

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 7: Zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství

Vliv laických úprav na hladiny pesticidů na ovoci

Sára Honková, Pavlína Mrláková
Jihomoravský kraj

Brno 2024

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 7: Zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství

Vliv laických úprav na hladiny pesticidů na ovoci

Effect of lay treatments on pesticide residues on fruit

Autoři: Sára Honková, Pavlína Mrláková

Škola: Střední průmyslová škola chemická Brna, Vranovská,
příspěvková organizace, Vranovská 65, 614 00 Brno-Husovice

Kraj: Jihomoravský kraj

Vedoucí práce: Ing. Tomáš Buriánek

Konzultant: Mgr. Simona Rozárka Jílková, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašujeme, že jsme naši práci SOČ vypracovaly samostatně a použily jsme pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů.

Prohlašujeme, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemáme závažný důvod proti zpřístupnění této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších předpisů.

V Brně dne 15. března 2024

Sára Honková, Pavlína Mrláková

Poděkování

Na tomto místě bychom velmi rády poděkovaly naší externí konzultantce Mgr. Simoně Rozárce Jílkové, Ph.D., která nám byla v celém průběhu sepisování této práce velkou oporou, a to nejen odbornou, ale také mentální. Právě díky ohleduplnému a upřímnému přístupu z její strany jsme se vůbec v první řadě rozhodly zvolenému tématu práce více věnovat a následně jej zpracovat do této podoby.

Současně bychom tímto poděkovaly také Ing. Tomáši Buriánkovi, jakožto školnímu vedoucímu této práce. Pod jeho vedením nám bylo umožněno práci dostat do většího povědomí a následně ji použít jako dlouhodobou maturitní práci. Ze školy bychom navíc rády poděkovaly Mgr. Haně Kullab Valové za kontrolu překladu anotace do německého jazyka, který je pro dlouhodobou maturitní práci nutné uvést, a tak jej vkládáme i zde.

Oběma vedoucím jsme tímto hluboce vděчны za cenné poznámky, tak za odbornou korekturu a průběžné konzultace během celého procesu zpracovávání.

Dále bychom chtěly poděkovat výzkumné infrastruktuře ústavu MUNI RECETOX (ID LM2018121, MŠMT, 2020–2022) za možnost provedení praktické části v prostorách jejich laboratoří, za odborné zaškolení a obecně přívětivý přístup. Za jejichž podpory by nebylo možné práci zpracovat.

V poslední řadě bychom s velkým významem poděkovaly JMK a sdružení JCMM, které nám poskytlo nejen finanční podporu, ale také nám dalo tu možnost práci vypracovat v rámci Středoškolské odborné činnosti a oficiálně se propojit s naší externí konzultantkou.



Anotace

Tato práce SOČ se zabývá obecným úvodem do problematiky pesticidů, která se v současnosti stává více nežádoucí kvůli rozšíření v průmyslovém zemědělství. Vybraná teorie se zaměřuje především na historický vývoj pesticidů až po současnost, všeobecnou kategorizaci a chemické působení nejen na životní prostředí, ale také na lidské zdraví.

Z toho vyplývají hlavní cíle praktické části – vybrat, porovnat účinnost a navrhnout modifikace několika provedených laických úprav, od kterých se očekávalo, že povedou ke snížení rezidua pesticidu na povrchu bílého hroznového vína (*Vitis vinifera*). Na základě výsledků byly vzorky seřazeny dle efektivity do tří skupin, přičemž nejvíce účinnými se ukázaly být úpravy jedlou sodou a kvasným octem. Metody úpravy vodou byly oproti skupině chemikálií značně méně efektivní, ale jejich kombinování je obzvláště doporučeno z mnoha dalších důvodů.

Klíčová slova: pesticidy; hroznové víno; laické úpravy; rezidua pesticidů; QuEChERS

Abstract

This SPA paper deals with a general introduction to pesticides, which are currently becoming more undesirable due to their widespread use in industrial agriculture. The selected theory focuses mainly on the historical development of pesticides up to the present day, general categorization, and chemical effects not only on the environment but also on human health.

This leads to the key objectives of the experimental work – to select, compare the efficacy and propose modifications of several lay treatments, which were expected to lead to a reduction of pesticide residue on the surface of white grapes (*Vitis vinifera*). Based on the results, the samples were ranked according to effectiveness in three groups, with baking soda and vinegar treatments proving to be the most effective. Water treatment methods were considerably less effective than the group of chemicals but combining them is particularly recommended for many other reasons.

Keywords: pesticides; white grapes; household treatments; pesticide residues; QuEChERS

Annotation

Diese Arbeit befasst sich mit einer allgemeinen Einführung in Pestizide, die aufgrund ihrer weiten Verwendung in der industriellen Landwirtschaft immer unerwünschter werden. Die gewählte Theorie konzentriert sich hauptsächlich auf die historische Entwicklung der Pestizide bis zur Gegenwart, die allgemeine Kategorisierung und die chemischen Auswirkungen nicht nur auf die Umwelt, sondern auch auf die menschliche Gesundheit.

Daraus ergeben sich die Hauptziele der praktischen Tätigkeit – Auswahl, Vergleich der Wirksamkeit und Vorschlag von Änderung verschiedener Laienmethoden, die zur Verringerung der Pestizidrückstände auf der Oberfläche weißer Trauben (*Vitis vinifera*) reduzieren. Anhand der Ergebnisse wurden die Proben nach ihrer Wirksamkeit in drei Gruppen eingeteilt, wobei sich die Behandlungen mit Backpulver und Essig als am wirksamsten erließen. Die Behandlungen mit Wasser waren weniger wirksam als die Gruppe der Chemikalien, ihre Kombination ist jedoch aus vielen anderen Gründen besonders empfehlenswert.

Schlüsselwörter: Pestizide; Weintrauben; Laienmethoden; Pestizidrückstände; QuEChERS

OBSAH

1	Úvod.....	10
2	Teoretická část	11
2.1	Charakteristika	11
2.2	Historický vývoj.....	12
2.2.1	Starověk	13
2.2.2	Středověk	13
2.2.3	19. století.....	14
2.2.4	20. století.....	15
2.2.5	Současnost	17
2.3	Klasifikace.....	17
2.3.1	Rozdělení podle cílového organismu.....	17
2.3.2	Rozdělení podle původu pesticidu	19
2.3.3	Rozdělení podle mechanismu účinku	22
2.3.4	Rozdělení podle způsobu průniku.....	22
2.4	Nepříznivé účinky	23
2.4.1	Environmentální problémy	24
2.4.2	Zdravotní závadnost.....	24
2.4.3	Provádění laických úprav.....	24
2.5	Legislativa	25
2.6	Alternativy.....	26
2.7	Metody analýzy reziduí pesticidů	27
2.7.1	Extrakce QuEChERS	27
3	Praktická část	28
3.1	Metodika	28
3.1.1	Výběr ovoce a pesticidu.....	28
3.1.2	Výběr laických úprav	30

