dusičnanový dusík a jeho fotometrické stanovení. K dispozici jsou dva pracovní rozsahy: 0,5 – 15 mg/l N (dvě různé metody pro fotometrické stanovení dusičnanového dusíku, přesnost $\pm 0,4$ mg/l N) a 10 – 150 mg/l N (fotometrické stanovení dusičnanového dusíku s 2,6-dimethylfenolem, přesnost ± 3 mg/l N).

Firma Hach [5] nabízí rovněž tři sety pro stanovení celkového dusíku ve vzorcích vod v rozsazích 1 – 16 mg/l N, 5 – 40 mg/l N a 20 – 100 mg/l N. Všechny jsou založeny na oxidaci sloučenin dusíku na dusičnanový dusík podle Koroleffa a jeho fotometrickém stanovení s 2,6-dimethylfenolem. Údaje o přesnosti se opět pohybují od $\pm 0,25$ mg/l N u nízkého rozsahu přes ± 1 mg/l N u středního rozsahu do $\pm 1,6$ mg/l N u nejvyššího rozsahu.

Je třeba upozornit, že je nutné používat sety vždy pro vhodný koncentrační interval. Pokud pro vzorky odtoků z ČOV použijeme sety pro vyšší koncentrační rozsah stanovení celkového dusíku (např. > 20 mg/l) než jsou jeho reálné koncentrace ve vzorku, mohou být naměřené výsledky zatíženy větší chybou.

Tabulka 1 Přehled metod používaných ke stanovení celkového dusíku v odpadních vodách

Metoda	Příslušná norma	Využitelnost	Označení v grafech
Sumace jednotlivých forem dusíku	Metody pro stanovení N-NO ₂ , N-NO ₃ a Kjeldahlova dusíku (ČSN EN 25663)	Menší počty vzorků, poměrně velká pracnost	2c
Stanovení celkového dusíku po oxidaci na oxidy dusíku (využití analyzátoru TOC)	ČSN EN 12260	Pro větší série vzorků, jednoduché provedení	2b
Metoda oxidační mineralizace s peroxodisíranem podle Koroleffa, koncovka stanovení N-NO ₃	ČSN EN ISO 11905-1	Pro menší počty vzorků, důraz na pečlivost	2a
Stanovení celkového dusíku po rozkladu UV zářením, CFA analýza se spektrofotometrickou detekcí	ČSN ISO 29441	Pro větší série vzorků, jednoduché provedení	2f
Využití komerčních analytických souprav	ČSN ISO 17381, odkaz na ČSN EN ISO 11905-1	Jednoduché provedení, bez nároků na drahé přístrojové vybavení	4
Jiné	XXX	XXX	100

KONTROLNÍ VZOREK PRO STANOVENÍ ORGANICKÉHO/CELKOVÉHO DUSÍKU

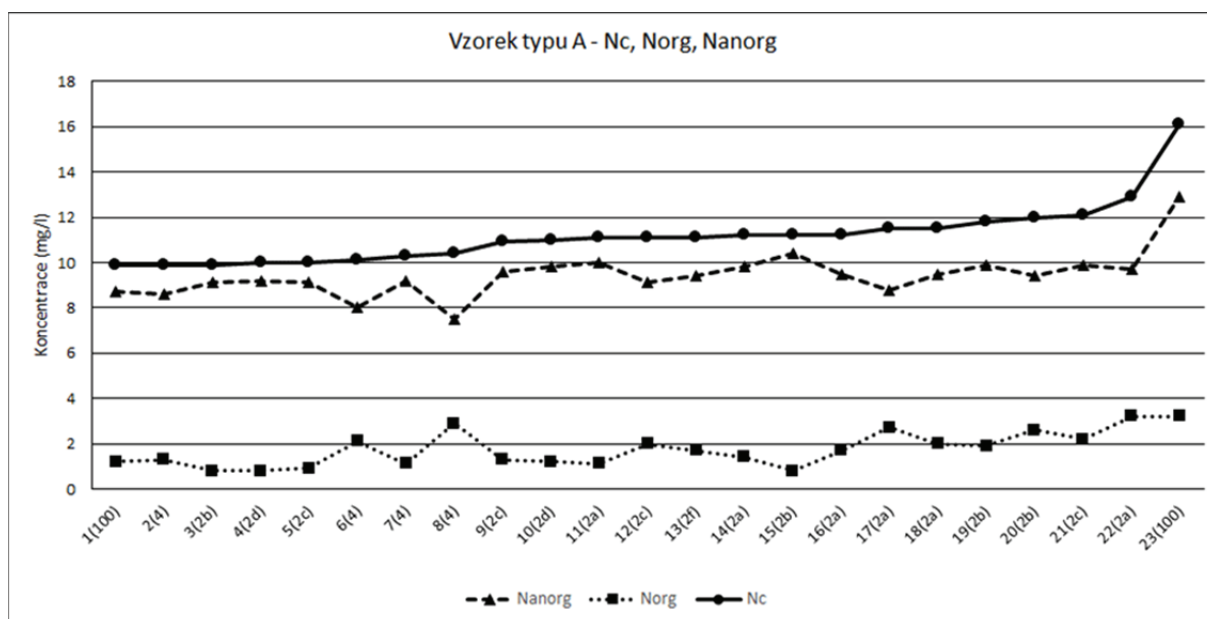
Důležitou roli při provádění rutinních analýz celkového resp. organického dusíku má vhodný kontrolní vzorek, jehož výsledky ukazují, že používaná metoda má dobrou výtěžnost a produkované výsledky nejsou zatíženy např. systematickou chybou. Jako velmi vhodný se jeví kontrolní vzorek uváděný v normě ČSN EN 12260 [6] pro stanovení celkového vázaného dusíku. Tento vzorek je roztokem kyseliny nikotinové (C₆H₅NO₂, obsah >99,5 %) a vzhledem ke složitější vazbě dusíku v této látce představuje mnohem lepší variantu testování účinnosti analytického systému než někdy navrhovaný roztok glycinu. Při současném stanovení celkového organického uhlíku (TOC) se dá tento kontrolní vzorek využít i pro kontrolu stanovení TOC. Zásobní roztok vzorku se připraví rozpuštěním 1,099 g kyseliny nikotinové v 500 ml vody (odpovídá 250 mg/l N a 1287 mg/l TC). Jeho ředěním se dají připravit různé koncentrované roztoky vhodné pro kontrolu analýz odtoků i přítoků na ČOV (např. 10 ml/250 ml – roztok odpovídá 10 mg/l N a 51,5 mg/l TC; 5 ml/200 ml – roztok odpovídá 6,25 mg/l N a 32,2 mg/l TC, 10 ml/100 ml – roztok odpovídá 25 mg/l N a 129 mg/l TC).

VÝSLEDKY STANOVENÍ ORGANICKÉHO DUSÍKU PŘI MPO V ZÁŘÍ 2018

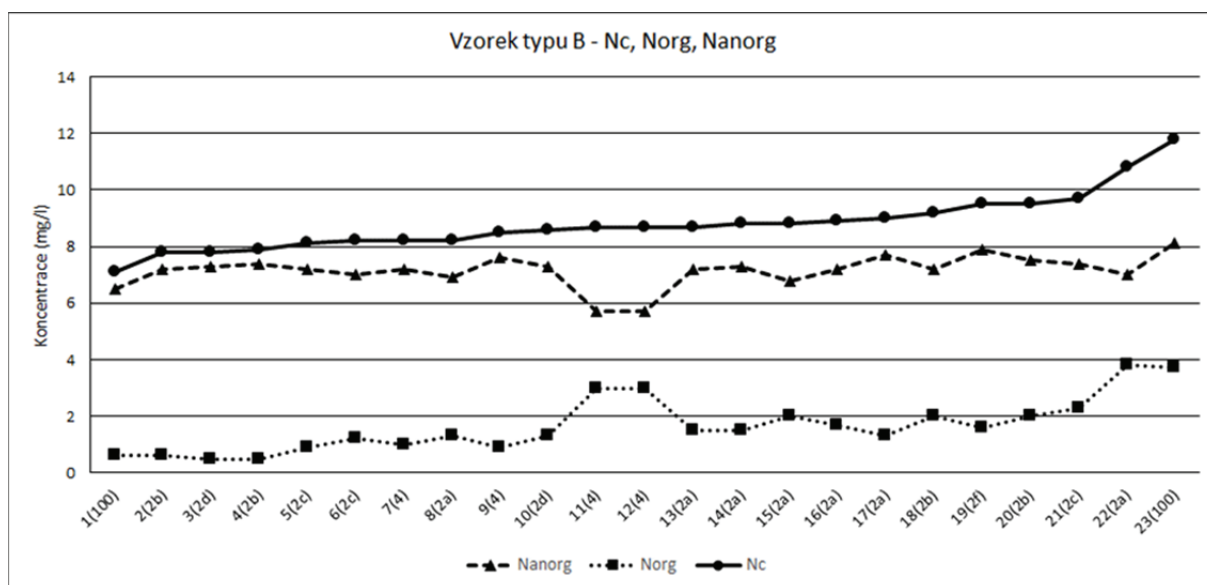
Při hodnocení výsledků stanovení organického dusíku v odtocích z ČOV při nízkých koncentracích CHSKCr (< 30 mg/l) se někdy objevují námitky, že při tak nízké koncentraci organických látek by už vlastně neměl být organický dusík přítomen. Pokud je koncentrace celkového dusíku v odtoku kolem 10 mg/l, je zajímavé, jak se laboratoře účastníci se mezilaboratorního porovnání odběrů PT/S/OV/2/2018 [7] se stanovením celkového dusíku, potažmo organického dusíku, vyrovnali – obr. 1, 2, 3. Celkový přehled výsledků stanovení zajímavých forem dusíku v jednotlivých typech vzorků je uveden v tabulce 2.

Tabulka 2 Přehled výsledků forem dusíku v odtoku z ČOV, PT/S/OV/2/2018 (vztažné hodnoty)

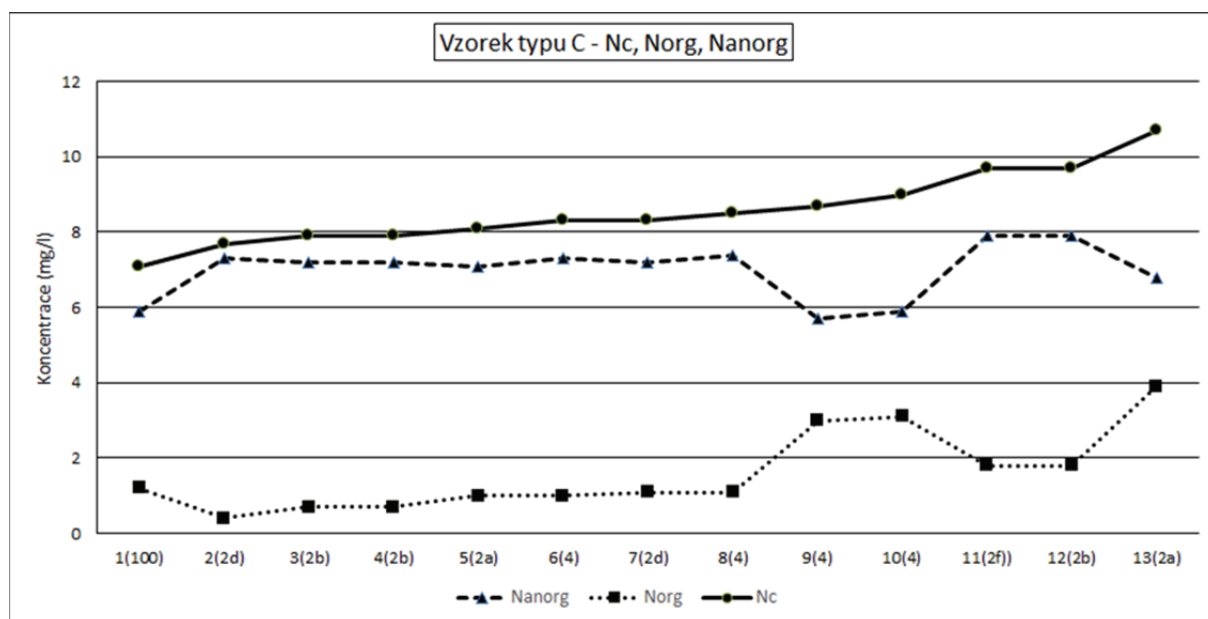
Typ vzorku	Nanorg (mg/l)	Norg (mg/l)	Nc (mg/l)	Norg/Nc (%)
A	9,4	1,6	11,0	14,5
B	7,2	1,5	8,7	17,0
C	7,1	1,3	8,4	15,5



Obrázek 1 Výsledky stanovení celkového, celkového anorganického a celkového organického dusíku v PT/S/OV/2/2018 – vlastní odběr vzorku typu A. V závorce za pořadovým číslem laboratoře označení metody dle tab.1



Obrázek 2 Výsledky stanovení celkového, celkového anorganického a celkového organického dusíku v PT/S/OV/2/2018 – vlastní odběr vzorku typu B. V závorce za pořadovým číslem laboratoře označení metody dle tab.1



Obrázek 3 Výsledky stanovení celkového, celkového anorganického a celkového organického dusíku v PT/S/OV/2/2018 – vlastní odběr vzorku typu C. V závorce za pořadovým číslem laboratoře označení metody dle tab.1

Z tabulky 2 i z obrázků 1 – 3 vyplývá, že koncentrace celkového anorganického dusíku ve vzorku typu A je výrazně vyšší než u vzorků typu B a C, tudíž i koncentrace celkového dusíku je v tomto typu vzorku vyšší. Toto zvýšení je dáno vyšší koncentrací dusičnanového dusíku v době odběru vzorku typu A. Vypočtené koncentrace organického dusíku jsou ve všech třech typech vzorků velmi podobné. Grafické znázornění výsledků jednotlivých laboratoří ukazuje, že vypočtené koncentrace organického dusíku se pro vzorek typu A pohybují mezi 0,8 – 3,2 mg/l, pro vzorek typu B mezi 0,5 – 3,8 mg/l a pro vzorek typu C mezi 0,4 – 3,9 mg/l. Vysoké hodnoty patří vesměs k odlehlym výsledkům stanovení celkového dusíku. Zajímavá je dvojice laboratoří č. 11 a 12 pro vzorek typu B resp. 9 a 10 pro vzorek typu C (jedná se o dvě stejné laboratoře, rozdílné označení je dáno anonymizací účastníků), kdy jsou z grafů patrné jejich velmi nízké výsledky celkového anorganického dusíku a z toho pak vyplývají příliš vysoké koncentrace organického dusíku. Z grafů nevyplývá žádná systematická chyba některé používané metody (označení za pořadovým číslem laboratoře, legenda v tabulce 1).

V tabulce 2 jsou v posledním sloupci uvedeny vypočtené hodnoty poměru Norg/Nc v %. Tato pomocná veličina může pomoci s odhadem, v jakém rámci se reálné hodnoty koncentrací organického dusíku v odtocích z ČOV mohou pohybovat.

Srovnání výsledků Norg ze stávající a nové linky pražské ÚČOV

V září roku 2019 byla na pražské ÚČOV spuštěna Nová vodní linka (NVL) založená na moderních technologiích čištění odpadních vod, především pak eliminaci dusíku z vyčištěné odpadní vody. I na původní (stávající) vodní lince ÚČOV (SVL) došlo vzhledem k snížení zatížení ke snížení koncentrací celkového dusíku. Velké počty rozborů se také provádějí na odtocích z 20 menších tzv. pobočných čistíren odpadních vod v Praze s kapacitou 200 – 12 000 EO. Výsledky stanovení celkového a organického dusíku na NVL a SVL ÚČOV za první pololetí 2019 a na 20 PČOV v roce 2018 jsou představeny v tabulce 3.

Tabulka 3 Přehled výsledků forem dusíku v odtocích z NVL a SVL pražské ÚČOV a v odtocích z pobočných čistíren OV – průměrné hodnoty za I. pololetí 2019 (ÚČOV) nebo za rok 2018 (PČOV), v závorce uveden počet zahrnutých vzorků

Objekt	Nanorg (mg/l)	Norg (mg/l)	Nc (mg/l)	Norg/Nc (%)
NVL (40)	6,10	1,45	7,55	19,7
SVL (80)	14,7	2,3	17,0	13,9
PČOV (283)	13,7	2,0	15,7	13,9

Z tabulky 3 je patrné, že s nižší koncentrací celkového dusíku klesá i koncentrace organického dusíku, která je však stále poměrně vysoká. Tento podíl může být tvořen obtížně rozložitelnými látkami s obsahem dusíku, které přecházejí do odtoku. Může se jednat o perzistentní látky typu léčiv a dalších složitých organických sloučenin, které jsou součástí dnešního životního stylu. Podíl Norg/Nc pro SVL a PČOV vychází obdobně jako při MPO pro vzorek A (tab. 2). Při nižší koncentraci celkového dusíku je relativní podíl organického dusíku vyšší.