3.1.3	Poměr zředění a trvání úprav	32
3.2	Materiály	32
3.3	Postup – analýza hladiny pesticidů	34
3.3.1	Příprava	34
3.3.2	Laické úpravy	35
3.3.3	Extrakce	37
3.3.4	Čištění	38
3.4	Instrumentální analýza	39
3.4.1	Chromatografická separace UHPLC	39
3.4.2	Hmotnostní detekce HRMS	40
4	Výsledky	41
5	Diskuse.....	44
5.1	Úpravy vodou.....	44
5.2	Úpravy kuchyňskými chemikáliemi	45
5.3	Úprava hypermanganem	46
5.4	Konečné srovnání všech laických úprav	48
5.4.1	Tebukonazol – MRL	48
6	Závěr	49
7	Seznam použitých zkratk	51
8	Použitá literatura	53
9	Seznam obrázků.....	61
10	Seznam tabulek	63
11	Přílohy.....	64
	Příloha č. 1: Katalog přípravku Luna Experience (© 2022 Bayer Crop Science, ČR).....	64

1 ÚVOD

Zemědělství prošlo rozsáhlým vývojem a především procesem zdokonalení od svých počátků, ve kterých byli lidé prakticky závislí jen na vůli přírody. Během několika století přicházely na svět mnohé praktiky a metody, jež by mohly vést ke zvýšení kvantity i kvality úrody. Zlomový moment nastal ve 20. století, kdy se objevily první syntetické přípravky pro ochranu rostlin (PPPs), které proměnily průmyslovou agrikulturu od základů. Tyto látky jsou souhrnně označovány za pesticidy – prostředky určené k regulaci, prevenci či k hubení škůdců.

Většina přípravků se vyznačuje velmi toxickými účinky, které ovlivňují kromě cílového organismu také mnohé necílové organismy. Kromě toho, kvůli jejich rozšíření v zemědělství lze pesticidy nalézt i na místech, na kterých by se vůbec nacházet neměly. Jeden takový případ představuje ovoce a zelenina v obchodech. Jelikož jsou tyto rostlinné produkty běžně vystaveny ošetření pesticidními přípravky, mohou i po jeho předpokládané degradaci obsahovat zbytky, tzv. rezidua. Proto lidé ovoce před jeho konzumací nechají opláchnout pod proudem vody, čímž se ovoce také zbaví jiných nečistot. Otázka, kterou však nyní pokládáme, zní: „Stačí prostý oplach ovoce pro odstranění rezidua pesticidů?“

Za tímto účelem bývají prováděny také méně tradiční úpravy, které vesměs kolují mezi lidmi jako babské rady – metody pro laickou úpravu. Velmi často se proto jedná o vystavení ovoce působení některé z kuchyňských chemikálií: jedlá soda, kvasný ocet nebo kuchyňská sůl. Po chemické stránce se tyto látky vyznačují určitými vlastnostmi, které na rezidua účinkují. Další otázka proto zní: „Jak moc jsou tyto laické úpravy ve skutečnosti efektivní?“

Na tuto dvojici otázek se pokusíme odpovědět v této práci SOČ, která se problematice zbytkové hladiny pesticidů na ovoci věnuje. Na základě vlastního výběru bylo zvoleno několik laických metod úpravy, včetně rozšíření pro vodní oplach, s cílem zjistit, jak mohou tyto úpravy ovlivnit rezidua na hroznovém víně, aby byla snížena lidská expozice vůči nim.

Výsledky této práce SOČ lze použít pro další studium vlivu úprav na zbytky pesticidních látek, případně jejich uvedení mezi širokou veřejnost může napomoci k osvětlení skutečnosti, že tyto laické úpravy má smysl provádět. Dále lze rozebranou teorii využít jako podklad pro všeobecný přehled o pesticidech.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Pojem „pesticid“ v dnešní době označuje zpravidla přípravky určené pro kontrolu či likvidaci nežádoucího škůdce v zemědělském průmyslu, a to nejčastěji chemického, tj. syntetického či umělého původu. Tento termín byl do českého jazyka pravděpodobně odvozen až jako překlad z anglického „pesticide“ (slovo „*pest*“ – škůdce), přičemž původ slova pochází již z latiny (slova „*pestis*“ – zkáza, mor; „*caedere*“ – zabít). [1; 2]

2.1 Charakteristika

Definice „pesticidu“ se dále různí podle svého zdroje, ale vždy vychází ze stejného základu. Světová zdravotnická organizace (*World Health Organization*, WHO) za pesticidy pokládá velmi obecně chemické látky, které jsou využívány za účelem hubení škůdců. Zde ve státech Evropské unie zodpovídá za kontrolu potravin především Evropský úřad pro bezpečnost potravin (*European Food Safety Authority*, EFSA) pokládající za pesticidy veškeré látky nejen chemického původu, které taktéž usmrcují, ale také slouží pro kontrolu široké škály škůdců. Úřad pro ochranu životního prostředí USA (*Environmental Protection Agency*, EPA) tuto definici vztahuje také na zemědělské prostředky, které fungují jako růstové regulátory, defolianty, desikanty nebo se jedná o látky stabilizující dusík. Ve Spojených státech taktéž funguje soustava Národních institutů zdraví, pod které spadá také ústav zabývající se vědami životního prostředí (*National Institute of Environmental Health Sciences*, NIEHS), jehož formulace vymezuje škůdce jako veškeré živočišné formy škodící lidské činnosti. [3; 4; 5; 6]

Pokud se uvedené definice obohatí o zdaleka nejobsáhlejší vysvětlení poskytnuté Organizací pro výživu a zemědělství (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO) lze z veškerých uvedených informací vyvodit obecnou definici pro tuto práci:

„Pesticid je kterákoliv látka či směs látek, a to původem anorganická či organická, přírodní či syntetická, která je využívána za účelem prevence, regulace či hubení škůdců považovaných za nežádoucí pro odvětví zemědělství zahrnující produkci, zpracování, skladování, přepravu a obchod, ale také zahradnictví, lesního hospodářství, průmysl materiálů atd. Za pesticidy jsou rozuměny také prostředky chránící plodiny před jejich znehodnocením.“ [1; 7]

Jedná se také o pojem zastřešující dvojici podřazených termínů: přípravky pro ochranu rostlin (ang. plant protection products – PPPs) a biocidní látky. Právní předpisy a legislativa Evropské unie v oblasti pesticidů je rozlišuje následovně:

- Pesticid – přípravek potlačující či likvidující škodlivé organismy, nebo zabraňující jejich činnosti,
- PPP – přípravek složený z aktivní účinné látky chránící rostlinstvo proti škodlivým organismům,
- Biocid – přípravek vyhrazený k použití vůči organismům škodlivým pro zdraví člověka či zvěře, případně škodících lidské činnosti. [8]

Výše uvedené látky se poté kromě aktivní složky mohou skládat ze safenerů snižujících jejich účinek na některé rostliny, synergentů naopak zvyšujících jejich účinek, adjuvantů přidávaných obecně za účelem zvýšení efektivity přípravku a ostatních látek, tzv. formulačních přísad. [8]

2.2 Historický vývoj

Počátek zemědělství bývá datován různě, nejčastěji se však uvádí, že přechod od lovu a sběru k farmaření se odehrál zhruba před 11 až 12 tisíci lety. Tato proměna společnosti měla rozsáhlé účinky na způsob života tehdejších lidí, kteří se mohli trvale usadit na jednom místě, na němž by pěstovali potraviny a chovali zvířata pro další užitek. Historicky se tento proces označuje jako neolitická revoluce. Nutno podotknout, že tento přechod probíhal v různých částech světa nezávisle na sobě. [9]

Tímto krokem byl dostatek jídla zajištěn mnohem lépe než kdy doposud, jenže s tím byla spjata také mnohá rizika, která by mohla v dalekosáhlé míře vést až k hladomorům. Člověk tímto procesem vytvořil pro přírodu nepřirozené podmínky, jež nebyla schopna svými přirozenými mechanismy zvládat. Rozsáhlé plochy pro pěstování jednoho druhu rostlin poskytovaly ideální prostor pro jejich přirozené škůdce, kterými byli například hlodavci, ptáci nebo hmyz. Značná ztráta úrody byla obdobným rázem způsobena nejrůznějšími chorobami. Jenže zabezpečení sklizně za účelem vlastní konzumace, ale také jakožto zdroje jídla pro chovaná zvířata bylo v takto rozsáhlém měřítku obzvláště problematické. Lidé však již tehdy vyhledávali metody a později také vybrané látky, které by ovlivnily nejen kvantitativní aspekt sklizně, ale současně i kvalitu vypěstovaných rostlin a plodin. [1; 11]

Počáteční přístupy byly ve značné míře mnohem šetrnější, jelikož příroda jejich vlivem nebyla kontaminována cizorodými látkami. Důležité bylo zhodnotit kvalitu půdy v daném místě a poté ji náležitě zpracovat, a nakonec zohlednit i výběr pěstované rostliny. Přemnožení škůdců bylo také možné zabránit pravidelným obměňováním pěstovaných rostlin. V poslední řadě bylo vždy možné přistoupit k hubení nežádáných organismů a plevelů ručně. Avšak kvůli mírnosti těchto přístupů stále docházelo k úbytkům pěstovaných plodin, tudíž důsledkem toho muselo dojít k razantnějšímu zakročení, a to v podobě chemických látek anorganického původu, které lze považovat za vůbec první použité pesticidy. [1]

V rámci přehlednosti rozsáhlého vývoje pesticidních látek, se kterými se svět doposud setkal, jsou následující podkapitoly rozděleny celkem do pěti historických etap podle velikosti pokroku s ohledem na původ používaných látek a jejich rozšíření v průmyslu a zemědělství. [10]

2.2.1 Starověk

Historicky prvotní užití pesticidů bylo zaznamenáno před 4,5 tisíci lety v Mezopotámii Sumery, kteří záměrně využívali anorganickou síru pro regulaci populace hmyzu a roztočů. Obdobným způsobem následovala zhruba o 1,3 tisíc let později Čína, jež problémům s vešmi čelila pomocí sloučenin rtuti a arsenu. Májové využívali například chilli papričky. [11]

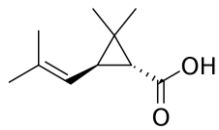
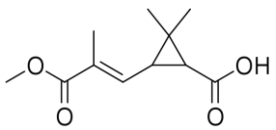
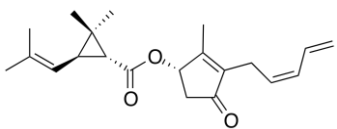
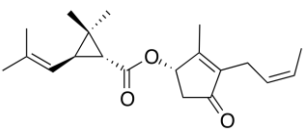
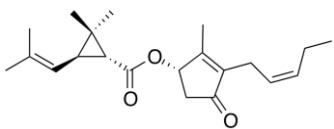
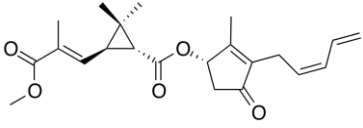
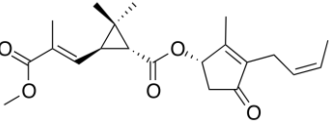
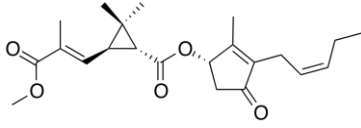
Protikladem k zmíněným civilizacím slouží antické Řecko a Řím. Jelikož se jednalo o kultury založené na náboženství, vyžívalo se praktik s ním spojených, ke kterým lze zahrnout i metody, jež lze považovat za předchůdce chemických technik. Pravděpodobně nejvíce významným postupem bylo spalování přírodních látek za vzniku zapáchajícího kouře, který se poté větrem rozšířil napříč sadem a tím odrazil zájem hmyzu. Dále se využívaly různé rostlinné výtažky, případně snadno dostupné minerální látky, například mořská sůl. [11]

2.2.2 Středověk

Několik následujících století vývoj pesticidů žádný významný skok nezaznamenal, stále byly užívané látky odvozené z rostlinných, živočišných či minerálních zdrojů. Však během období křížových výprav se do Evropy dostaly informace o rostlinách s insekticidními účinky z rodu *Pyrethrum*. Tehdy se jednalo o samostatný rod, v dnešní době bychom však po taxonomické stránce hovořili o některých rostlinách řazených do rodů vratičů (*Tanacetum*) a chryzantém (*Chrysanthemum*). Jako konkrétní zástupce je známá kopretina starčkolistá (*Chrysanthemum cinerariifolium*). [11; 12; 13]

Po chemické stránce rostliny, které spadají do rodu *Pyrethrum*, obsahují aktivní složku známou jako pyrethrin. Do této skupiny organických chemikálií patří estery kyseliny chryzantémové (deriváty označované jako I) a kyseliny pyrethrové (deriváty označované jako II). Tyto estery zahrnují tři zástupce – pyrethriny, cineriny a jasmoliny (tab č. 1). [14]

Tab. č. 1: *Struktury esterů kyseliny chryzantémové (skupina I) a pyrethrové (skupina II)*

 <p>Obr. č. 1: <i>Kyselina chryzantémová</i></p>		 <p>Obr. č. 2: <i>Kyselina pyrethrová</i></p>			
 <p>Obr. č. 3: <i>Pyrethrin I</i></p>	 <p>Obr. č. 4: <i>Cinerin I</i></p>	 <p>Obr. č. 5: <i>Jasmolin I</i></p>			
 <p>Obr. č. 6: <i>Pyrethrin II</i></p>		 <p>Obr. č. 7: <i>Cinerin II</i></p>		 <p>Obr. č. 8: <i>Jasmolin II</i></p>	