ZÁVĚR

Z grafického znázornění výsledků stanovení celkového resp. organického dusíku v odtoku z komunální ČOV při MPO PT/S/OV/2/2019 jakož i z hodnocení výsledků stanovení těchto látek na ÚČOV v Praze i na další řadě pražských čistíren vyplývá, že obvyklé hodnoty koncentrace organického dusíku v odtocích s koncentrací celkového dusíku do 20 mg/l se mohou pohybovat mezi 1,5 – 2,5 mg/l. I když se jedná o dobře vyčištěné odpadní vody s hodnotou CHSKCr mezi 20 – 30 mg/l, jsou v ní stanovitelné koncentrace organického dusíku, který je zřejmě vázán v obtížně rozložitelných látkách. Poměr Norg/Nc se ve vyčištěných odpadních vodách může pohybovat mezi 12 – 20 %. Při stanovení celkového dusíku je stejně jako při provádění ostatních akreditovaných analýz nutné používat vhodný kontrolní vzorek, který laboratoři potvrzuje udržování dobré výtěžnosti komplikovanějších analýz a zabraňuje vydání nevěrohodných výsledků.

SEZNAM LITERATURY

- [1] Směrnice Rady 91/271/EEC o čištění městských odpadních vod.
- [2] Nařízení vlády 61/2003 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. Aktuálně Nařízení vlády 401/2015 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.
- [3] Zákon 254/2001 Sb. o vodách (vodní zákon) v platném znění.
- [4] Materiály firmy Merck.
- [5] Materiály firmy Hach.
- [6] ČSN EN 12260 Jakost vod – Stanovení dusíku – Stanovení vázaného dusíku (TN_b) po oxidaci na oxidy dusíku. ČNI Praha 2004.
- [7] Zpráva s výsledky PT/S/OV/2/2018. CSLab spol. s r.o., Praha 2018.

NEJISTOTA VZORKOVÁNÍ – PŘEDSTAVENÍ POKYNŮ NORDTEST A EURACHEM

David Milde

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,
17. listopadu 12, 771 46 Olomouc, e-mail: david.milde@upol.cz*

Nejistota měření je nejdůležitějším jednotlivým parametrem popisujícím kvalitu měření. Nejistota totiž zásadním způsobem ovlivňuje rozhodnutí založená na výsledku měření. Měření však prakticky vždy zahrnuje i odběr vzorku. Analyzovat celý objem materiálu (vzorkovaný objekt) za účelem jeho popsání je totiž zpravidla nemožné. Pokud je cílem měření odhad koncentrace analytu ve vzorkovaném objektu (části materiálu reprezentované vzorkem), pak musí nejistota spojená s procesem odběru vzorku nevyhnutelně přispívat k nejistotě naměřeného výsledku. Je stále více zřejmé, že odběr vzorků často přispívá k nejistotě více než ostatní faktory a vyžaduje tudíž odpovídající řízení a správu. Proto musí být vyhodnocena část celkové nejistoty měření vztahující se k odběru vzorků. Výše uvedené důvody zřejmě stály za změnou textu v normě ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 [1], která v odstavci 7.6.1 uvádí: *Laboratoře musí identifikovat příspěvky k nejistotě měření. Při vyhodnocování nejistoty měření se za použití vhodných metod analýzy musí vzít v úvahu všechny příspěvky, které jsou významné, včetně těch, které vyplývají z odběru vzorků.*

Jelikož analýza i odběr vzorků přispívají k nejistotě výsledku, je třeba pro její správný odhad rozumět celému procesu. Relativní úsilí při odběru vzorků a analýze lze navíc optimalizovat jen tehdy, rozumíme-li dostatečně oběma procesům. V případě, kdy jsou za různé fáze procesu odpovědní různí pracovníci, musí mezi všemi zúčastněnými fungovat dobrá komunikace. Ti kdo navrhnou odběr vzorků a analytici v laboratořích proto musejí optimalizovat celý proces měření a navrhnout strategii pro odhad nejistoty. Obě strany musejí se zákazníkem diskutovat cíle měření. Pro zajištění spolehlivých rozhodnutí na základě výsledků měření je třeba, aby všechny tři strany postupovaly podle směrnic vydaných příslušným správním orgánem. Zúčastněné strany musejí tato rozhodnutí opírat o spolehlivé odhady celkových nejistot včetně nejistot vyplývajících z odběru vzorků.

I když žádné obecné směrnice nemohou ve složitých a kritických případech nahradit expertní znalosti, popisují pokyny Eurachem/CITAC [2] a Nordtest [3] některé metody pro spolehlivé stanovení odhadu nejistot pramenících z odběru vzorků v rámci většiny analytických měřicích systémů.

Pokyn Eurachem/CITAC [2] byl v letošním roce revidován a v anglické verzi je dostupný na webových stránkách www.eurachem.org. Český překlad je plánován na rok 2020 jako další díl řady příruček KVALIMETRIE. Prozatím je jako součást KVALIMETRIE 15 dostupný překlad prvního vydání tohoto pokynu z roku 2007 [4]. Cílem pokynu Eurachem/CITAC je popis různých metod pro odhad nejistoty měření, zvláště pak nejistoty způsobené vzorkováním a fyzikální přípravou vzorků. Pokyn na začátku vysvětluje význam znalosti celkové nejistoty měření pro spolehlivou interpretaci výsledků a posouzení vhodnosti měření pro daný účel. Pokrývá celý proces měření, definuje jednotlivé dílčí kroky spolu s popisem důsledků a chyb, které způsobují nejistotu celkového výsledku měření. Popsány jsou dva hlavní postupy pro odhad nejistoty pramenící z odběru vzorků. Při **empirickém přístupu** se provádějí opakované odběry vzorků a jejich analýza za různých podmínek pro kvantifikaci nejistoty (a obvykle i některých jejích složek) a pro kvantifikaci vlivů způsobených různými faktory jako jsou heterogenita ve vzorkovaném objektu či odchylky při aplikaci jedné nebo více technik odběru vzorků. **Modelový přístup** používá předdefinovaný model, na jehož základě se identifikují jednotlivé dílčí složky nejistoty, provede se odhad každé složky a jejich součet pro stanovení celkového odhadu. Pro odhad některých součástí nejistoty ze známých charakteristik složek složených z částic lze v tomto přístupu někdy použít modely, které nabízí teorie odběru vzorků. Pro každý z těchto přístupů jsou uvedeny zpracované následující příklady z různých oblastí použití:

- dusičnany v salátu pěstovaném ve skleníku (empirický přístup),
- olovo v kontaminované ornici (empirický přístup),
- rozpuštěné železo v podzemní vodě (empirický přístup),
- vitamín A v dětské ovesné kaši obsahující ovoce a mleté cereálie (empirický přístup),
- enzym v krmivu pro drůbež (modelový přístup),
- kadmium a fosfor v zemědělské ornici (modelový přístup).

Odhad celkové nejistoty měření se pohybuje od několika procent až po 84 % vztažených k měřené veličině. Příspěvek odběru vzorků k celkové nejistotě bývá jen výjimečně malý, často bývá hlavní složkou (>90 % celkové variability měření). Pokud tedy usilujeme o zredukování celkové nejistoty k dosažení vhodnosti pro daný účel měření, nabízí se nutnost investovat ve větší míře do odběru vzorků než do chemické analýzy. Pokyn poskytuje návod na výběr co nejvhodnějšího přístupu pro každou aplikaci s tím, zda je dostatečná počáteční validace systému nebo zda je nutné provádět průběžný monitoring nejistoty pocházející ze vzorkování s využitím řízení kvality vzorkování. Zvýšené náklady související s odhadem nejistoty je třeba uvažovat v poměru k úsporám, kterých lze dosáhnout právě na základě znalosti nejistoty měření s větší spolehlivostí.

Příručka Nordtest [3] si klade za cíl poskytnout praktický návod na odhad nejistoty vzorkování v jednoduchém formátu typickém pro Nordtest příručky. Nezastírá, že vychází z pokynu Eurachem/CITAC [2] a kromě zhuštěné a zjednodušené podoby teorie uvádí dva další příklady. Za hlavní cíl si klade poskytnout sadu nástrojů pro výpočet a řízení nejistoty vzorkování v rámci vzorkovacího postupu. Textové kapitoly příručky popisují teorie a principy. Řešené příklady jsou pak v přílohách. Důrazy textových kapitol spočívají v jednoduchých vysvětleních, která jsou hned ilustrována na řešených příkladech vysvětlujících podrobně všechny výpočty. Kromě dvou příkladů uvedených v pokynu Eurachem/CITAC [2] (rozpuštěné železo v podzemní vodě a vitamín A v dětské ovesné kaši), obsahuje další dva řešené příklady:

- stanovení železa v železné rudě pomocí rentgenové fluorescenční spektrometrie,
- elektrická vodivost v průmyslové odpadní vodě.

Přednáška si klade za cíl představit uvedené pokyny a seznámit posluchače se řešenými příklady z oblasti analýzy vod.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ČSN EN ISO/IEC 17025:2018. Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří. ÚNMZ, Praha 2018.
2. Ramsey M.H., Ellison S.L.R., Rostron P. (Eds.): Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches. Second Edition, Eurachem 2019. ISBN 978-0-948926-35-8. Dostupné z: <http://www.eurachem.org>.
3. Grøn Ch., Hansen J.B., Magnusson B., Nordbotten A., Krysell M., Andersen K.J., Lund U.: Uncertainty from sampling - A NORDTEST handbook for sampling planners on sampling quality assurance and uncertainty estimation (NT TR 604), 2007. Dostupné z: <http://www.nordtest.info>.
4. Suchánek M. (Ed.): Nejistota měření vyplývající z odběru vzorků (Příručka Eurachem/CITAC/EUROLAB/Nordtest/UK RSC Analytical Methods Committee). In: KVALIMETRIE 15, Eurachem-ČR, Praha 2008. ISBN 80-86322-03-3.

PODĚKOVÁNÍ

Autor děkuje za finanční podporu MŠMT ČR v rámci projektu INTER-VECTOR (LTV 17015).

NOVÉ PŘÍSTUPY VE VZORKOVÁNÍ POVRCHOVÝCH VOD

Luboš Zelený

*Povodí Vltavy, státní podnik, Vodohospodářská laboratoř Plzeň, Denisovo nábřeží 14, 304 20 Plzeň
lubos.zeleny@pvl.cz*

Vzorkování povrchových vod zaznamenává v posledních letech značný rozvoj, který je podmíněn jednak změnami a revizemi norem řady ČSN EN ISO 5667, na druhé straně ale zejména rozvojem digitálních technologií a rovněž složitějšími požadavky od jednotlivých zákazníků. Příspěvek shrnuje základní změny v normách týkajících se vzorkování, předkládá čtenářům postupy aplikované ve vodohospodářských laboratořích Povodí Vltavy, státní podnik a informuje o některých složitějších procesech ve vzorkování povrchových vod.

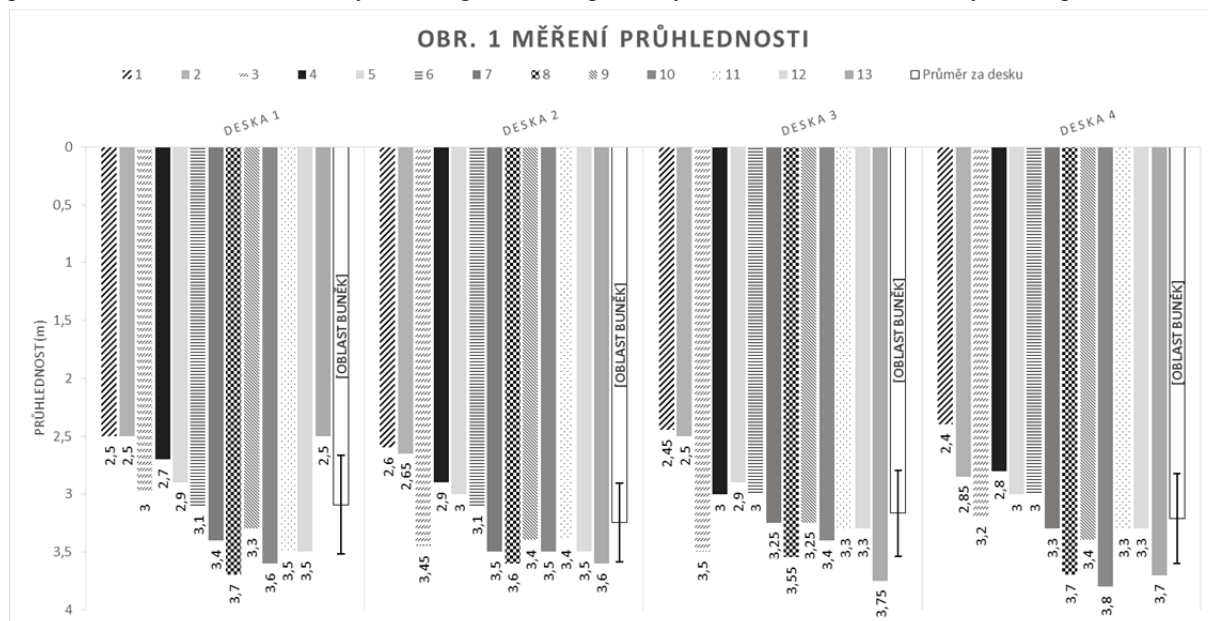
ZMĚNY V NORMÁCH

ČSN EN ISO 5667-3 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 3: Konzervace vzorků vod a manipulace s nimi

V lednu 2019 došlo k revizi důležité normy řešící konzervaci vzorků před odběrem, během odběru i následně v laboratoři. Norma rovněž velmi citlivě a důkladně řeší manipulaci se zkušebními vzorky, po té, co je vzorkaři dopraví do laboratoře. V první řadě došlo k aktualizaci odkazů v tabulce A.1 Obecně vhodné způsoby konzervace vzorků – Fyzikálně-chemický a chemický rozbor. Oproti předchozímu vydání normy (ISO 5667-3: 2012) předkládá revize nejnovější poznatky na danou problematiku. V normě nejsou uvedeny všechny metody pro dostupné analyty, což ale neznamená, že je laboratoř nemůže používat. V případě, že chce laboratoř používat jinou metodu, musí mít postup validován. Další podstatnou změnou je používání dob konzervace jednotlivých analytů. Podmínky konzervace, uchovávání a maximální doby uchovávání pro jednotlivé analyty uvedené v tabulce A.1 mají být považovány za standardní podmínky, pokud nejsou k dispozici další doplňující informace. I zde tedy platí, že laboratoř může používat odlišný způsob konzervace, než ten uvedený v normě, musí být však rovněž validován.

ČSN ISO 5667-4 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 4: Návod pro odběr vzorků z jezer a vodních nádrží

Revize normy z června 2018, která nahradila původní normu ČSN ISO 5667-4 z února 1994, obsahuje celou řadu změn, které se výrazně podepisují na kvalitě vzorkovacího procesu. V doplněné kapitole 9 Priorita postupů je jednoznačně definován a doporučen postup monitorovacích akcí na daném odběrovém místě. Monitoring stojatých vod by měl být zahájen měřením základních terénních parametrů (teplota vody, pH, rozpuštěný kyslík, konduktivita, zákal, teplota vody, případně různé typy chlorofylu). Hodnoty získané proměřením vodního sloupce pomůžou následně vzorkaři dobře pochopit stratifikaci vodní nádrže (chemickou i biologickou), lépe pak může zvolit vhodné odběrové schéma. Norma doporučuje ve skočné vrstvě proměřit opětovně hodnoty pH a rozpuštěného kyslíku. Podstatná část kapitoly je věnována měření průhlednosti Secchiho deskou, přestože je metodika popsána v ČSN EN ISO 7027. Podle normy ČSN ISO 5667-4 může mít Secchiho deska řadu různých forem, včetně bílé desky s průměrem 30 cm a desky s průměrem 20 cm s černými a bílými čtvrtinami. V souvislosti s různým tvarem a velikostí Secchiho desky provedly laboratoře Povodí Vltavy, státní podnik porovnávací měření, jehož výsledky jsou dále uvedeny v Obrázku č.1. Čísla 1-13 jsou označení jednotliví pracovníci úseků vzorkování a hydrobiologie vodohospodářských laboratoří Povodí Vltavy, státní podnik.



Rozsáhlou kapitolou, která byla doplněna, je kapitola 18 Prokazování a řízení kvality. Podrobnosti k jednotlivým postupům jsou uvedeny v normě ČSN EN ISO 5667-14, přesto jsou zde zmíněny důležité faktory ovlivňující vzorkovací proces. Mezi faktory ovlivňující nepříznivě odběr vzorků norma řadí tyto: výfukové plyny z motorových člunů (i automobilů), chemické látky používané v bezprostřední blízkosti odběru vzorku a používání přípravků pro ochranu, hubení či hnojení rostlin. Vzorek může být ovlivněn i nevhodnými vzorkovacími postupy jako je porušení dna nádrže při odebírání vzorku z profilu dno (zvířený sediment), na druhé straně odběr plovoucích vrstev (sinice, řasy), kontaminace vzorku nárostovými společenstvy řas (lana od bóje, trup lodě) či nátěrem trupu lodě. Velkou chybou je rovněž provzdušňování vzorku při jeho plnění do vzorkovnice (odběr vzorku pod jezovou zdrží či vodním stupněm) a nedostatečná homogenizace vzorku (při plnění vzorkovnic z větší nádoby – typicky u směsného vzorku z vodní nádrže). Norma rovněž řeší obecné principy při volbě materiálu vzorkovnic (adsorpce látek, špinavé vzorkovnice).