Pyrethrin byl získáván v práškové formě ze suchých květů těchto rostlin a kromě své toxicity vůči hmyzu se vyznačoval jako jedová látka pro studenokrevné obratlovce. Jeho nakumulování ve vodách a mokřadech se poté negativně projevvalo na rybách a vodních bezobratlých. Přírodní pyrethriny později sloužily pro výrobu syntetických derivátů – pyrethroidů. [12; 14]

2.2.3 19. století

Rozmach technologií během průmyslové revoluce měl značný vliv i na vývoj pesticidních látek, jelikož se o nich začalo znatelněji více uvažovat jako o přípravcích pro průmyslové měřítko. Během 19. století byly pesticidní aktivní složky poprvé extrahovány z přírodních zdrojů do podoby chemických prostředků určených k boji proti hmyzu a houbám. [15]

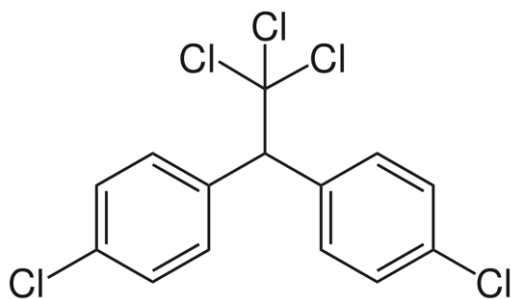
Cestou chemických extrakcí byly získávány např. nikotin z tabáku, rotenon z kořenů nebo již zmíněné pyrethriny z rostlin někdejšího rodu *Pyrethrum*. Výsledky těchto postupů přečištění dříve známých botanických forem byly dále zkoumány, přičemž konečné produkty byly poté kombinovány společně s anorganickými sloučeninami odvozených od prvků jako arsen, měď, síra, vápník či fluor do podoby přípravků pro domácí a komerční užití. [1; 15]

K uvedeným příkladům organických pesticidních látek, ke kterým byly míchány látky původu anorganického lze zmínit dále i pesticidy ryze anorganické, které měly často mnoho užití. Konkrétně pařížská zeleň také zvaná svinibrodská byla volně dostupná v prodeji od roku 1867 jako efektivní, ale velmi toxický insekticid a rodenticid. Jednalo se o směs octanu a arsenitanu měďnatého – $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot 3 \text{Cu}(\text{AsO}_2)_2$. Dále byla užívána směs Bordeaux (síran měďnatý CuSO_4 a hydroxid vápenatý $\text{Ca}(\text{OH})_2$), jež sloužila pro potírání houbových a plísňových infekcí ve vinicích. [11; 15]

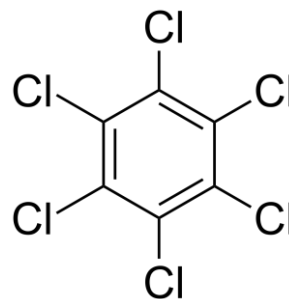
2.2.4 20. století

V tomto období se vývoj a výroba pesticidů posunula natolik kupředu, že bychom tuto nepříliš vzdálenou historii mohli považovat za jejich absolutní vzestup. Již na počátku 20. století začala moderní produkce syntetických pesticidů. Pro tyto organické sloučeniny byla typická struktura zahrnující kromě uhlíkatých řetězců, aromatických kruhů a jiných charakteristických funkčních skupin také zavedený makroprvek do jejich molekuly v různých esterových formách (fosfor) nebo jako substituent (chlor). Mnoho z těchto pesticidů patřících do hojně užívaných prostředků v průběhu 20. století bylo připraveno již během 19. století, ale jejich pesticidní účinky nebyly do té doby příliš známy. Od anorganických látek do té chvíle hojně používaných se začalo pomalu ustupovat kvůli nutnosti časté aplikace, nedostatečné selektivitě, fytotoxicitě a jejich obecné neefektivitě ve srovnání se zmíněnými syntetizovanými přípravky. [1; 11; 15]

Další významný skok znamenala 2. světová válka, která obecně napomohla k uspíšení vývoje lidských technologií díky produkci přípravků, které byly původně vyvinuty za vojenským účelem. Období 40. let proto představovalo největší historické rozšíření chlorovaných pesticidů mířených proti hmyzu – DDT (dichlordifenyltrichlorethan, obr. č. 9) a HCB (hexachlorbenzen, obr. č. 10). [15]



Obr. č. 9: *Struktura DDT*

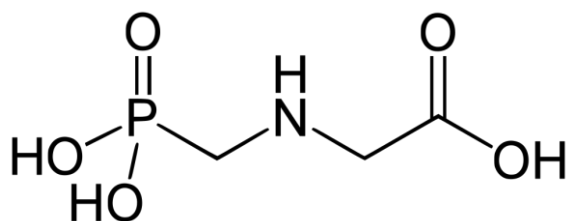


Obr. č. 10: *Struktura HCB*

Obzvláště DDT se stalo velmi populárním přípravkem, jelikož bylo propagováno jako zázračná látka, která je snadno připravitelná a aplikovatelná, širokospektrální s velmi nízkou toxicitou pro savce, a především je velmi efektivní ve smyslu likvidace hmyzu přenášející nemoci. Po válce se DDT proměnilo v běžně dostupný zemědělský přípravek. Netrvalo však dlouho, než dorazily počáteční zprávy o nepříznivém vlivu na necílené rostliny a zvěř, včetně hmyzu, který si začínal vůči přípravku budovat odolnost. Zprávám však nebyla věnována pozornost. [11; 15]

Teprve až v 60. letech byly tyto problémy spojené s užíváním syntetických pesticidů patřičně zdůrazněny. Mořská bioložka Rachel Carsonová v roce 1962 publikovala svoji knihu Tiché jaro (ang. *Silent Spring*), ve které upozorňovala především na rizika spjatá s neuváženým užíváním pesticidních přípravků a jejich výslednou činností, která vedla k zanesení velmi škodlivých látek do životního prostředí. Tiché jaro se následně dostalo do povědomí široké veřejnosti a stalo se iniciačním krokem, který vedl k založení mnoha organizací toužících po přísnějším omezení užívaných pesticidů, včetně úplného zakázání některých z nich. [11; 15]

Nastalo tak období ústupu produkce syntetických pesticidů z 1. poloviny 20. století a přechodu k více ekologickým a bezpečnějším variantám. Výzkum pokračoval až zhruba do 70. a 80. let, kdy se nové přípravky začaly stávat i méně finančně náročnými. Na trh se tehdy dostávaly pesticidy jako insekticidní pyrethroidy, fungicidní látky na bázi triazolů, imidazolů a morfolinů nebo jeden z nejvýznamnějších herbicidů moderní historie – glyfosát (N-fosfonomethyl-glycin, obr. č. 11). V této době také započal vývoj neonikotinoidů. [1; 11; 15]



Obr. č. 11: *Struktura glyfosátu*

Následovala 90. léta a s nimi další snahy o vývoj dalších pesticidních přípravků vycházejících z chemikálií pocházejících z již existujících či nově objevených skupin v obdobném duchu zachování environmentálního bezpečí. Mnoho z těchto pesticidů se vyznačovalo užitím pouze několika gramů na hektar půdy oproti kilogramům v minulosti. Krátce také došlo k poklesu užívání pesticidů, ale s přechodem do 21. století se tato potřeba znovu navýšila. [1; 11]

2.2.5 Současnost

V aktuální době dochází ke značnému zdokonalování výroby pesticidních přípravků, ale také způsobu jejich aplikace a taktiky vedoucí k výraznějšímu zvládnutí rezistence. Důraz je hlavně kladen na úkony spojené s omezením užívání pesticidů, jenž zahrnují:

- Geneticky modifikované organismy (GMO) – tyto plodiny jsou pozměněny na úrovni genů, aby si dokázaly vybudovat toleranci vůči chorobám, které je napadají, nebo samotným pesticidním přípravkům,
- Integrovaná ochrana proti škůdcům (ang. Integrated Pest Management, IPM) – jedná se o ekologický přístup vyvinutý na základě studia životního cyklu škůdců a jejich interakce s okolím. [11; 15; 16]

2.3 Klasifikace

Pesticidy zahrnují poměrně velkou skupinu chemických látek, které se dále zpracovávají do podoby funkčních přípravků v zemědělství jako jedna z kategorií agrochemikálií. V závislosti na široké škále kritérií bývají rozdělovány do několika dalších podskupin, které se mohou dále dělit nebo zahrnovat již konkrétní zástupce. Níže uvedené klasifikování vychází z mnoha zdrojů uspořádaných do ucelené podoby dle uvážení autorů.

2.3.1 Rozdělení podle cílového organismu

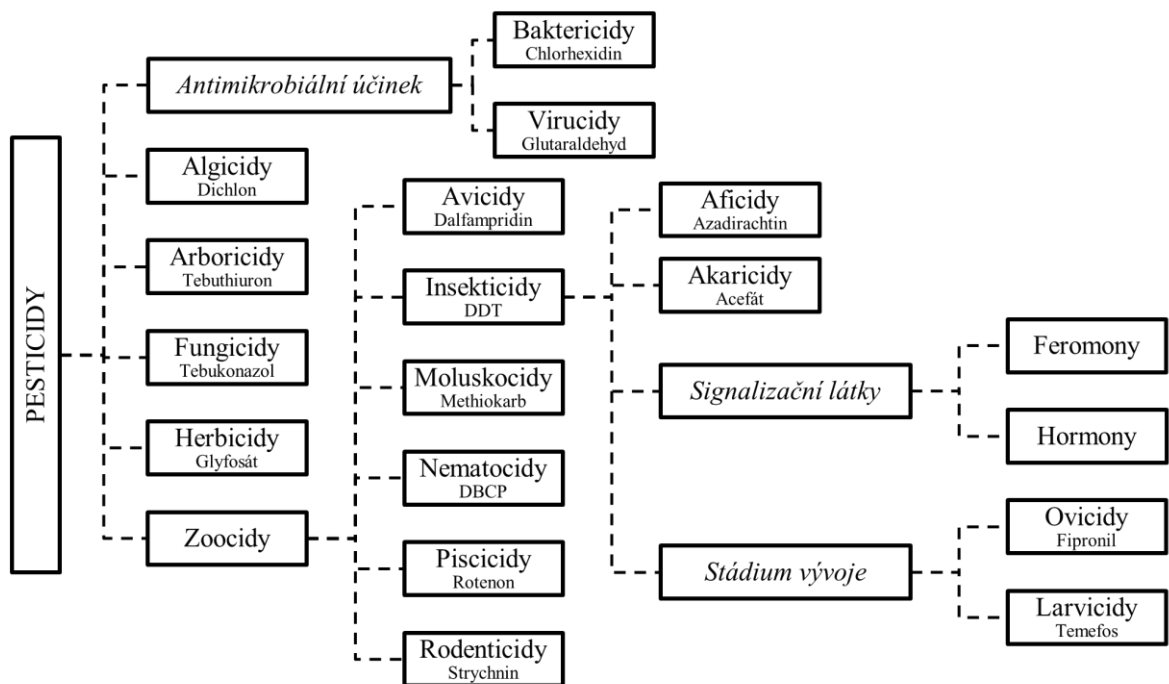
Nejčastěji se lze setkat s rozdělením pesticidů podle škůdce, na kterého působí (obr. č. 12). Základní klasifikace zahrnuje 3 hlavní skupiny – fungicidy, herbicidy a zoocidy. Jako další skupiny lze uvést algicidy (vodní řasy), arboricidy (dřeviny) a pesticidy, jež slouží pro regulování mikroorganismů – virů a bakterií (tzv. antimikrobiální pesticidy). Některé přípravky bývají mnohdy řazeny pod některou z hlavních tří skupin. [1]

Fungicidy v zásadě působí regulačně či likvidačně proti houbám a plísním, ale také proti jejich sporám. Většina z nich funguje na principu narušení metabolismu hub, čímž výrazně zasáhnou buď do produkce energie, nebo samotného vývoje. Některé fungicidy u hub poškozují buněčné membrány. Mezi časté nákazy houbami či plísněmi patří rzi, sněti a padlí. [1; 17]

Herbicidy se naproti tomu vyznačují fyto toxickými účinky, které narušují či úplně potlačují růst nežádoucích rostlin, nebo je přímo hubí. Některé z nich působí obdobně jako výše uvedené fungicidy, tudíž jejich vlivem jsou narušovány přirozené pochody v rostlinách (např. buněčné

dělení, produkce AMK, fotosyntéza), nebo napodobují rostlinné hormony ovlivňující růst, což vede k následným deformacím rostlin. Ve velké míře jsou hubeny hlavně plevele. Ke skupině herbicidů bývají často řazeny i zmíněné algicidy a arboricidy. [18; 19; 20]

Zoocidy slouží jako nástroj k potlačení živočišných škůdců. Jedná se také o skupinu, která pod sebou zastřešuje mnoho podskupin. Jedná se konkrétně o avicidy (ptáci), piscicidy (ryby), rodenticidy (hlodavci, také tzv. deratizace), moluskocidy (měkkýši) a nematocidy (hlístice). K zoocidům je také řazena významná podskupina omezující škodlivý hmyz a členovce – insekticidy. Jelikož kmen členovců (*Arthropoda*) je tím vůbec největším, pesticidy jsou zde proto rozlišovány na další podskupiny, které zpravidla však působí pouze proti třídě hmyzu (*Insecta*). Jednotlivé aktivní složky jsou používány za účelem regulace a likvidace vajíček (ovicidy), larev (larvicidy) či dospělých jedinců (aficidy – mšice; akaricidy – roztoči). Jako insekticidy fungují také synteticky vyrobené hmyzí feromony a hormony. [1; 18; 21; 22]