V informativní části A a B normy byly doplněny kapitoly, které se týkají příkladů vhodných vzorkovačů, dále jejich výhod a nevýhod oproti ostatním typům. Oproti předchozímu vydání normy je vložena rovněž informativní část C popisující odběr vzorků z člunů ve vztahu k udržování stále polohy plavidla. V případě, že je požadavek na změření správných hodnot pH a rozpuštěného kyslíku v nestabilních vzorcích, byla vložena informativní část E Kontinuální měření vzorků vody ponornými sondami.

ČSN EN ISO 5667-6 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 6: Návod pro odběr vzorků z řek a potoků

Revize normy proběhla v březnu 2017 a nahradila původní normu ČSN ISO 5667-6 z května 2008. Mezi významnější změny patří rozšíření a přepracování kapitol Termíny a definice, Návrh programu odběru vzorků, Nehomogenní místa. Dále došlo k výraznému přepracování a rozšíření kapitoly Odběr vzorků na určitých místech a kapitoly Bezpečnostní opatření. Stejně jako u normy ČSN ISO 5667-4 byla vložena příloha B, která předkládá Příklad protokolu o odběru vzorků z řek a potoků.

Se vzorkováním souvisí rovněž norma ČSN EN ISO 5667-14 Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 14: Návod pro prokazování a řízení kvality odběru vzorků vod a manipulace s nimi. Norma vydaná v lednu 2017 je svým zaměřením důležitá zejména pro manažery kvality a manažery vzorkování. Velmi pěkně a přehledně sumarizuje zdroje chyb při odběrech vzorků, což je velmi důležité pro stanovení nejistoty vzorkování. Hlavním obsahem normy jsou pokyny pro výběr a použití různých způsobů prokazování a řízení kvality při manuálním vzorkování povrchových, pitných, odpadních a podzemních vod.

Společně se změnami souvisejícími s revizemi základních norem, zavádí vodohospodářské laboratoře Povodí Vltavy, státní podnik další nové postupy a technologie ve vzorkování povrchových vod tekoucích i stojatých.

První výraznější změnou je postupné zavádění odběru směsného vzorku z nádrží dle platné metodiky na odběr vzorků fytoplanktonu (Komárková 2006) z proměnné hloubky (epilimnion nebo eufotická vrstva). Až doposud stačilo k hodnocení kvality nádrží odebírat směsné vzorky z epilimnia čtyř metrovou (speciálně upravenou) plastovou trubkou. Takový odběr byl prováděn bez ohledu na aktuální stav průhlednosti, pokaždé pouze z horizontu 0-4 m. Podle normy ČSN EN 16698 – Kvalita vod – Návod pro kvantitativní a kvalitativní odběr vzorků fytoplanktonu z vnitrozemských vod (duben 2016), by měl být odběr směsného vzorku ze stratifikovaných jezer během letní stagnace odebrán až do hloubky eufotické vrstvy nebo z epilimnia (podle toho, co je hlubší). Hloubku eufotické vrstvy lze snadno odvodit od aktuální průhlednosti stanovené Secchiho deskou. Za běžných podmínek je eufotická vrstva zhruba 2,5 x vyšší než aktuální průhlednost. Odběr vzorku lze provést speciálně upraveným hadicovým vzorkovačem (viz informativní příloha B normy ČSN EN 16698) nebo pomocí klasického hlubinného vzorkovače pro odběr vzorků z vertikálního profilu nádrže (kupř. typ Friedinger), kdy se odebere vzorek po metru až do požadované hloubky. Další typy vhodných vzorkovačů jsou uvedeny ve výše citované normě. Na vybraných nádržích napříč povodím Vltavy (VN Švihov, VN Lipno, VN Orlík, VN Římov aj.) provádí naše laboratoře duplicitní odběry vzorků na stanovení fytoplanktonu, kde se porovnává odběr z 0-4 m a odběr dle schválené metodiky. Kromě duplicitních výsledků fytoplanktonu se ve směsných vzorcích sledují i základní živinové parametry (celkový a rozpuštěný fosfor, P-PO₄, N-NH₄, N-NO₃, celkový dusík, TOC a chlorofyl *a*).

MOBILNÍ VZORKOVÁNÍ

V posledních letech přibývá měřících skupin a laboratoří, které začínají zavádět do procesu vzorkování nové technologie založené na principu bezdrátových přenosů souborů naměřených dat. Bezdrátová technologie je používána v mobilních telefonech, PDA (personal digital assistant), ale i v nejrůznějších GPS zařízeních. Tento přenos lze uskutečňovat několika způsoby, v našich podmínkách využíváme zejména technologii Bluetooth a Wi-Fi. Nespornou výhodou oproti klasickým postupům, je rychlejší a snadnější přenos naměřených dat do laboratorních databází, snižuje se rovněž chybovost při přepisu hodnot z papíru. Mobilní vzorkování může probíhat v laboratořích v několika etapách. V první fázi se laboratoře vybaví měřící technologií umožňující dálkový přenos dat, paralelně s tím však provádějí záznamy i v papírové podobě. Naměřená data pak v laboratoři exportují do databázového systému. Jakmile dojde k osvojení celého procesu, nastupuje druhá etapa, kdy za

použití specializovaného softwaru dojde k převedení veškeré odběrové dokumentace (odběrové protokoly, záznamy aj.) do prostředí mobilní aplikace. Postup zavedení mobilního vzorkování do praxe je velmi pečlivě diskutován a přiblížen v příspěvku Lenky Vavruškové a Jana Kabátové ve sborníku z Konference Hydroanalytika 2015. Pracovníci úseku odběru vzorků vodohospodářské laboratoře Povodí Vltavy, státní podnik (pobočka Plzeň) spustili v roce 2019 první fázi mobilního vzorkování, v souvislosti s přechodem na novou verzi Labsystému budeme v následujícím roce aplikovat druhou etapu, čili převedení veškeré odběrové dokumentace do prostředí mobilních zařízení.

LITERATURA

- Horálek V., Ševčík J.G.K., Čurdová E., Helán V. a kol. (2010): Vzorkování I – obecné zásady.- 2Theta. Český Těšín. 131 str.
- Kotlík B., Langhans J., Bernáth P., Kraják V. a kol. (2016): Vzorkování II – životní prostředí. – 2Theta. Český Těšín. 397 str.
- Langhans J. a Placer J. (2003): Vzorkování povrchových vod. – In: Helán V. (ed.), Odběry vzorků, str. 84-91.
- Vavrušková L. a Kabátová J. (2015): Zobrazení výsledků analýz pitné vody v gis a využití mobilní aplikace při vzorkování. - In: Hydroanalytika 2015, 21-24, Hradec Králové [sborník referátů 6. konference Hydroanalytika Hradec Králové 15. - 16.9. 2015].

NORMATIVNÍ ODKAZY

- ČSN EN ISO 5667-3 Kvalita vod. Odběr vzorků. Část 3: Konzervace vzorků vod a manipulace s nimi.
- ČSN EN ISO 5667-4 Kvalita vod. Odběr vzorků. Část 4: Návod pro odběr vzorků z jezer a vodních nádrží.
- ČSN EN ISO 5667-6 Kvalita vod. Odběr vzorků. Část 6: Návod pro odběr vzorků z řek a potoků.
- ČSN EN ISO 5667-14 Kvalita vod. Odběr vzorků. Část 14: Návod pro prokazování a řízení kvality odběru vzorků vod a manipulace s nimi.
- ČSN EN 16698 Kvalita vod. Návod pro kvantitativní a kvalitativní odběr vzorků fytoplanktonu z vnitrozemských vod.
- ČSN EN ISO 7027 Jakost vod. Stanovení zákalu.

ÚSKALÍ ODBĚRU TECHNICKÉHO SNĚHU

Michal Kubík

VHL Plzeň
Povodí Vltavy, s.p.

Výroba technického sněhu sněžnými děly je v současné době chápána jako běžná věc. Většině skiareálů napomáhá k prodloužení či zkvalitnění lyžařské sezony. Alfou a omegou umělého zasněžování jsou aditiva, která se přidávají do vody určené k výrobě technického sněhu. Díky přidavku aditiv lze vyrábět sníh i za zhoršených klimatických podmínek. V důsledku tání sněhu se tyto látky dostávají do vodních ekosystémů, potoků a řek. Aditiva pro výrobu technického sněhu po dlouhou dobu unikala pozornosti. Dnes jsme schopni díky pokročilým technologiím analytických laboratoří tyto látky v umělém sněhu stanovit. V podmínkách českých skiareálů se nejčastěji používají přípravky obsahující trisiloxany, zejména heptamethyltrisiloxany, prodávané např. pod obchodním názvem DRIFT® (Fuksa, 2018). Princip používání spočívá v jejich přidání do vody rozstříkované ze sněžných děl v období, kdy se teploty blíží nule a je vysoká vlhkost vzduchu. DRIFT® obsahuje z 84 % heptamethyltrisiloxany (Aquatrols, online). Při dodržení dávkování uvedené výrobcem se dávkuje 2,54 mg heptamethyltrisiloxanu na každý litr vody určený k výrobě sněhu.

Heptamethyltrisiloxan je syntetická látka člověku škodlivá při vdechování a pro vodní organismy je toxická. Toxicita DRIFTu® pro ryby je vyjádřena jako LC50 při koncentraci 6,8 mg/l a 96h expozici u Dánia pruhovaného (*Danio rerio*). Látka je navíc nebezpečná i z dlouhodobého hlediska díky vysokému bioakumulačnímu potenciálu (Aquatrols, online).

V zimní sezóně 2017/2018 proběhla na žádost MZe po celém území České republiky monitorovací akce. Jednalo se pravděpodobně o první plošné vzorkování sněhu na našem území, při kterém byl každý státní podnik Povodí pověřen k odběru 4 - 5 vzorků umělého sněhu v různých lokalitách daného povodí. V následujících řádcích se podrobněji zaměříme na úskalí, která tyto odběry provází.

Cíle monitoringu. Před samotným odběrem je třeba stanovit si cíle monitoringu. Při odběrech sněhu máme v zásadě dvě možnosti. První z možností je prokázání používání aditiv při výrobě technického sněhu. Toho lze dosáhnout i pomocí bodového odběru vzorku v místě s nejvyšším předpokládaným znečištěním. Druhou, náročnější možností je vyhodnocení celkové míry znečištění sněhu aditivou a následné určení dopadu jejich přítomnosti na danou lokalitu či povodí. Pro tyto účely je třeba vzorkovat celý sloupec sněhu a to v několika místech, reprezentativních pro danou lokalitu či část sjezdovky.

Znalost analytů. Před samotným odběrem je potřeba mít informace o hledaných látkách a jejich vlastnostech. V případech, kdy nemáme k dispozici standard konkrétní látky, volíme možnou alternativu dle výskytu charakteristických chemických skupin. Různé skupiny látek mohou vykazovat odlišné vlastnosti a tím pádem odlišně reagovat na různé povrchy. Výše zmíněný monitoring byl proveden za účelem potvrzení použití DRIFTu® a prokázání výskytu heptamethyltrisiloxanů. Z důvodu jejich významné sorpce na plastové povrchy bylo pro správné vzorkování zapotřebí vyhnout se odběrovému vybavení a vzorkovnicím vyrobeným z plastových materiálů.

Právo vstupu a odběru. Při odběru sněhu se většinou vstupuje na pozemky patřící státu, ve správě s. p. Lesy ČR. Nejasný může být právní vztah provozovatele skiareálu k pozemkům sjezdovek. Potřebu vstupu na cizí pozemek vymezuje zákon č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny, umožňující vstup do krajiny přes pozemky ve vlastnictví státu, nebo právnických osob včetně obcí. Na pozemky soukromých osob prakticky lze vstupovat, pokud v tom tyto vlastníci účinně nebrání. Na sníh je nahlíženo stejně jako na povrchovou vodu, která dle zákona 254/2001 Sb. není předmětem vlastnictví. Při každém vstupu a odběru je nutné dbát zvýšené opatrnosti a zamezit rizikům úrazu sebe i osob pohybujících se ve skiareálu.

Výběr lokality. Odběry je zapotřebí provést na vhodném reprezentativním místě s dostatkem sněhu po celou zimní sezonu. Pro potřeby bodového vzorku je ideální čerstvě vyrobený sníh přímo pod sněžným dělem. Zasněžovací zařízení mohou pracovat i přes noc a ihned po dokončení zasněžování může dojít k úpravě rolbou. To způsobí smísení sněhu čerstvě vytvořeného se sněhem starším, u kterého neznáme původ. Pokud situace neumožní ideální odběr, je vhodné znát aktuální umístění sněžných děl a odebírat vzorek v místech s největším předpokládaným znečištěním.

Načasování odběru. Je nedílnou součástí úspěšného odběru. Pro určení celkové míry znečištění je nutné provádět odběry v pravidelném intervalu po celou zimní sezonu. Ideální je sledování vývoje počasí a provozu ski areálu, ve kterém chceme odběr provádět. V tomto ohledu jsou pro nás velmi cenné záběry z webkamer, které jsou volně dostupné na internetu. Pokud se chystáme odebírat "čerstvý" technický sníh, musíme si být jisti, že jeho výroba probíhá v dostatečné míře. Snížíme tak pravděpodobnost, resp. míru ovlivnění vzorku přírodním sněhem. Aditiva napomáhají při výrobě sněhu při vyšších teplotách. Odběr pro zjištění využití aditiv je proto vhodné provádět v takovýchto podmínkách.

Odběrové vybavení. K odběru lze využít různých nástrojů. Je zapotřebí věnovat pozornost vlastnostem hledaných látek, aby nedošlo k ovlivnění vzorku případnou reaktivitou či sorpcí. Nejefektivnější se zdá využití vybavení pro vzorkování sedimentů. Sníh na sjezdovce je díky působení různých vlivů (rolba, lyžaři, tání a opětovné zmrznutí...) „utáhlý“ a pevný. Jeho horní vrstva může být zledovatělá a odběry sněhu tak v některých případech připomínají spíše odběry ledu. V těchto případech je potřeba vybavení, které umožní rozdrčení zledovatělé krusty. Ze zkušeností je nejosvědčenějším odběrovým nástrojem nerezová lopatka na sediment pro bodový vzorek a zatlučovací pŕlený jádrový vzorkovač na odběr sedimentu pro vzorkování celého sloupce. V závislosti na počasí a konzistenci sněhu lze volit různé průměry zatlučovacího vzorkovače dle aktuální potřeby. Před plněním do vzorkovnic je zapotřebí sníh zhomogenizovat. Pro homogenizaci lze využít opět lopatku na sediment a nerezový kbelík. Vhodným doplňkem je nálevka pro plnění úzkohrdých vzorkovnic a předmět na pŕchování sněhu ve vzorkovnici. Pŕchování vzorku se provádí z důvodu ztráty objemu sněhu v důsledku roztátí. Pro správné stanovení některých látek je zapotřebí až litr vody z rozpuštěného sněhu. Ztráta objemu v důsledku tání je odlišná v závislosti na typu sněhu a objemovém podílu vody. Udávaná hustota sněhu je od 0,05 pro čerstvě napadlý prašan až do >0,5 pro „firm“ (ČHMI, online).

Rozpoznání technického sněhu. Přírodní sníh má zcela odlišnou strukturu vloček, podle které se dá od technického bezpečně rozpoznat (obr 1 a 2). Platí to však pouze u čerstvě napadlého sněhu. Vločky přírodního sněhu v důsledku tání ztrácí rohy a hrany, získají oblý tvar a jsou téměř k nepoznání od sněhu technického (obr. 3). Vlivem lyžování se vločky přírodního sněhu taktéž rozlomí na částice nerozeznatelné od technického sněhu (Erbe a kol., 2003) (obr. 4). Rozeznat technický a přírodní sníh v terénu prostřednictvím běžných terénních parametrů také nelze. Parametry jako je konduktivita a pH lze běžným vybavením stanovit až po roztátí sněhu, navíc nemusí mít vždy vypovídající hodnotu.

Referenční vzorek. K prokazování použití a míry použití jakýchkoliv aditiv je stŕejní referenční vzorek. Ten je potřeba odebrat v těsné blízkosti odběrového bodu, zároveň však v místě které není ovlivněno sněhem technickým či ze sjezdovky.

Pŕce o vzorky a transport. V průběhu transportu se doporučuje udržovat vzorky v chlazeném prostředí. Nemŕlo by dojít k ohřátí vzorku, ani jeho části, na víc než 5°C. Praktické je využití termoboxů, ve kterých si vzorky v průběhu transportu přirozenŕ udržují svoji teplotu. S ohledem na možnost následného stanovení organických parametrů je vhodné nechat vzorky roztát při teplotŕ 5 °C, aby nedošlo k ovlivnění vzorku.

Výsledky odbŕrů sněhu státního podniku Povodí Vltavy.