Obr. č. 12: Klasifikace pesticidů podle působení na cílené škůdce, včetně příkladů konkrétních zástupců [18; 22; 23; 24; 25; 26; 27; 28; 29; 30; 31; 32; 33]; Poznámka: Vzhledem k povaze virucidů a baktericidů lze tyto konkrétní podskupiny řadit též k biocidním látkám); Schéma: autoři

2.3.2 Rozdělení podle původu pesticidu

Oproti předchozí klasifikaci založené na účinku vůči určitému škodlivému organismu vychází rozdělení podle zdroje pesticidní látky ze značně jednoduššího pojetí těchto přípravků. Původ zde totiž označuje cestu, kterou byl pesticid připraven, a to buď synteticky (chemické pesticidy) nebo zdali vznikl přirozeně v přírodě (biopesticidy). [1]

Biopesticidy tvoří značně menší skupinu (k roku 2020 bylo registrováno 390 prostředků, USA), jež pocházejí z přírodních zdrojů, jakými jsou převážně rostliny, ale také zvířata a minerální látky. Mezi jejich výhody patří ve většině případů nižší toxicita oproti chemickým pesticidům, vysoká selektivita a účinek. Ve spojení s programy IPM se jejich užívání stává výhodnější, jelikož zisky z úrody jsou značné, a navíc nedochází ke kontaminaci okolního prostředí cizorodými látkami jako v případě syntetických přípravků. Mezi typické zástupce bývají řazeny organické sloučeniny, které byly extrahovány z přírodních zdrojů v 19. století (viz podkapitola 2.2.3). Biopesticidy lze také dále rozdělit do tří podskupin: biochemické pesticidy (netoxické mechanismy), mikrobiální pesticidy (činnost mikroorganismů) a do rostlin inkorporované protektanty (genetické modifikace, z ang. Plant-Incorporated-Protectants, PIPs). [1; 34]

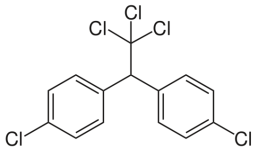
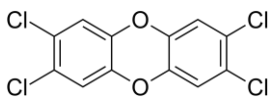
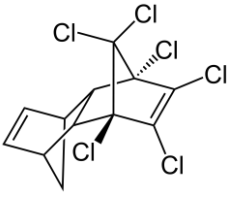
Chemické pesticidy představují skupinu nejen rozšířenější (k roku 2021 bylo registrováno přes 800 prostředků, USA), ale také rozmanitější díky měnícímu se složení a struktuře v konkrétních podskupinách. Obecně se tyto látky vyznačují vysokou toxicitou vůči cílovému organismu, ale také ostatním živočišným formám a životnímu prostředí. Syntetizované pesticidy lze podle charakteristických skupin v chemické struktuře rozdělit do několika podskupin: [1; 35; 36]

- Přítomnost chloru (Cl) – nejčastěji se v tomto smyslu jedná o chlorované uhlovodíky zvané organochloridy, případně organochlorované látky, jejichž používání je v současné době značně omezené, v minulosti se však používalo mnoho aktivních složek s vysokou stabilitou, perzistencí a lipofilitou, k této podskupině lze zařadit i různé chlorované sloučeniny, např. chlorfenoxxy,
- Přítomnost dusíku (N) – nejedná se příliš definovanou kategorií pesticidů, jelikož její zástupci bývají často řazeny k jiné z uvedených podskupin, např. karbamáty, lze však uvést také sloučeniny odvozené od dusíkatých heterocyklů jako pyridiny, diaziny, triaziny či triazoly,

- Přítomnost fosforu (P) – tato podskupina zahrnuje především různě substituované organofosfáty, ale také další organické estery fosforu, vyznačují se především nízkou perzistencí v životním prostředí, ale naopak velmi vysokou toxicitou, některé bojové plyny obsahují organofosfátovou skupinu,
- Karbamáty – jedná se o sloučeniny odvozené od nejjednoduššího esteru kyseliny karbamátové (N-methyl karbamát), které působí podobně jako organofosfáty, ale oproti kterým jsou méně toxické,
- Neonicotinoidy – chemická struktura těchto látek je obdobou nikotinu, tyto pesticidy jsou více perzistentního a hydrofilního charakteru, značně velkou toxicitu vykazují proti opylovačům,
- Pyrethroidy – jak již bylo uvedeno dříve, tyto syntetické deriváty jsou odvozeny od přírodních pyrethrinů, jejich chemická struktura byla však upravena za účelem vyšší perzistence, oproti ostatním umělým pesticidům vykazují nižší toxicitu. [1; 18; 36; 37; 38; 39; 40; 41]

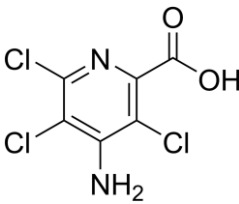
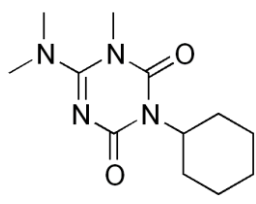
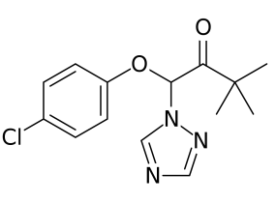
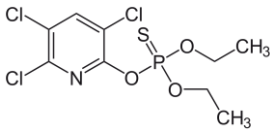
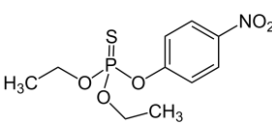
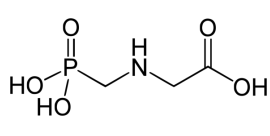
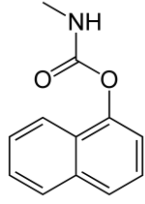
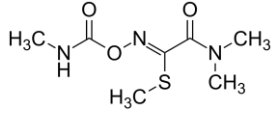
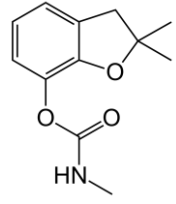
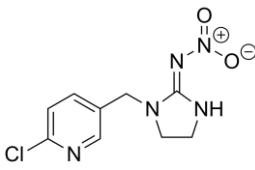
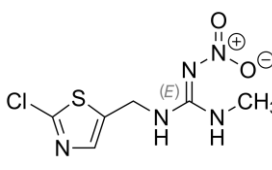
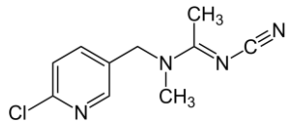
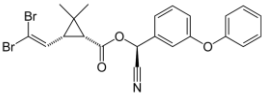
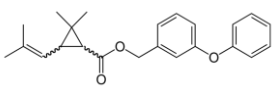
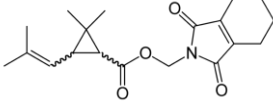
Kromě zmíněných pesticidních látek, které ve své struktuře obsahují atom či více atomů dusíku může být i mnoho dalších pesticidů v závislosti na jejich chemickém složení řazeno do vícero skupin, ale ve většině případů bývá jejich zařazení více méně definované (tab. č. 2). Například insekticid chlorpyrifos obsahuje organofosfátovou skupinu a chlorovaný pyridin, ale je řazen výhradně k organofosfátům. Konkrétní zástupci daných podskupin mohou vykazovat i více pesticidních účinků, tj. působit na více cílových organismů.

Tab. č. 2: Klasifikace aktivních složek chemických pesticidů podle chemického složení

Podskupina	Zástupci		
Obsah Cl (organochloridy)			
Další zástupci: HCB, HCH	Obr. č. 13: Struktura DDT (insekticid)	Obr. č. 14: Struktura TCDD (herbicid)	Obr. č. 15: Struktura aldrinu (insekticid)

Tabulka pokračuje na další straně.

Tab. č. 2: Klasifikace aktivních složek chemických pesticidů podle chemického složení – pokračování

Podskupina	Zástupci		
Obsah N (heterocykly)			
	Obr. č. 16: <i>Struktura pikloramu</i> (herbicid)	Obr. č. 17: <i>Struktura hexazinonu</i> (herbicid)	Obr. č. 18: <i>Struktura triadimefonu</i> (fungicid)
Další zástupci: fenarimol, pinoxaden			
Obsah P (organofosfáty - glyfosát)			
	Obr. č. 19: <i>Struktura chlorpyrifosu</i> (insekticid)	Obr. č. 20: <i>Struktura parathionu</i> (insekticid)	Obr. č. 21: <i>Struktura glyfosátu</i> (herbicid)
Další zástupci: fenthion, diazinon			
Karbamáty			
	Obr. č. 22: <i>Struktura karbarylu</i> (insekticid)	Obr. č. 23: <i>Struktura oxamylu</i> (insekticid)	Obr. č. 24: <i>Struktura karbofuranu</i> (insekticid)
Další zástupci: methomyl, thiodikarb			
Neonikotinoidy			
	Obr. č. 25: <i>Struktura imidaklopridu</i> (insekticid)	Obr. č. 26: <i>Struktura klothianidinu</i> (insekticid)	Obr. č. 27: <i>Struktura acetamipridu</i> (insekticid)
Další zástupci: dinotefuran, thiamethoxam			
Pyrethroidy			
	Obr. č. 28: <i>Struktura deltamethrinu</i> (insekticid)	Obr. č. 29: <i>Struktura fenothrinu</i> (insekticid)	Obr. č. 30: <i>Struktura tetramethrinu</i> (insekticid)
Další zástupci: allethrin I a II, imiprothrin			

2.3.3 Rozdělení podle mechanismu účinku

Klasifikace pesticidních aktivních složek podle způsobu jejich účinku na škodlivý organismus tvoří zdaleka nejvíce komplexní princip rozdělení. K tomuto rozdělení lze tedy přistupovat více způsoby – z obecného úhlu pohledu, jakým pesticid na škůdce působí, nebo z blíže specifického biochemického hlediska.

V kapitole 2.1, jež se věnovala rozebíráním několika definic pesticidních látek, bylo zmíněno, že k pesticidům bývají občas také řazené různé zemědělské prostředky (EPA). Podle funkce, kterou primárně působí, lze pesticidy rozdělit na atraktory a repelenty (ovlivnění orientace), růstové regulátory, defolianty (odlistění), desikanty (vysoušení), chemicky sterilizující látky, aktivátory (vyvolání obranného mechanismu), dezinfekce a sanitační prostředky, fumiganty a velkou řadu dalších. [1]

Z biochemické podstaty dochází k rozdělení podle ovlivňování příslušných chemických reakcí, odehrávajících se ve škodlivých organismech. V praxi jsou proto zaváděny přímo jednoznačné klasifikace v závislosti na škůdcích, na které pesticidy cíleně působí. Většinou se pak jedná o inhibitory. Kategorizací se zabývají organizace FRAC, HRAC či IRAC (*Fungicide; Herbicide; Insecticide Resistance Action Committee*), které poskytují detailní klasifikaci podle způsobu působení (ang. Mode of Action, MoA): [42; 43; 44]

- FRAC – rozlišení podle působení na fyziologické funkce hub – obecně se jedná hlavně o biochemické syntézy, metabolismus, dýchání, signální transdukce, motorické proteiny a cytoskelet, případně je MoA neznámý či neklasifikovaný,
- HRAC – rozlišení podle působení na fyziologické funkce rostlin – dělení buněk a růst, buněčný metabolismus a světelná aktivace reaktivních forem kyslíku, případně MoA není u herbicidu znám,
- IRAC – rozlišení podle působení na fyziologické funkce hmyzu – růst, dýchání, svalstvo a nervy, střevní membrána, případně je MoA neznámý či nespecifický. [42; 43; 44]

2.3.4 Rozdělení podle způsobu průniku

Další způsob klasifikace vychází z toho, jak se pesticidy dostávají dovnitř cíleného škodlivého organismu, přičemž se nejčastěji jedná o jeden ze dvou způsobů: kontaktní či systémový. Některé přípravky mohou být také kombinací obou. [1]

Kontaktní pesticidy působí prostřednictvím dotyku a zůstávají pouze na povrchu ošetřeného organismu. Jelikož působí pouze na velmi konkrétní část živého systému, nejsou tolik náchylné ke vzniku rezistence. Za to jsou velmi závislé na povětrnostních podmínkách, díky kterým může dojít k rozšíření i na nekontaminované jedince. Pokud je navíc napadeno těžce dostupné místo, nemusí dojít k účinnému zásahu. Tyto přípravky jsou převážně preventivní. [1; 45]

Podkategorií kontaktních pesticidů jsou přípravky mezostemické či translaminární pronikající do tkáně, ze které se však nešíří dále do organismu (tzv. hloubkový efekt). [1; 45]

V případě systémových pesticidů k průniku do tkáně již dochází, a tak jsou následně rozváděny cévním systémem do celého organismu. Takto nedochází k negativnímu ovlivnění nezasažených jedinců, jelikož jejich efektivita nezávisí na povětrnostních podmínkách, které by jinak mohly zavinit rozšíření pesticidu. Oproti kontaktním variantám mohou být tyto látky schopné zastavit i pokročilejší stádium infekce, ale na druhou stranu hrozí vybudování rezistence. [1; 45]

Lze se také setkat s méně běžnými přípravky, které pronikají do škodlivého organismu požitím kontaminované stravy, nebo vdechnutím vzduchu s aktivní složkou. [21; 45]

2.4 Nepříznivé účinky

Nežádoucí účinky pesticidů se projevují na necílových organismech zejména při chybách v jejich aplikaci, při použití směsí pesticidů a kapalných hnojiv, úletu postřikových kapiček (aplikace za větru) apod. Může také dojít k poškození rezidui pesticidů např. na svažitých pozemcích, kde může být pesticid splavován do níže položených částí. [46; 47]