Odbŕry byly provedeny v zimních sezónách 2017/2018 (značeno „17“) a 2018/2019 (značeno „18“) na pŕti různých lokalitách na Šumavŕ a ve Středočeskŕ pahorkatinŕ. Prokázat výskyt heptamethyltrisiloxanu se podařilo pouze na lokalitŕ č. 5 a to jen v sezónŕ 17. Nelze proto s určitostí prokázat plošné využití výše zmŕněných aditiv, ani určit jeho míru. Ve výsledcích nebyl prokázán žádný vztah mezi výskytem heptamethyltrisiloxanu a dalšími sledovanými parametry. Žádný ze sledovaných parametrů neprokazuje rozdílnost skupin technického a přírodního sněhu. Dle těchto stanovení tak nelze ani určit správnost odbŕru. Předpoklad vyšších hodnot konduktivity u technického sněhu nebyl prokázán.

Tabulka 1. Výsledky analýz odbŕrů sněhu státního podniku Povodí Vltavy.

Lokalita	Sezóna	Snŕh	Konduktivita	pH	CHSK Cr	NO ₃ ⁻	N-NO3	NH4	N-NH4	P _{celk}	Chloridy	Síraný	UV absorb. (254 nm)	heptamethyltrisiloxan
			mS/m		mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l		μg/l
1	17	T	0,4 ± 0,04	5,8 ± 0,1	18 ± 2,7	LOQ	LOQ	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,024 ± 0,004	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	17	P	0,5 ± 0,05	5,5 ± 0,1	12 ± 1,8	0,7 ± 0,1	LOQ	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,028 ± 0,004	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
1	18	T	1 ± 0,1	5,9 ± 0,1	46 ± 6,9	1 ± 0,2	0,2 ± 0,04	0,15 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,081 ± 0,012	1,3 ± 0,26	1,2 ± 0,24	0,017 ± 0,002	LOQ
2	17	T	0,3 ± 0,03	5,8 ± 0,1	14 ± 2,1	0,5 ± 0,1	LOQ	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,03	0,025 ± 0,004	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
2	18	P	0,3 ± 0,03	5,7 ± 0,1	19 ± 2,9	1 ± 0,2	LOQ	0,15 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,02 ± 0,003	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
3	17	T	0,3 ± 0,03	5,8 ± 0,1	9,3 ± 2,8	LOQ	LOQ	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,02 ± 0,005	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
3	18	P	0,4 ± 0,04	5,8 ± 0,1	18 ± 2,7	0,7 ± 0,1	LOQ	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,023 ± 0,004	LOQ	LOQ	LOQ	LOQ
4	17	T	0,61 ± 0,06	6,5 ± 0,1	14 ± 2,1	0,32 ± 0,1	0,07 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,1 ± 0,02	0,019 ± 0,004	0,64 ± 0,13	0,4 ± 0,08	LOQ	LOQ
4	17	T	0,34 ± 0,03	6,7 ± 0,1	12 ± 1,8	0,5 ± 0,1	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,038 ± 0,008	0,94 ± 0,19	0,83 ± 0,17	LOQ	LOQ
4	17	P	1,01 ± 0,1	6,1 ± 0,1	14 ± 2,1	0,5 ± 0,1	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,02	LOQ	0,31 ± 0,06	0,51 ± 0,1	LOQ	LOQ
4	18	T	48,3 ± 3,38	9 ± 0,15	44 ± 6,6	N	N	N	N	N	N	N	0,123 ± 0,006	LOQ
5	17	T	0,8 ± 0,06	6,5 ± 0,15	8,9 ± 2,7	1 ± 0,2	0,2 ± 0,04	0,12 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,065 ± 0,01	LOQ	2,1 ± 0,42	LOQ	7 ± 2,1
5	18	T	94,4 ± 6,61	9,8 ± 0,15	36 ± 5,4	N	N	N	N	N	N	N	0,138 ± 0,007	LOQ
5	18	T	4 ± 0,4	6,9 ± 0,1	17 ± 2,6	1,3 ± 0,3	0,29 ± 0,06	0,26 ± 0,05	0,2 ± 0,04	0,03 ± 0,006	3,2 ± 0,64	3,5 ± 0,7	0,089 ± 0,005	LOQ

Pozn. k tabulce 1: Snŕh: T (technický), P (přirodní); Sezóna: 17 (2017/2018), 18 (2018/2019) LOQ = pod mezí stanovitelnosti; N = nestanoveno.

ZÁVĚR

Vzorkování sněhu je pro nás stále novou kapitolou. Pro dosažení výše vytyčených cílů je potřeba sjednotit postup vzorkování. Především by nemělo docházet k opomenutí odběru referenčního vzorku. Pro vyhodnocení správnosti odběru, resp. rozdílu mezi technickým a přírodním sněhem, by bylo vhodné najít průkazný parametr. Jako průkazná možnost se jeví stanovení Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ (Jones a Devarennnes, 1995). Výše uvedená úskalí vzorkování technického sněhu jsou založena na praktických zkušenostech s danou problematikou.

CITACE:

ERBE, E. F., RANGO, A., FOSTER, J., JOSBERGER, E. G., POOLEY, Ch., WERGIN, W. P.: Collecting, shipping, storing, and imaging snow crystals and ice grains with low-temperature scanning electron microscopy. *Microscopy Research and Technique*. 2003, **62**(1), 19-32.

FUKSA, J.: Technický sníh a zasněžování - O co jde. *Limnologické noviny*. Praha, 2018, (1), 1-5. ISSN 1212-2920.

JONES, H. G., DEVARENNES, G.: The chemistry of artificial snow and its influence on the germination of mountain flora. *Biogeoclimistry of Seasonally Snow-Covered Catchm.* 1995, , 355 - 360.

Zákon č. 114/1992 Sb. Zákon České národní rady o ochraně přírody a krajiny.

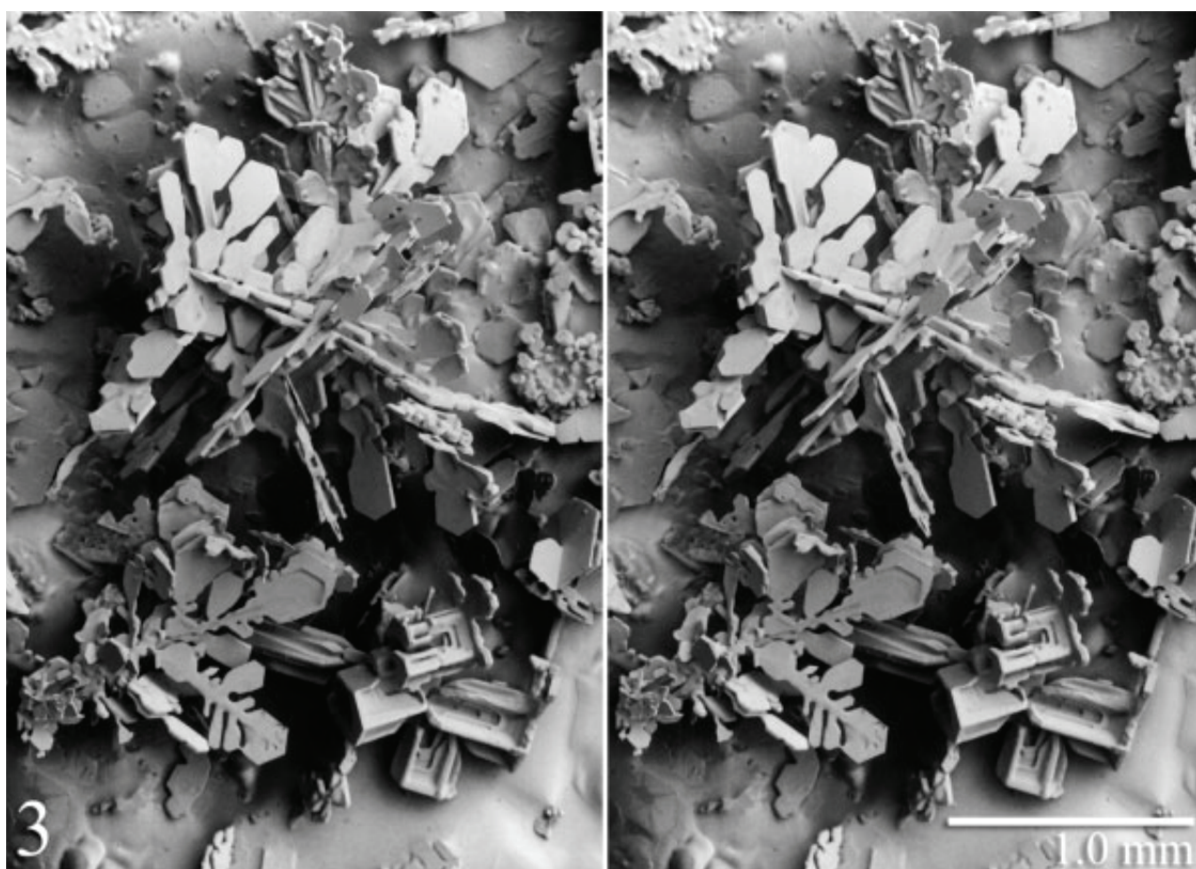
Zákon č. 254/2001 Sb. Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon).

ČHMI. *Hydrologie sněhu* [online]. [cit. 2019-06-08]. Dostupné z: http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/poboc/CB/snowmelt/navmenu.php_tab_1_page_3.1.0.htm

Aquatrol. Use Guidelines. *Snowmaking - Aquatrols* [online]. [cit. 2019-06-25]. Dostupné z: <https://aquatrols.com/wp-content/uploads/2016/10/DRIFT-Use-Guidelines.pdf>

Aquatrol. Drift SDS. *Snowmaking - Aquatrols* [online]. [cit. 2019-07-08]. Dostupné z: <https://aquatrols.com/wp-content/uploads/2016/09/Drift-SDS.pdf>

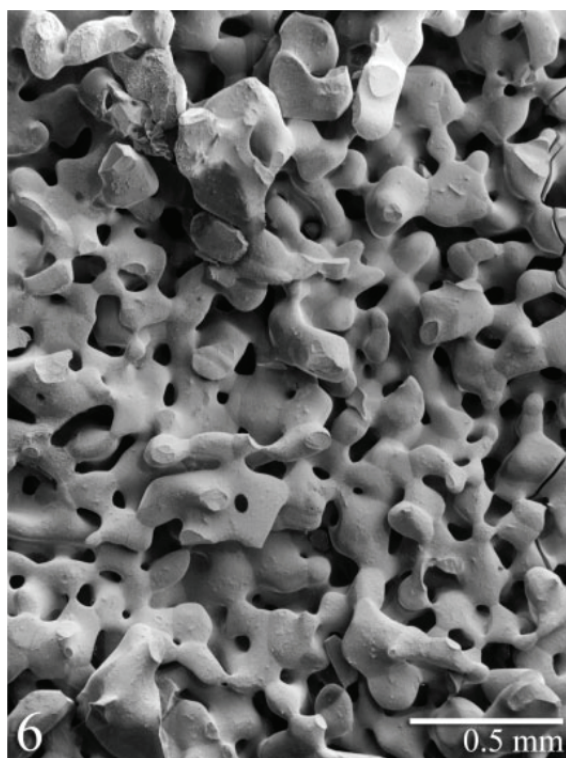
Obrázky: Všechny obrázky jsou převzaty z práce: Erbe a kol., 2003: Collecting, shipping, storing, and imaging snow crystals and ice grains with low-temperature scanning electron microscopy. !!



Č. 1.: Vločky čerstvě napadlého přírodního sněhu.



Č. 2.: Vločky čerstvě vytvořeného technického sněhu.



Č. 3.: Vločky přírodního sněhu, které vlivem tání ztratily svůj přirozený tvar.



Č. 4.: Vločky přírodního sněhu zhutněné a rozlámané vlivem lyžování

SEKCE POSTEROVÁ

MONITORING PESTICIDŮ, FARMAK A PRODUKTŮ OSOBNÍ PÉČE V POVODÍ DOLNÍ ÚHLAVY

Mian Koželuh, Eliška Valešová

Povodí Vltavy, státní podnik, Vodárna Plzeň a.s.

O PROJEKTU

Sledování cizorodých organických polutantů v povodí řeky Úhlavy probíhá již od 80. let minulého století. Hlavní motivací vždy byla ochrana řeky Úhlavy jako vodárenského zdroje pro plzeňskou aglomeraci. Po roce 2000 ovšem došlo k posunu těžiště sledovaných kontaminantů z původních polychlorovaných bifenylů (PCB), organochlorových pesticidů (OCP), polyaromatických uhlovodíků (PAU) či těkavých chlorovaných uhlovodíků, jejichž zdroje byly v povodí řeky Úhlavy díky tomuto monitoringu identifikovány, směrem k pesticidním látkám spíše polárního charakteru (triazinové herbicidy, chloracetanilidy), které jsou v místě vodárenského odběru v Plzni Doudlevcích setrvale detekovány, jako důsledky zemědělského zaměření povodí dolního toku Úhlavy. V posledních dvou desetiletích se však rozvíjí i monitoring průmyslových kontaminantů (benzotriazoly, perfluorované sloučeniny), nejvíce ale roste počet sledovaných účinných látek léčiv a prostředků osobní péče. Na rozdíl od prostředků na ochranu rostlin je používání těchto látek bez jakékoliv regulace či legislativních limitů, lze je však považovat za polutanty výhradně antropogenního původu. Od roku 2012 probíhá ve spolupráci s významnými regionálními vodohospodářskými subjekty pravidelné sledování celkového ovlivnění vodárenského povodí řeky Úhlavy organickými látkami antropogenního původu. Jedním z hlavních cílů tohoto projektu je vyhledávání nových relevantních látek, určení zdrojů znečištění a to jak obecně tak i jednoho konkrétního zdroje znečištění (ČOV, mikropovodí, zdravotnické zařízení apod.). Díky rozvoji analytických metod lze zaměřit sledování do oblasti aktivně používaných analytů a podle toho měnit monitoring tak, aby reagoval na vývoj jejich používání a informace takto získané umožňovaly optimální roční vyhodnocení.

PLÁN MONITORINGU A MONITOROVACÍ SÍŤ BODOVÝCH VZORKŮ

V roce 2018 byl kladen důraz na sledování sléváných vzorků z profilu Úhlava Plzeň Doudlevec, jejichž odběry realizovala Vodárna a.s. a jejichž analýzu prováděly laboratoře Povodí Vltavy, státní podnik (farmaka) a Vodárny Plzeň a.s. (pesticidy). Dále byly monitorovány nejvýznamnější přítoky řeky Úhlavy v rámci provozního monitoringu Povodí Vltavy, státní podnik, v tekoucích povrchových vodách s četností 12 bodových vzorků za rok. V rámci podniku Vodárny a.s. byly analyzovány i provozní a technologické vzorky surové i upravené vody. V provozním monitoringu Povodí Vltavy, státní podnik, byly sledovány tyto největší přítoky ve svých závěrových profilech:

- Drnový potok Klatovy pod ČOV
- Točnický potok Kokšín
- Poleňka Dolany
- Příchovický potok Příchovice

A také dva profily na páteřním toku Úhlavy:

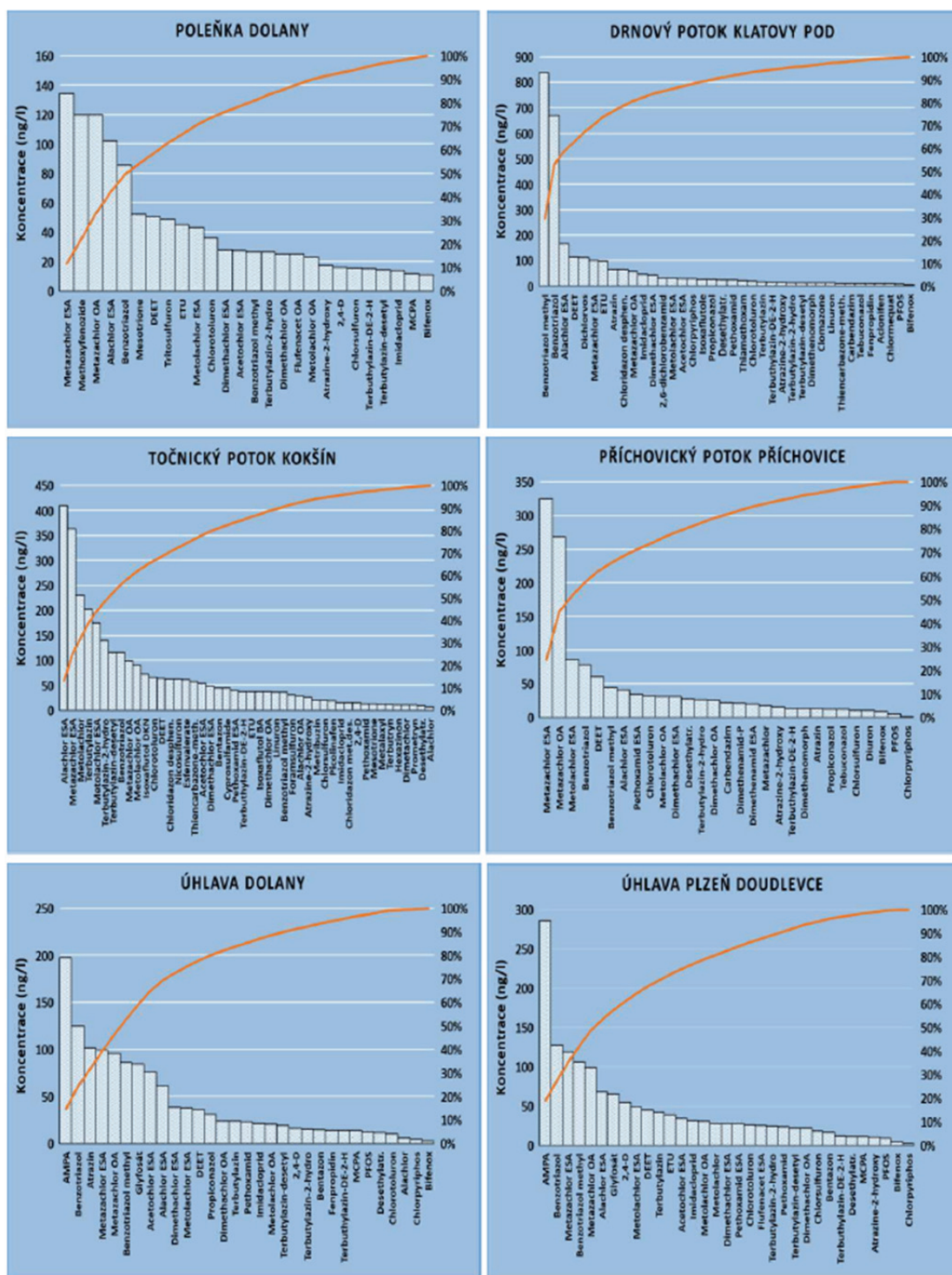
- Úhlava Dolany
- Úhlava Plzeň Doudlevec

U jednotlivých profilů byl analyzován nestejný rozsah parametrů, proto nelze získané výsledky u jednotlivých profilů vzájemně porovnávat. U všech monitorovaných profilů byl každý měsíc stanoven základní rozsah pesticidů. V profilech Poleňka Dolany, Točnický potok Kokšín a v obou profilech páteřního toku byl v měsících květnu a červnu analyzován i screeningový rozsah pesticidů a v obou profilech Úhlavy i glyfosát a jeho metabolit AMPA. Skupina analytů farmaka a prostředky osobní péče byly sledovány v profilu Drnový potok Klatovy pod, který je situován pod vyústěním ČOV Klatovy a v závěrovém profilu celého povodí Úhlavy v Plzni Doudlevcích.

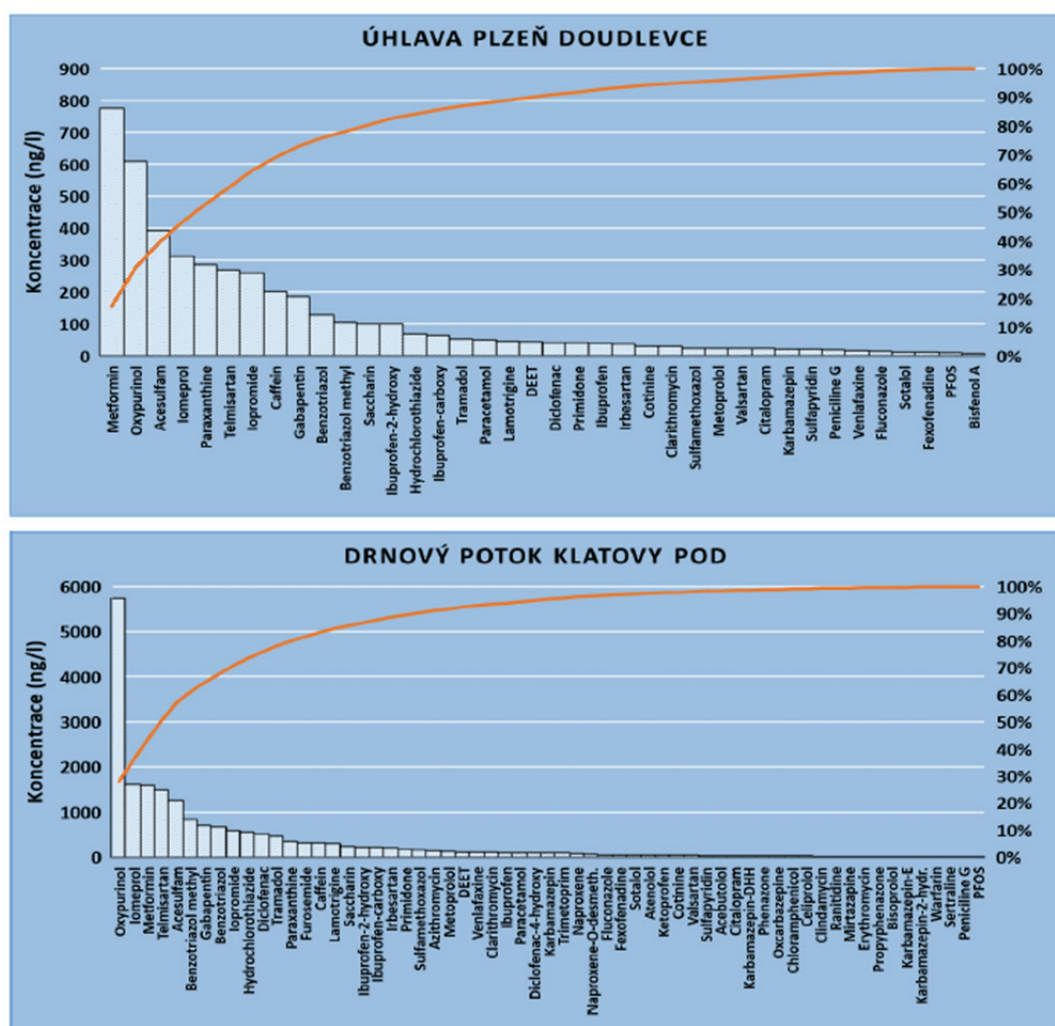
VÝSLEDKY

Pro hodnocení výsledků byly použity tabelární a grafické prezentace pozitivních koncentrací pesticidů, jejich metabolitů, benzotriazolů, farmak a PCP's. U pesticidů a metabolitů byly zdůrazněny koncentrace překračující povolené limity. Další kapitolou zpracování získaných dat byla tzv. bilanční analýza, což je kvalifikovaný odhad odnosu organických látek z monitorovaného povodí. Neméně důležitým cílem bylo provést roční i víceleté vyhodnocení monitoringu, jehož výsledky budou využitelné nejen pro technologické postupy úpravy pitné vody či pro vodohospodářské hodnocení jakosti vody v povodí řeky Úhlavy ze strany správce povodí, ale také jako nástroj při plánování monitoringu povodí řeky Úhlavy pro následující období - rok 2019.

Výsledky analýzy bodových vzorků jsou prezentovány Paretovými diagramy na Obr. 1-8. Sloupce znázorňují průměrnou koncentraci pozitivních nálezů jednotlivých analytů v ng/l pro rok 2018 a jsou seřazeny podle velikosti. Vložená křivka udává kumulativní koncentraci látek v procentech.



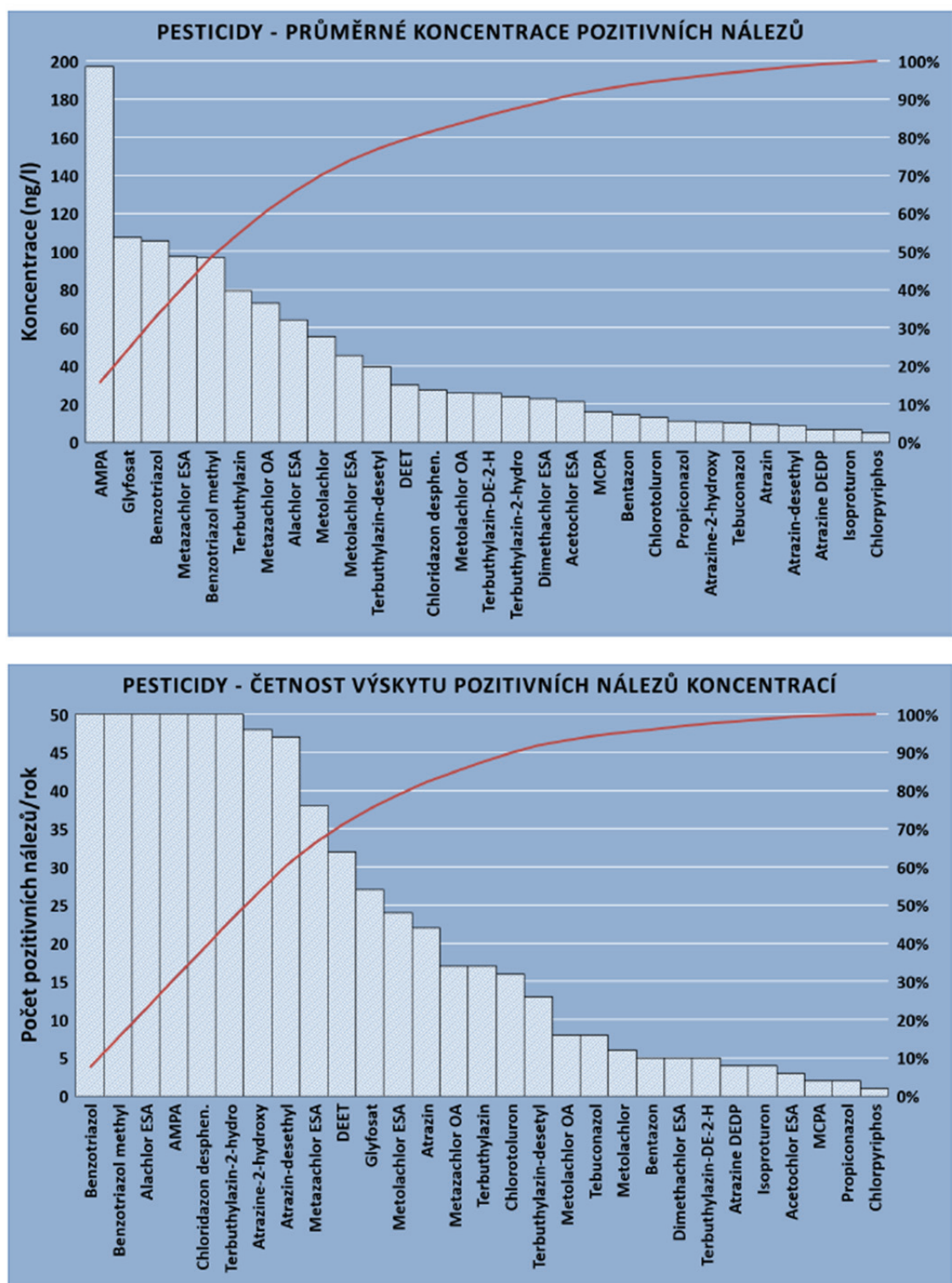
Obr. 1-6: Paretovy diagramy – pesticidy a metabolity, benzotriazoly, perfluorované sloučeniny, glyfosát a AMPA – průměrné koncentrace pozitivních nálezů v ng/l v r. 2018 – řeka Úhlava a důležité přítoky – měsíční bodové vzorky



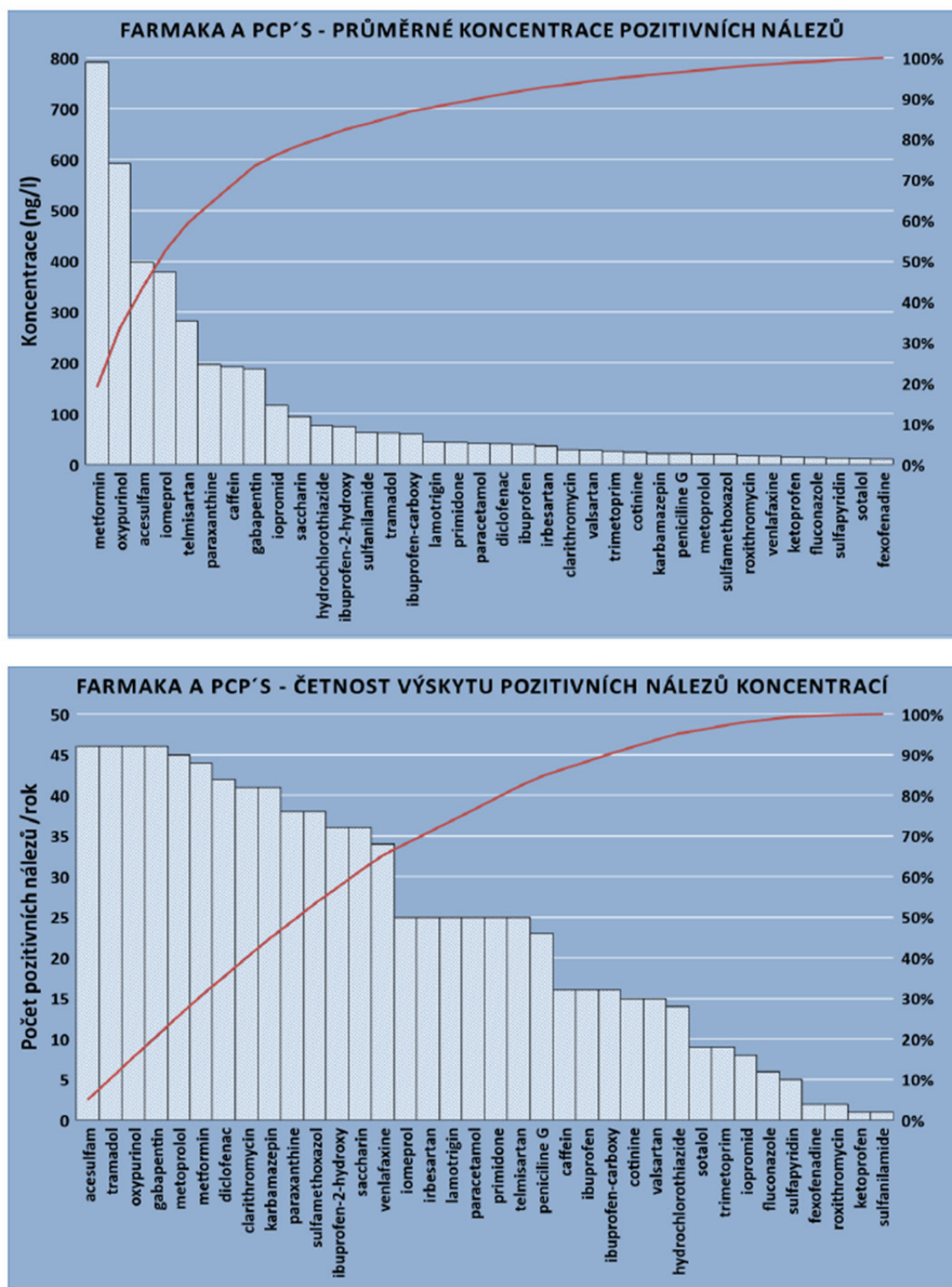
Obr. 7-8: Paretovy diagramy – farmaka a PCP's, benzotriazoly a perfluorované sloučeniny – průměrné koncentrace pozitivních nálezů v ng/l v r. 2018 – profily Úhlava Doudlevec a Drnový potok Klatovy pod – měsíční bodové vzorky

Týdenní slévané vzorky a analýza látkového odnosu

Celoročně realizované slévané vzorky přináší komplexní informaci o průměrném týdenním zatížení koncového profilu řeky Úhlavy v Plzni Doudlevcích. V r. 2018 byly vynechány pouze dva týdny v závěru roku, kdy z technických důvodů nebylo možno vzorek odebrat. Ve skupině pesticidy byl analyzován výběr 64 relevantních analytů, z tohoto počtu se alespoň jedenkrát v koncentraci nad mezí stanovitelnosti vyskytovalo 29 analytů (45%). V případě skupiny farmaka a PCP's bylo analyzováno 81 analytů, z nichž se alespoň jedenkrát v koncentraci nad mezí stanovitelnosti vyskytovalo 36 analytů (44%). Jednotlivé analyty seřazené jednak podle četnosti výskytu pozitivních nálezů a dále podle hodnoty průměrné koncentrace pozitivních nálezů jsou prezentovány Paretoovými diagramy Na Obr. 9 až 12.

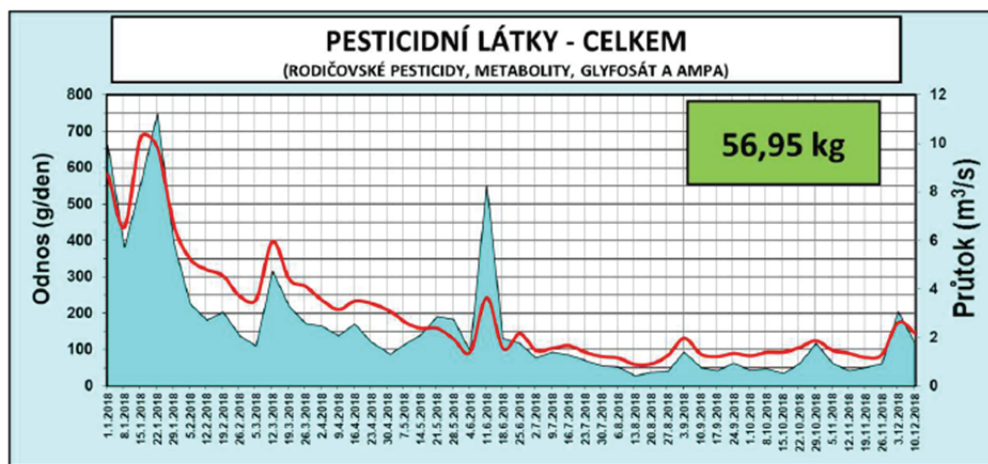


Obr. 9-10: Úhlava Plzeň Doudleves – pesticidy – Paretoovy diagramy – sloupce znázorňují průměrnou koncentraci pozitivních nálezů, resp. četnost výskytu pozitivních koncentrací jednotlivých analytů. Vložená křivka představuje kumulativní koncentraci, resp. četnost v procentech.

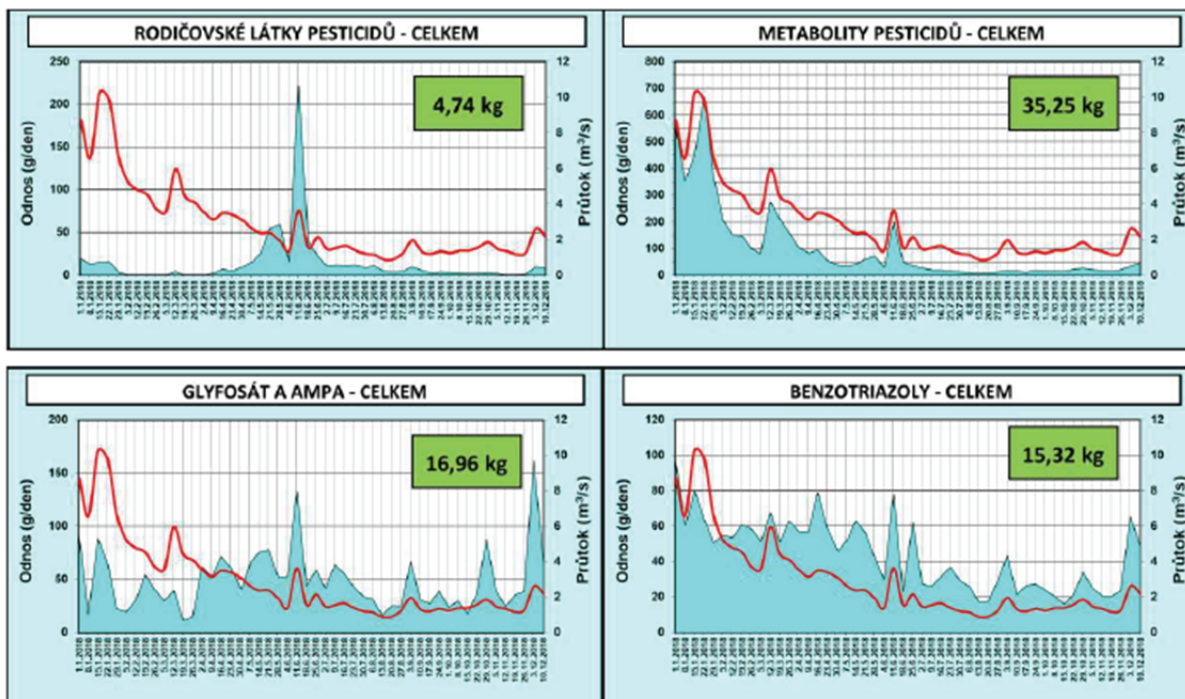


Obr. 11-12: Úhlava Plzeň Doudlevice – FARMAKA a PCP's – Paretovy diagramy

Bilanční analýza specifických organických látek v povodí Úhlavy se zabývá určením míry zatížení řeky Úhlavy v místě vodárenského odběru z pohledu látkového odnosu pesticidů a jejich metabolitů, farmak a PCP's, benzotriazolů a perfluorovaných sloučenin. K jejímu výpočtu byly použity hodnoty koncentrací získaných analýzou týdenních slévaných vzorků a týdenních průměrných průtoků. K získání hodnot průměrných týdenních průtoků vody bylo využito stacionární limnigrafické stanice ve Štěnovicích spravované vodohospodářským dispečinkem státního podniku Povodí Vltavy. Metodika pro bilanční výpočet množství specifických organických látek byla převzata z práce Metodika bilanční analýzy zdrojů živin v povodí (Josef Hejzlar, Biologické centrum AV ČR, v.v.i – Hydrobiologický ústav, České Budějovice, 2010), která byla vytvořena pro výpočet odnosu fosforu. Kontinuální sledování pesticidů a benzotriazolů ve vodárenském profilu Úhlava Plzeň Doudlevec probíhá nepřetržitě od dubna 2014. Jedná se o sběr denních dvouhodinových slévaných vzorků, ze kterých je vytvořen týdenní proporcionální slévaný vzorek. Na Obr. 14-17 jsou znázorněny roční průběhy odnosu jednotlivých skupin pesticidních látek (rodičovských pesticidů, metabolitů a glyfosátu a AMPA) a benzotriazolů v místě odběru surové vody pro Vodárnu Plzeň a.s. v Plzni Doudlevecích v roce 2018. Celkový odnos všech pesticidních látek (rodičovských pesticidů, metabolitů a glyfosátu a AMPA) je znázorněn na Obr. 13.

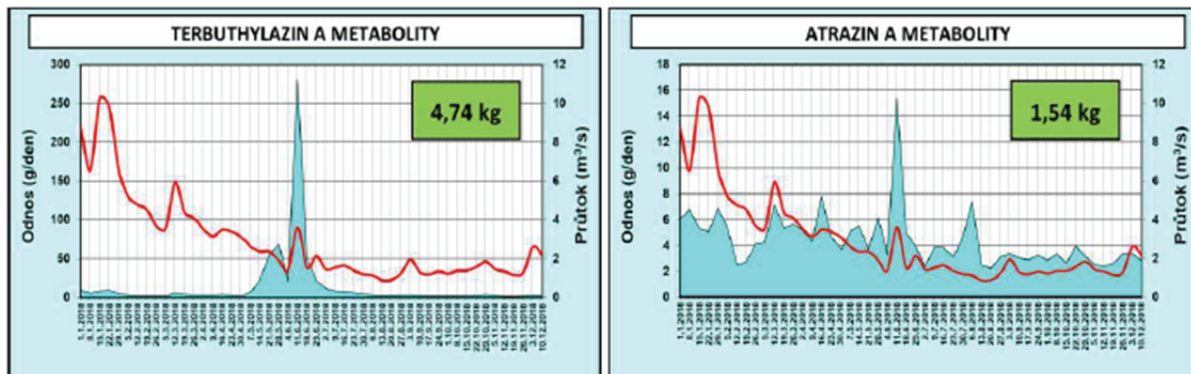


Obr. 13: Úhlava Plzeň Doudlevec - roční průběh celkového odnosu měřených pesticidních látek (rodičovských pesticidů, metabolitů a glyfosátu a AMPA) v roce 2018.



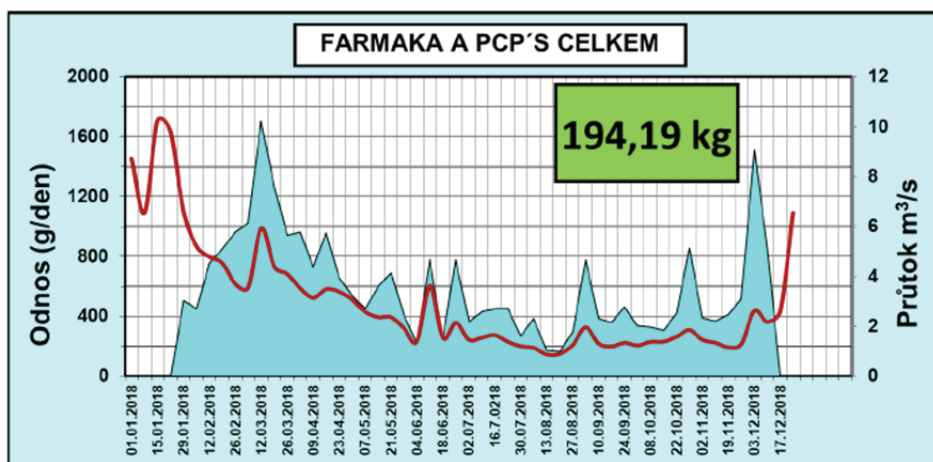
Obr. 14-17: Úhlava Plzeň Doudlevec - roční průběhy odnosu pesticidních látek (rodičovských pesticidů, metabolitů a glyfosátu a AMPA) a benzotriazolů v roce 2018.

Na Obr. 18 je zobrazen roční odnos terbuthylazinu a jeho tří metabolitů (terbuthylazinudesethyl, terbuthylazinu-2-hydroxy a terbuthylazinu-desethyl-2-hydroxy) jako příklad pesticidu, který vykazuje význačné maximum v období aplikace. Po zbytek roku jsou koncentrace zpravidla pod mezí stanovitelnosti. Na Obr. 19 je znázorněn roční průběh odnosu atrazinu a jeho metabolitů (atrazin-desethyl, atrazin-2-hydroxy a atrazin-desethyl-2-hydroxy) jako příklad nepovoleného používání nepovolených přípravků. Nálezy atrazinu se vyskytovaly i v předchozích letech a vždy ukazovaly na recentní aplikace pocházející nejspíše ze starých zásob.



Obr. 18 a 19: Úhlava Plzeň Doudlevec - roční průběh odnosu terbuthylazinu a atrazinu včetně příslušných metabolitů (2018)

Stanovení farmak a PCP's v týdenním slévaném vzorku probíhalo od 29.1. do 16.12.2018. Výpočet odnosů účinných látek léčivých přípravků z povodí Úhlavy byl v roce 2018 proveden podruhé a počet měřených analytů se meziročně zvýšil z 52 analytů v roce 2017 na 81 analytů v roce 2018. Vzhledem k tomu, že stále nejsou podchyceny všechny relevantní analyty z této skupiny, pokračuje nárůst jejich počtu i v dalších letech. Těžiště zájmu cílí především na účinné látky a metabolity ze skupin antibiotik, látek tišících bolest, betablokátorů, antiflogistik, rentgenkontrastních látek, nově jsou sledovány např. onkologické léky, léky proti Alzheimerově chorobě, hypertenziva atd. Seznam analytů obsahuje také potravinářské doplňky (sacharin) nebo povzbuzující látky (kofein). Celkový odnos léčiv a PCP's je uveden na Obr. 20. Výsledky ukazují, že celkový roční odnos skupiny farmaka a PCP's za r. 2018 v profilu Úhlava Doudlevec je 194 kg. Nejvýrazněji zastoupenými látkami jsou – metformin (27,09 %), oxypurinol (17,66 %), acesulfam (13,83 %), gabapentin (6,52) a paraxantin (6,18 %). Spotřeba metforminu (léku proti cukrovce) v České Republice jej řadí k nejpoužívanějším farmaceutickým přípravkům. Roční průběh odnosů kopíruje poměrně spolehlivě průtokové poměry bez řádových navýšení, což potvrzuje stabilní vnos těchto látek z bodových zdrojů, a vylučuje případné jednorázové „výplachy“ při extrémních hydrologických stavech. Zvýšený odnos v zimních měsících (začátek a konec roku) lze navíc přisuzovat i zvýšenému výskytu onemocnění v tomto období (choroby dýchacích cest, chřipkové epidemie aj.).



Obr. 20: Úhlava Doudlevec - roční průběh celkového odnosu měřených analytů skupiny farmaka a PCP's v roce 2018.

HODNOCENÍ A ZÁVĚRY

- V roce 2018 byl vývoj látkového odnosu pesticidních látek ovlivněn nízkým výskytem srážek. Množství odnesených pesticidů a metabolitů bylo nejnižší za posledních 6 let. Během roku se objevilo pouze maximum terbuthylazinu. Celkem bylo ze sledovaného území povodí Úhlavy odneseno 4,74 kg rodičovských pesticidů a 35,25 kg sledovaných metabolitů pesticidů. Dominují metabolity chloracetanilidů (ESA, OA), které se vyskytují celoročně. Rodičovské látky se objevují pouze v období aplikace.
- Benzotriazoly se vyskytují celoročně, v roce 2018 bylo odneseno 15,3 kg.
- Hodnocení pesticidního zatížení bylo doplněno o analýzu dat naměřených koncentrací z bodových odběrů na závěrových profilech přítoků řeky Úhlavy. Hodnoty koncentrací jsou oproti předchozím rokům nižší. Proporcionálně se výsledky přítoků shodují s výsledky v koncovém profilu řeky Úhlavy v Plzni Doudlevcích. Byla provedena analýza odnosů vybraných farmak a produktů osobní péče (skupina farmaka a PCP's). Oproti r. 2018 vzrostl počet sledovaných analytů z 50 na 81 látek. V roce 2019 probíhá další rozšiřování této analytické skupiny, z tohoto důvodu není možný výsledek porovnávat meziročně. Výsledky ukazují, že řekou Úhlavou protékalo za r. 2018 cca 194 kg analytů. Dominantním analytem je metformin, který tvoří 27 % všech sledovaných analytů dané skupiny.
- Hodnocení vybraných farmak a PCP's ukazuje na významné ovlivnění Drnového potoka odpadními vodami z městské ČOV v Klatovech, což potvrzuje teorii „velkého sídla na malém toku“, kdy ředící poměr v recipientu je nízký. Zároveň je prokázáno snížení koncentrace těchto látek v koncovém profilu řeky Úhlavy až o jeden řád.
- Pokračování monitoringu týdenních slévaných vzorků je i nadále užitečné. Pro další období lze doporučit minimalizovat počet neuskutečněných odběrů. Tyto absence ovlivňují bilanční vyhodnocení a vzhledem k sezónním i hydrologickým anomáliím je lze obtížně odhadovat.

LITERATURA

- [1] NAŘÍZENÍ VLÁDY č. 61/2003 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb. a nařízení vlády č. 23/2011 Sb. (2003)
- [2] HEJZLAR, J.: Metodika bilanční analýzy zdrojů živin v povodí, Biologické centrum AV ČR, v.v.i – Hydrobiologický ústav, České Budějovice (2010)

SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ŽELEZA S 1,10-FENANTROLINEM

Hana Kujalová, Lydie Černá, Vladimír Sýkora

Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6

ÚVOD

Spektrofotometrická metoda stanovení železa ve vodách s 1,10-fenantrolinem je založena na reakci iontů Fe^{2+} a činidla 1,10-fenantrolinu za vzniku oranžového komplexu. Vybarvovací reakci předchází převedení všech forem železa přítomných ve vzorku na ionty Fe^{3+} , a to pomocí $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ za varu v kyselém prostředí a následná redukce hydroxylaminhydrochloridem na ionty Fe^{2+} . Reakce s 1,10-fenantrolinem kvantitativně probíhá při pH 3,5 až 5,5. Absorbance vybarveného vzorku se měří při vlnové délce 510 nm a je přímo úměrná koncentraci železa v původním vzorku.

Tato metoda byla publikována ve *Standard Methods for the Examination of Water and Sewage* [1] již v roce 1913, kde je odkazováno na literaturu z roku 1902. V české literatuře lze kořeny této metody nalézt v knize *Analytická chemie kvantitativní* vydané v roce 1968 [2], která odkazuje na *Příručku pro analýzu vody* z roku 1961 [3], v níž je dále odkazováno na starší literaturu z roku 1955. V současné době je metoda specifikována v normě ČSN ISO 6332 [4]. Podrobnosti o principu, pracovním postupu a eliminaci rušivých vlivů lze nalézt ve skriptech VŠCHT *Analytika vody* [5], která vycházejí z publikace *Chemické a fyzikální metody analýzy vod* [6].

Srovnáme-li metodiku popsanou v jednotlivých výše uvedených literárních zdrojích, zjistíme, že se liší pouze v detailech, např. v koncentraci nebo přidávaném množství používaných činidel. Rovněž nalezneme drobné odchylky v pracovním postupu, avšak princip stanovení a volba činidel jsou ve všech variantách totožné. V případě dlouhodobého používání metody však lze odhalit určité slabiny, z nichž některé mohou být zdrojem chyby stanovení. Cílem této práce proto bylo kritické zhodnocení metodiky a její optimalizace. Zároveň byla prověřena stálost používaných činidel a reakčního produktu a určeny vybrané validační parametry.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Jako výchozí byla použita metodika stanovení železa dle ČSN ISO 6332.

Činidla

Peroxodisíran draselný, roztok ($\rho = 40 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$)

Používá se na uvolnění železa z iontových asociátů a na oxidaci dvojmocného železa na trojmocné. Roztok peroxodisíranu se připraví rozpuštěním 4 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ v demineralizované vodě a doplněním objemu na 100 ml.

Hydroxylaminhydrochlorid, roztok ($\rho = 100 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$)

Slouží jako redukční činidlo k převedení iontů Fe^{3+} na Fe^{2+} . Roztok se připravuje rozpuštěním 10 g hydroxylaminhydrochloridu v demineralizované vodě a doplněním objemu na 100 ml. Uchovává se v tmavé lahvi v chladu a stálost je minimálně týden [3, 4]. Dle Nařízení ES č. 1272/2008 je hydroxylaminhydrochlorid klasifikován jako nebezpečná látka. Způsobuje vážné podráždění očí, je zdraví škodlivý při styku s kůží, může způsobit poškození orgánů při prodloužené či opakované expozici, je vysoce toxický pro vodní organismy a podezřelý z karcinogenity [7]. Nesmí se vypouštět do kanalizace; musí se likvidovat jako nebezpečný odpad [7].

Octanový tlumivý roztok

Zajišťuje optimální hodnotu pH pro vybarvovací reakci (pH 3,5 až 5,5) a tlumí případné změny pH reakční směsi. Připravuje se rozpuštěním 40 g octanu amonného v demineralizované vodě, pak se přidá 50 ml ledové kyseliny octové a roztok se doplní na 100 ml demineralizovanou vodou.

1,10-fenantrolin, roztok ($\rho = 4,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$)

Roztok 1,10-fenantrolinu se používá jako vybarvovací činidlo. Připravuje se rozpuštěním 0,5 g monohydrátu 1,10-fenantrolinhydrochloridu ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$), resp. 0,42 g monohydrátu 1,10-fenantrolinu ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) a doplněním na objem 100 ml demineralizovanou vodou, resp. demineralizovanou vodou se 2 kapkami konc. HCl. Uchovává se v tmavé lahvi a stálý je týden. Fenantrolin je podle Nařízení ES č. 1272/2008 klasifikován jako nebezpečná látka. Je toxický při požití a vysoce toxický pro vodní organismy [8]. Nesmí se vypouštět do kanalizace; musí se likvidovat jako nebezpečný odpad [8].

Standardní roztok Fe

Používá se k přípravě kalibračních roztoků. Připravuje se rozpuštěním navážky železného drátu o vysoké čistotě v demineralizované vodě okyselené přídavkem HCl, anebo se používají komerčně dostupné standardní roztoky.

Postup

Vzorky se odebírají do skleněných vzorkovnic se zábrusovým uzávěrem a již při odběru se okyseli přidavkem 1 ml konc. H_2SO_4 na 100 ml vzorku. Pro stanovení rozpuštěného železa se do 100ml varné baňky odpipetuje 50 ml okyseleného vzorku, přidá se 5 ml roztoku $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ a vaří se po dobu 40 min. V průběhu varu je potřeba doplňovat odpařenou vodu tak, aby objem roztoku neklesl pod 20 ml. Po skončení varu se roztok ochladí, kvantitativně převede do 50ml odměrné baňky a doplní demineralizovanou vodou na rysku. Pak se přelije do 100ml lahvičky, přidá se 1 ml roztoku hydroxylaminhydrochloridu, promíchá se a přidají se 2 ml octanového tlumiče. Hodnota pH se nastaví na 3,5 až 5,5 (optimálně 4,5). Přidají se 2 ml roztoku 1,10-fenantrolinu, roztok se promíchá a na 15 min se ponechá ve tmě. Potom se měří absorbance při vlnové délce 510 nm.

V případě stanovení celkového železa, tedy rozpuštěného i nerozpuštěného, analýze předchází rozklad pomocí HNO_3 a HCl (5 ml konc. HNO_3 a 10 ml konc. HCl na 50 ml vzorku) při teplotě 70°C až 80°C po dobu 30 min, resp. do rozpuštění. Pak se přidají 2 ml konc. H_2SO_4 a odpařuje se do objevení bílého dýmu, nikoliv však do sucha. Po ochlazení se přidá 20 ml demineralizované vody, roztok se kvantitativně převede do 50ml odměrné baňky a dále se takto upravený vzorek zpracovává jako při stanovení rozpuštěného železa.

Optimalizace metody

Byly identifikovány různé slabiny metody stanovení železa dle ČSN ISO 6332 a bylo navrženo jejich řešení:

Fáze oxidace

Při zahřívání okyseleného vzorku s peroxodisíranem často dochází k utajenému varu a nekontrolovatelnému vystřikování reakční směsi z baněk, což způsobuje negativní chybu stanovení (podhodnocení výsledků) a zabraňuje získání řádné kalibrační závislosti. Ve skriptech Analytika vody [5] je doporučeno používat skleněné varné kuličky a vkládat do baňky tyčinku, avšak toto opatření se ukázalo jako nedostatečně účinné. Jako spolehlivá prevence utajeného varu bylo shledáno použití porcelánových střípků. Stejně jako ostatní nádoby používané na stanovení železa je potřeba střípky čistit pomocí konc. HCl . Důležité je, aby povrch střípků byl čistý a porézní. Vkládání skleněné tyčinky není nutné.

V některých postupech (např. dle lit. [1, 5]) se pro okyselení vzorku před varem uvádí kyselina chlorovodíková. Vzhledem k tomu, že potom ze vzorků při varu uniká do ovzduší plynný chlorovodík, jeví se vhodnější vzorky okyselovat kyselinou sírovou.

Pro var lze doporučit 100ml kónické baňky umístěné po 4 až 6 kusech na plotýnce elektrického vařiče. Odpařenou vodu je vhodné doplňovat pomocí stříčky opakovaně po velmi malém množství, aby nedošlo k přerušení varu. Výsledný objem v okamžiku ukončení varu by měl být v rozmezí 20 ml a 30 ml.

Adjustace objemu

Přelévání vzorku po doplnění objemu v 50ml v odměrné baňce do 100ml (nekalibrované) lahvičky se jeví jako zbytečné. Tím, že se poté přidává několik činidel a před měřením absorbance se objem již nedoplňuje na rysku, se vnáší riziko chyby stanovení způsobené nepřesným dávkováním, resp. rozdíly ve výsledném objemu vybarvených vzorků. Problém by nastal rovněž v případě potřeby upravit pH reakční směsi přidavkem kyseliny či zásady (viz dále). Proto lze doporučit ponechání vzorku v 50ml odměrné baňce a teprve po přidavku všech činidel roztok doplňovat na rysku demineralizovanou vodou, jak je uvedeno v lit. [5].

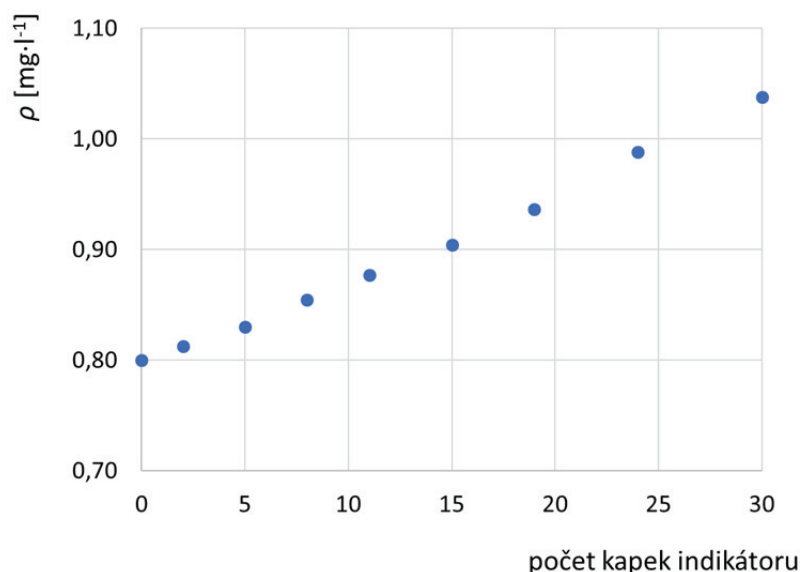
Redukční činidlo

Jako redukční činidlo se používá hydroxylaminhydrochlorid, který je toxický, a proto za něj byla hledána náhrada. Doporučit lze kyselinu askorbovou. Vhodnost jejího použití byla ověřena na souboru reálných vzorků: výsledky stanovení s kyselinou askorbovou se významně nelišily od paralelně získaných výsledků stanovení s hydroxylaminhydrochloridem. Bylo prokázáno, že při použití 10% roztoku kyseliny askorbové je účinnost redukce srovnatelná jako v případě roztoku hydroxylaminhydrochloridu. Dále byla prokázána stálost obou roztoků redukčních činidel minimálně 3 týdny, skladují-li se v tmavých lahvích v chladničce.

Úprava pH

Po redukci, která má probíhat v silně kyselém prostředí, se přidává octanový tlumič a hodnota pH se „nastaví“ na 3,5 až 5,5 (optimálně 4,5). V normě ovšem není specifikováno, jakým způsobem se má toto „nastavení“ realizovat a hodnota pH ověřit. Zkušenosti ukazují, že standardní přidavek 2 ml tlumiče nepostačuje univerzálně u všech vzorků. Pokud jde o ověření pH, při použití pH-metru nelze zabránit ztrátám či naředění vzorku. Elegantní řešení je navrženo ve skriptech Analytika vody [5]: přidává se acidobazický indikátor bromfenolová modř, jehož barevný přechod ze žluté do modré nastává v intervalu pH 3,0 až 4,6. Osvědčilo se použití většího množství octanového tlumiče (5 ml nebo 10 ml) a z důvodu, že je žádoucí indikátoru přidávat co nejmenší množství a zbarvení je patrné pouze v okolí kapky přidaného indikátoru, lze doporučit použití odměrných válečků namísto odměrných baněk, v nichž indikátor často ulpí na stěně „krku“. Odměrné válečky navíc usnadňují případné ředění vzorku před analýzou. Je-li zbarvení žluté, přidá se několik kapek roztoku NaOH ($c = 5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) a po promíchání se znovu přidá kapka indikátoru. Dle potřeby se postup opakuje, dokud není dosaženo barevného přechodu ze žluté na modrou (příp. lze mezitím zachytit zelenou). Důležité je používat

bromfenolovou modř pouze v nezbytně nutném množství, tzn. co nejmenší počet malých kapiček. Experimenty totiž prokázaly, že zbarvení indikátoru ovlivňuje absorbanci vybarveného vzorku a větší množství indikátoru tudíž způsobuje pozitivní chybu stanovení (nadhodnocení výsledků), viz Obr. 1. Přesto lze používání bromfenolové modři pro kontrolu pH doporučit. Pokud je totiž hodnota pH nižší, než je požadováno, nedochází po přidavku 1,10-fenantrolinu k vybarvení vzorku a výsledky by byly falešně negativní.



Obr. 1: Vliv přidání množství indikátoru na stanovenou koncentraci Fe modelového roztoku o nominální koncentraci $\rho = 0,80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ v kyvetě o optické délce 2 cm

Vybarvovací činidlo

Koncentrace 1,10-fenantrolinu uvedená v jednotlivých publikacích se liší, což ale nemá vliv na stanovení, protože vybarvovací činidlo se používá v nadbytku. Stálost roztoku vybarvovacího činidla se uvádí [4] jeden týden, ve skutečnosti je ovšem několiknásobně delší, pokud se roztok skladuje v tmavé lahvi (v chladničce netřeba).

Standardní roztok Fe

Kalibrační roztoky byly připravovány ředěním standardního roztoku Fe určeného pro AAS o koncentraci Fe $1000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (výrobce Sigma Aldrich). Zásobní roztok Fe lze také připravit z Mohrovy soli: roztok o koncentraci Fe $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ se získá rozpuštěním navážky $1,4044 \text{ g Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ v 5 ml demineralizované vody okyselené 2 ml konc. H_2SO_4 a doplněním na 1000 ml v odměrné baňce. Nedostatkem je, že Mohrova sůl není základní látka a nelze ji zbavovat vlhkosti v sušárně, neboť by docházelo ke ztrátě krystalové vody. Avšak výtěžnost se v případě použití Mohrovy soli pohybovala od 101 % do 117 % (průměrně 106 %), což je poměrně uspokojivé. Pro ředění zásobního roztoku Fe připraveného z Mohrovy soli se při přípravě kalibračních roztoků používá demineralizovaná voda okyselená 1 ml konc. H_2SO_4 do 1000 ml vody. Příprava standardního roztoku rozpouštěním železného drátu se nejvíce vhodná z důvodu tvorby oxidačních produktů na povrchu a obtížného dosažení přesné navážky.

Reakční doba

Absorbanci není nutné měřit přesně 15 min po přidání vybarvovacího činidla, předepsanou reakční dobu lze překročit. Stálost reakčního produktu byla prověřena opakovaným měřením absorpance vybarvených kalibračních roztoků v intervalu 15 min až 2 h a nebyla zaznamenána významná změna absorpance s časem.

Optimalizovaný postup

1. Do 100ml kónické baňky se odpipetuje 50 ml vzorku konzervovaného H_2SO_4 (1 ml konc. H_2SO_4 na 100 ml vzorku), anebo 50 ml kalibračního roztoku.
2. Přidá se 5 ml roztoku $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ a vloží se několik porcelánových střípků.
3. Směs se vaří po dobu 40 min a průběžně se doplňuje odpar demineralizovanou vodou tak, aby objem vzorku neklesl pod cca 20 ml. Při ukončení varu nesmí být objem vzorku větší než cca 30 ml.
4. Vzorek se nechá vychladnout a potom se kvantitativně převede do 50ml odměrného válečku se zátkou, ale nedoplňuje se na rysku.

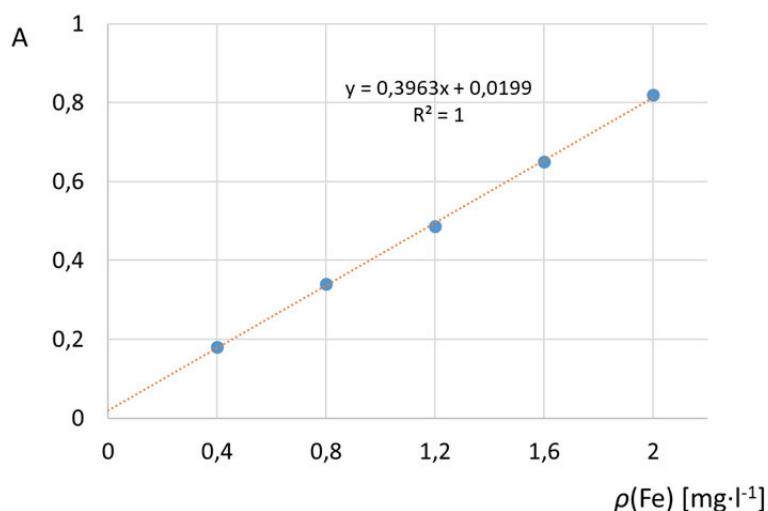
5. Přidá se 1 ml roztoku kyseliny askorbové a promíchá se.
6. Přidá se 5 ml octanového tlumiče a promíchá se.
7. Přidá se 1 kapka indikátoru bromfenolová modř a zkontroluje se zbarvení v místě jejího dopadu. Má být zelené nebo modré. Je-li žluté, přidá se několik kapek roztoku NaOH a po promíchání se opakuje přidavek indikátoru. Přidané množství indikátoru je nutné minimalizovat.
8. Přidají se 2 ml roztoku 1,10-fenantrolinu, roztok se doplní demineralizovanou vodou po rysku a promíchá se.
9. Absorbance se měří při vlnové délce 510 nm po uplynutí reakční doby 15 min.

Validační parametry

Výše uvedeným optimalizovaným postupem byly zpracovávány kalibrační roztoky, sada slepých stanovení (demineralizovaná voda), modelové i reálné vzorky. Validační parametry byly určeny postupem dle lit. [9] a jsou uvedeny v Tab. 1 pro měření v kyvetě s optickou délkou 2 cm. Rovněž byla používána kyveta o optické délce 5 cm, nicméně kýženého zvýšení citlivosti a posunu pracovního rozsahu směrem do nižších koncentrací se nepodařilo dosáhnout, proto lze doporučit používání pouze jednoho pracovního rozsahu a 2 cm kyvety. Mez detekce a mez stanovitelnosti byla vypočtena ze souboru 20 slepých stanovení. Směrodatná odchylka byla násobena faktorem $k_Q = 3,29$ pro výpočet meze detekce a $k_Q = 10$ pro výpočet meze stanovitelnosti [9]. Závislost absorbance na koncentraci Fe se ukázala lineární až do koncentrace $\rho(\text{Fe}) = 7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (pro 2 cm kyvetu), avšak lze doporučit omezení pracovního rozsahu tak, aby absorbance nepřekročila hodnotu 1,0. Ukázka kalibrační závislosti je na Obr. 2.

Tab. 1: Základní validační parametry stanovení Fe v kyvetě o optické délce 2 cm

pracovní rozsah [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	mez detekce [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	mez stanovitelnosti [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]
0,2 – 2,0	0,08	0,2



Obr. 2: Kalibrační závislost pro stanovení Fe v kyvetě o optické délce 2 cm

ZÁVĚR

Metodika spektrofotometrického stanovení železa s 1,10-fenantrolinem byla optimalizována a byly určeny základní validační parametry. Optimalizace spočívá zejména v náhradě toxického redukčního činidla hydroxylaminhydrochloridu kyselinou askorbovou a v úpravě pH definovaným způsobem. Byla ověřena stálost redukčního i vybarvovacího činidla a stálost reakčního produktu. Optimalizovanou metodu lze doporučit pro stanovení rozpuštěného železa ve vodách v koncentracích od $0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ do $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ bez ředění vzorku.

LITERATURA

- [1] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1st ed., American Public Health Association, Boston, 1913
- [2] Veselý M., Bartíková O.: Analytická chemie kvantitativní, 3rd ed., SNTL, Praha 1968
- [3] Maděra V. et al.: Příručka pro analýzu vody, SNTL, Praha 1961
- [4] ČSN ISO 6332. Jakost vod. Stanovení železa. Fotometrická metoda s 1,10-fenantrolinem. 1995
- [5] Kollerová L.: Stanovení celkového rozpuštěného železa absorpční spektrofotometrií po reakci s 1,10-fenantrolinem. 3.7.1. In: Horáková a kol. Analytika vody. str. 122 - 124. VŠCHT Praha 2003, ISBN 80-7080-520-X
- [6] Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vody, SNTL, Praha 1989
- [7] Bezpečnostní list, Hydroxylamin hydrochlorid. Penta s.r.o., 2011
- [8] Bezpečnostní list, o-Fenantrolin monohydrát. Penta s.r.o., 2010
- [9] Červený V., Klokočnicková E., Kříženecká S., Milde D., Nižnanská A., Plzák Z., Suchánek M., Vilímec J.: Kvalimetrie, Měření v chemii, Stručný přehled metrologie v chemii. 1st ed. Ústí nad Labem, 2018, ISBN 978-80-86322-11-7

EURACHEM: A FOCUS FOR ANALYTICAL CHEMISTRY IN EUROPE

David Milde,^a Vicki Barwick,^b Ricardo J. N. Bettencourt da Silva,^b Brian Brookman,^b Stephen L. Ellison,^b Trancesca Rollee, Bertil Magnusson, Marina Patriarca,^g A-L. Pikkarainen, Michael H. Ramsey,^h Lorens Sibbesen,ⁱ Eugenia Eftimie Totu,^j Kyriacos Tsimillis,^k Isabelle Vercruysse,^l Wolfhard Wegscheider,^m

^aPalacky University in Olomouc, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, 17. listopadu 12, Olomouc, Czech Republic Email: david.milde@upol.cz, ^bLGC, UK; ^cUniversity of Lisbon, Portugal; ^dUniversity of Warsaw, Poland; ^eEurachem Secretariat, INRIM, Torino, Italy, ^fSP Technical Research Institute of Sweden; ^gIstituto Superiore di Sanità, Italy; ^hSussex University, UK; ⁱLAB Quality International, Denmark; ^jUniversity "Politehnica" of Bucharest, Romania; ^kPanycyprian Union of Chemists, Cyprus; ^lBELAB, Belgium; ^mMontanuniversität Leoben, Leoben, Austria; ⁿFinntesting Association, Finland

ABSTRACT

Eurachem (www.eurachem.org) is a network of organisations within Europe designed to a) establish a system for the international traceability of chemical measurements and b) promote good quality practices in analytical sciences. Currently represented in 32 European countries, Eurachem aims to provide a forum for analytical scientists, laboratory staff and those interested in using the results of analytical measurements to discuss common problems and develop informed and considered approaches to both technical and policy issues. Eurachem members and stakeholders meet once a year at the Eurachem General Assembly. An Executive Committee and several topical Working Groups pursue the organisation's stated goals throughout the year, often in cooperation with other organisations. Participation is open and channelled through national representatives. Eurachem's main output is authoritative guidance documents, promoted through dedicated events which are also designed to provide opportunities for collecting feedback. Beside the guides, Eurachem publishes information leaflets, i.e. short briefing documents on specific topics usually intended to inform a wide audience, including laboratory staff, managers and laboratory customers. This poster aims to summarise current Eurachem activities, inform readers about the available guidance and attract active participation.

ODBORNÉ INFORMACE

ZMĚNY NOVÉ NORMY ČSN 75 7340 – METODY ORIENTAČNÍ SENZORICKÉ ANALÝZY

Vladimíra Němcová

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Technická norma TNV 75 7340 Metody orientační senzorické analýzy je velmi často používanou ve vodárenských i vodařských laboratořích. Vedle průhlednosti, terénního měření zákalu, případně barvy je využívána především pro stanovení pachu a chuti vody.

Během tohoto roku došlo k převedení této technické normy na ČSN 75 7340, které je v současnosti v připomínkovém řízení a je naděje, že v novém roce 2020 vyjde. Při revizi této normy došlo k několika změnám, které je třeba zmínit.

Kvalifikace pracovníků provádějících analýzy dle této normy: musí ji provádět vybraní posuzovatelé, tedy pracovníci, kteří jsou doložitelně proškolení dle ČSN EN ISO 8586, pravidelně se účastní výcviku a přezkoušení jejich způsobilosti k práci vybraného posuzovatele. V terénu na místě odběru může tuto zkoušku provádět jeden vybraný posuzovatel, který je v den provádění analýzy způsobilý ke zkoušce. V laboratoři musí zkoušku provádět minimálně 2 (optimálně 3) posuzovatelé.

Pro parametry pach i chuť byla změněna teplota zkoušení v laboratoři tak, aby korespondovala jednak mezi sebou a jednak s ČSN EN 1622 – Stanovení prahových čísel. Provádění zkoušek v laboratoři bude při teplotě $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Teplota $60 \pm 2^\circ\text{C}$ bude používána pro hodnocení teplé vody. Teplota provádění zkoušky bude uvedena u výsledku.

Byla upravena tabulka s charakteristikou stupňů pachu, aktualizována Příloha A s charakteristickými pach a jejich popisem.

Vedle thiosíranu sodného byla doplněna i příprava roztoku kyseliny askorbové, jako dechlordačního činidla.

Byl upřesněn přístup k hodnocení přijatelnosti a nepřijatelnosti vjemu pachu i chuti.

Nová norma pro Orientační senzorickou analýzu bude mít jistě své místo v analýze vody, stejně jako ČSN EN 1622 – Stanovení prahových čísel, kterou vhodně doplňuje.

REJSTŘÍK AUTORŮ

B

Barwick V.	107
Bendakovská L.	31, 49
Bettencourt da Silva R. J. N.	107
Bohadlová E.	39, 45
Brookman B.	107

Č

Černá L.	101
---------------	-----

E

Ellison. S. L.	107
---------------------	-----

F

Ferenčík M.	21
Fremrová L.	7

H

Halešová T.	27
------------------	----

Ch

Chrastina D.	39
-------------------	----

J

Janda V.	45
Jankovská M.	5
Jeligová H.	31, 49

K

Kabátová J.	15
Klokočníková E.	5
Kotal F.	31, 49
Koželuh M.	93
Kožíšek F.	31, 49
Kubík M.	85
Kujalová H.	101

M

Magnusson B.	107
Marešová D.	39, 61
Medek J.	69
Milde D.	79, 107
Moulisová A.	49

N

Němcová V.	111
Nováková Z.	15

O

Očenášková V.	39, 45, 61
--------------------	------------

P

Patriarca M.	107
Pikkarainen A-L.	107
Pospíchalová D.	39, 61

R

Ramsey M. H.	107
Rollee T.	107

S

Schováňková J.	21
Sibbesen L.	107
Stojanová S.	21
Sýkora V.	101

Š

Šafránková T.	39, 45, 61
Šimonová G.	3

T

Tomešová D.	27
Totu E.E.	107
Tsimillis K.	107
Tušil P.	39

V

Václavíková M.	27
Valešová E.	93
Vavrouš A.	49
Vavrušková L.	15
Vercruysse I.	107
Vilímeček J.	73

W

Wegscheider W.	107
---------------------	-----

Z

Zelený L.	81
Zuzáková J.	15

INZERCE



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**



**ÚSTAV TECHNOLOGIE
VODY A PROSTŘEDÍ**

Ústav technologie vody a prostředí na VŠCHT Praha patří k předním vysokoškolským pracovištím v oboru technologie vody, vodního hospodářství obcí i průmyslu a ochrany vod nejen v České republice, ale i v Evropské unii. Vědeckovýzkumná činnost ústavu je již od jeho založení zaměřena na problematiku:

- anaerobního čištění odpadních vod,
- aerobního čištění odpadních vod,
- průmyslových odpadních vod,
- hydrobiologie a mikrobiologie,
- úpravy vody,
- hydrochemie a analytiky vody.

Kromě výuky zajišťujeme poradenství a kurzy v těchto oblastech:

- čištění městských i průmyslových odpadních vod,
- biologická rozložitelnost organických látek,
- zpracování kalů,
- mikrobiologické hodnocení vod a kalů,
- analytika vody,
- úprava pitných a užitkových vod.

www.vscht.cz/tvp

CSlab spol. s r.o.



**Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7003
akreditovaný ČIA podle normy ČSN EN ISO/IEC 17043:2010**

Držitel OSVĚDČENÍ O AKREDITACI č. 411 / 2018

Hlavní obor činnosti:

- **Zkoušení způsobilosti enviromentálních laboratoří včetně odběrů vzorků**
- **Pořádání vzdělávacích akcí pro laboratoře a uživatele jejich dat**

**CSlab spol. s r.o.
Bavorská 856 / 14, Praha 5, PSČ: 155 00
Telefon / fax: 224 453 124
Mobil: 777 970 693**

**E-mail: cslab@cslab.cz
<http://www.cslab.cz>**



Česká asociace pro vodu CzWA (Czech Water Association)

CzWA sdružuje odborníky, společnosti a instituce s hlavním cílem dosažení efektivního a udržitelného rozvoje v celé oblasti vodního hospodářství a ochrany vodního prostředí. Předmětem činnosti CzWA je zejména:

- výměna poznatků a zkušeností jak mezi členy, tak i s odborníky mimo členskou základnu;
- odborná výchova vlastních členů i odborníků nečlenů;
- přenos odborných poznatků ze zahraničí do ČR;
- vydávání odborných publikací a dalších materiálů v tištěné i el. podobě;
- organizace seminářů, kolokvií, školení, konferencí, výstav a odborných exkurzí;
- aktivní účast při normotvorné a metodické činnosti;
- reprezentace členů CzWA v českých a zahraničních sdruženích stejného či obdobného odborného zaměření a aktivní spolupráce s těmito sdruženími;
- spolupráce s orgány veřejné a státní správy;
- podpora požadavků svých členů, jenž jsou v souladu s etickým kodexem CzWA;
- poskytování expertních, poradenských a konzultačních služeb.



Načtením kódu získáte vedle základních produktových údajů také informace vztahující se k bezpečnému používání, expozici, požární ochraně a první pomoci.

3 možnosti:

- Smartphone + aplikace **My M Safety** pro operační systémy iOS nebo Android
- Čtečka 2D čárových kódů
merckmillipore.com/ScanNow
- LIMS nebo ERP systém

Chcete vědět více?
SigmaAldrich.com/2DBarcode
MerckMillipore.com/ScanNow

[illegible]

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.





**Pražské vodovody
a kanalizace**



**Chraňme si přírodu,
ať můžeme pít zdravou vodu.**

Do kanalizace nepatří



Olej
z fritézy



Barvy, laky



Léky



Výrobky
neohleduplné
k ŽP



Pesticidy

Znečišťují životní prostředí a mohou ohrozit zdroje vody.

Pražské vodovody a kanalizace, a.s.
Zákaznické centrum • Dykova 3 • Praha 3
E-mail: info@pvk.cz • www.pvk.cz
Zákaznická linka PVK: 840 111 112





SEVEROČESKÉ VODOVODY A KANALIZACE, a. s.

Přítkovská 1689, 415 50 Teplice

infolinka: 840 111 111

info@scvk.cz, www.scvk.cz

VÝROBA A DODÁVKA PITNÉ VODY, ODKANALIZOVÁNÍ A ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD

PROVOZ VODOVODŮ A KANALIZACÍ

- dovoz pitné vody cisternou,
- zajištění vodovodních a kanalizačních přípojek na klíč,
- poradenská činnost v oblasti provozování kanalizací a čistíren odpadních vod,
- likvidace odpadních vod a vybraných druhů odpadů (kaly, tuky, odpad z kuchyní, apod.),
- tlakové čištění kanalizačních stok do průměru 1 200 mm a přípojek včetně vnitřních kanalizačních rozvodů od průměru 40 mm,
- revize kanalizačních stok, přípojek a rozvodů TV kamerou a provedení zkoušek vodotěsnosti stok a nádrží,
- vyvážení septiků,
- práce elektro – strojní údržby (opravy, drobné investiční akce na klíč, revize VTZ – elektro, plyn),
- provádění staveb vodovodů a kanalizací,
- zajištění montážních prací vodárenských technologií,
- vyhledávání skrytých úniků vody a havárií na vodovodním potrubí,
- trasování podzemních vodovodních sítí,
- měření průtoku vody příložným ultrazvukovým průtokoměrem.

PROJEKTOVÁ A INŽENÝRSKÁ ČINNOST

- zpracování investičních záměrů, technicko ekonomických studií, expertíz a posudků v oblasti vodovodů, kanalizací, úpraven vod, čištění odpadních vod, hydrogeologie a inženýrské geologie,
- projektování všech stupňů projektových dokumentací vodohospodářských staveb,
- inženýrské služby spojené s přípravou a realizací staveb vodovodů, kanalizací, čistíren odpadních vod, úpraven vod a ostatních vodohospodářských staveb včetně stavebního dozoru a kolaudace staveb,
- služby pro zajištění a čerpání dotací, organizování veřejně obchodních soutěží.

ÚTVAR LABORATOŘÍ PITNÝCH A ODPADNÍCH VOD

- poskytuje služby zákazníkům při odběru a rozbořech pitných, povrchových a odpadních vod včetně čistírenských kalů,
- zajišťuje poradenství v oblasti technologie úpravy a čištění vod.

PRŮMYSLOVÝ OUTSOURCING

- zajištění provozování vodního hospodářství včetně provozu ÚV a ČOV.
Reference: Spolchemie, a.s., DEVRO s.r.o., Jilemnice, VÚAB Roztoky, SITA CZ, a. s.
Glaverbel Czech, a. s., Baltaxia

CERTIFIKACE

QMS – ČSN EN ISO 9001:2009,
EMS – ČSN EN ISO 14001:2005,
BOZP – ČSN OHSAS 18001:2008.



 www.eurachem.cz

KVALIMETRIE – řada příruček pro laboratoře
Od roku 1992 vydává Eurachem-ČR, z.s.

V prodeji jsou následující tituly:

13.	Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. Š. Doškářová, P. Janoš, Z. Plzák, M. Suchánek, P. Šubrt. (2003)	300 Kč
17.	Mezilaboratorní porovnávání a zkoušení způsobilosti. Pomůcka k zajišťování kvality v chemických, biochemických a klinických laboratořích. M. Suchánek, M. Budina, E. Klokočnicková, J. Kratochvíla; kapitolu 3 přeložil Z. Plzák (2010)	400 Kč
18.	Názvosloví analytického měření: Úvod k 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod (Překlady anglických vydání). (2013)	300 Kč
19.	Stanovení nejistoty analytického měření (překlad 3. anglického doplněného vydání z r. 2012). (2014)	260 Kč
20.	Vhodnost analytických metod pro daný účel (překlad 2. anglického přepracovaného vydání z r. 2014). (2015)	400 Kč
21.	Používání referenčních materiálů v chemické analýze. B. Friedecký, J. Kratochvíla, E. Klokočnicková, J. Kučera, Z. Plzák, M. Suchánek, V. Sychra, J. Tichý. Nastavení a používání cílové nejistoty v chemických měřeních. Pokyn Eurachem/CITAC (překlad anglického vydání) (2016)	380 Kč

Uvedené publikace objednávejte na adrese sekretariat@eurachem.cz

Na objednávce uveďte sídlo sdružení: Eurachem-ČR, Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Pasteurova 3544/1, 400 01 Ústí nad Labem

Ke stažení na webových stránkách jsou následující tituly:

16.	Statistické metody v metrologii a analytické chemii. (2009).
18.	Názvosloví analytického měření. Úvod do 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku. Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod. (2013).
22.	Průvodce kvalitou v analytické chemii Pomůcka k akreditaci. Pokyn EURACHEM/CITAC (3. vydání 2016).
23.	Měření v chemii Stručný přehled metrologie v chemii. V. Červený, E. Klokočnicková, S. Kříženecká, D. Milde, A. Nižnanská, Z. Plzák, M. Suchánek, J. Vilímeček, (2018).



Centrála: Podbabská 30, Praha 6, 180 00

**Sběrné místo: Novákových 6, Praha 8, 180 00,
+420 266 316 272 moni@moni.cz**

www.moni.cz

Analytická laboratoř
akreditovaná ČIA č.1416

**Komplexní laboratorní služby v oblasti
ekologie a ochrany životního prostředí:**

**Rozbory pitných, povrchových, podzemních a odpadních vod
a vod umělých koupališť**

Analýzy zemin, kalů a sedimentů

Analýzy odpadů včetně ekotoxikologických zkoušek

Akreditované odběry
odpadních, pitných, podzemních a povrchových vod,
vod umělých koupališť, zemin, stavebních materiálů a odpadů