Bezprostředním nepříznivým účinkem pesticidů je hlavně jejich toxicita, jež se projevuje akutní či chronickou otravou. Akutní toxicita je udávána tzv. poloviční smrtelná dávkou (LD_{50}), která vyjadřuje množství toxické látky vedoucí při jednorázové aplikaci k úhynu 50 % vystavených jedinců. Udávána je v jednotkách mg/kg tělesné hmotnosti pokusného zvířete. Naproti tomu, chronická toxicita udává přijatelnou denní dávku dané toxické látky a již minimální množství může vést k poškození exponovaného organismu. [18; 46; 47]

Do organismu člověka pesticidy pronikají nejčastěji přes pokožku, dýchací cesty nebo trávicí trakt při neuvědomělém požití. Tudíž před zavedením do zemědělské praxe se veškeré pesticidy musí podrobit toxikologickým výzkumům, které jsou zaměřeny na riziko poškození životního prostředí a zdraví necílových organismů, včetně člověka. [46; 47]

2.4.1 Environmentální problémy

Účinek pesticidů na životní prostředí bývá zpravidla vždy nepříznivý, například může docházet k patologickým vlivům na zvířata, zejména změnám na potomstvu, snížení plodnosti a zvýšení rizika vzniku rakoviny. [48]

Ke kontaminaci dochází především při velkoplošné aplikaci formou postřiků na zasažená pole a lesní porosty v průmyslovém zemědělství a hospodářství. Zdroje přímého znečištění půdy, vodních ploch a toků jsou pak odpady z těchto průmyslových, zemědělských a domácích výrob. Mezi nepřímé zdroje znečištění mohou být řazeny větrné eroze a splachy z půdy. [48]

2.4.2 Zdravotní zavadnost

Pesticidní přípravky absorpcí pronikají do půdy a následně do spodních vrstev zeminy, kde se nachází podzemní vody. Převážně se však vyskytují v nepatrné míře také v potravinách a pitné vodě. Ke kontaminaci dochází jak samotnými pesticidy, tak jejich metabolity a rezidui. [49]

Pesticidy mají na člověka a ostatní živočichy řadu nežádoucích efektů, přičemž se primárně jedná o obecně toxické, karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky. Velké množství z nich se vyznačuje poškozováním centrální nervové soustavy a ovlivněním hormonálního systému, reprodukce a imunity. Například byly nalezeny určité spojitosti s hladinou pesticidů v lidském organismu a kvalitou spermatu a dřívějším nástupem první menstruace u žen. Některé přípravky mohou být mimo jiné i příčinou některých civilizačních chorob. [49; 50]

Lidé věnující se práci s pesticidy mohou být proto vystaveni vyššímu riziku otravy nervového, kožního, nebo dýchacího systému. Pesticidy nejčastěji působí chronicky, kdy mohou vyvolávat rakovinotvorné bujení a vrozené vývojové vady u potomstva. Kontakt s pesticidy je mimořádně škodlivý během těhotenství (*in utero*, prenatální expozice), což však platí pro většinu toxických látek. Mnohokrát dochází k samovolným potratům, předčasným narozením, nízké porodní váze a již zmíněným vrozeným vahám, které se projevují špatnou motorikou, sníženou inteligencí, četnými poruchami (kognitivní, endokrinní, soustředění) a syndromy (autismus). [49; 50]

2.4.3 Provádění laických úprav

Výše uvedený přehled nežádoucích vlivů na lidské zdraví představuje pádné odůvodnění toho, proč bychom chtěli nejen snižovat rezidua pesticidů, ale také omezovat používání syntetických přípravků vyznačujících se vysokou toxicitou a nahrazovat je šetrnějšími alternativami.

V současnosti se především spoléhá na to, že dojde k přirozenému rozkladu použitého pesticidu nebo smytí z povrchu ovoce či zeleniny. Přesto je preventivně doporučováno potraviny před jejich konzumací opláchnout a zbavit slupky, pokud je to samozřejmě možné. Lidé si však již dlouho mezi sebou předávají nejružnější postupy, převážně tedy babské rady a laické metody, které údajně vedou k efektivní eliminaci pesticidů.

K těmto domácím úpravám potravin patří nejčastěji užití některé z chemikálií, které se běžně nacházejí v kuchyni jako potravinářské přísady – jedlá soda, kuchyňská či mořská sůl a různé druhy octa. Postup je přitom zpravidla následující: příprava roztoku příslušné chemikálie, poté ponoření ovoce nebo zeleniny do něj, působení několika minut a konečný oplach vodou. Celý tento postup činní z laických metod vesměs časově i finančně nenáročný způsob, jak se zbavit reziduí pesticidů. Lze se přitom setkat i s jinými, méně tradičnějšími metodami úprav jako např. použití různých detergentů a dezinfekčních prostředků.

Podrobné popisy některých ze zmíněných chemikálií a jiných přípravků pro laickou úpravu ovoce, které byly nakonec vybrány pro uskutečnění praktické části, je možné nalézt rozepsané v podkapitole 3.1.2 a specifika jejich vykonání dál v průběhu experimentu, přesněji v tabulkách č. 4 a 6.

2.5 Legislativa

Právní předpisy Evropské unie (EU) o používání chemických látek, což zahrnuje také pesticidy, mají za hlavní cíl chránit lidské zdraví a životní prostředí před nežádoucí kontaminací. Dvojicí nejdůležitějších předpisů na úrovni EU jsou nařízení o klasifikaci, označování a balení (ang. Classification, Labelling and Packaging, CLP) v rámci GHS (ang. Globally Harmonised System) a nařízení o registraci, hodnocení, povolení a omezování chemických látek (ang. Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals, REACH). [51]

V roce 2009 byl přijat balíček právních předpisů týkajících se pesticidů, který je tvořen směrnicí 2009/128/EC o udržitelném používání pesticidů (ang. Sustainable Use of Pesticides Directive, SUD), jejímž cílem je snížit rizika pro životní prostředí a zdraví za současného zachování úrovně produkce plodin a zkvalitnění kontroly používání a distribuce pesticidů, dále nařízením (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh a nařízením (ES) 1185/2009 o statistice pesticidů, které stanovuje pravidla pro sběr informací o množství pesticidů, které je ročně uvedeno na trh a použito v každém z členských států. [51]

Směrnice 2009/128/EC požadovala od členských států, aby přijaly vnitrostátní akční plány stanovující kvantitativní cíle, úkoly, opatření a harmonogramy s cílem omezit rizika a dopady používání pesticidů na lidské zdraví a životní prostředí. Nařízení týkající se výroby pesticidů a jejich povolení obsahuje výčet schválených účinných látek vypracovaný na úrovni EU. Pesticidy se pak na vnitrostátní úrovni povolují na základě tohoto výčtu. [51]

Důležitým pojmem v oblasti legislativy pesticidů je maximální limit reziduí (ang. Maximum Residue Limit či Level, MRL). Jedná se o nejvyšší zákonem povolené množství aktivní složky pesticidu, které může být obsaženo v potravinách a krmivech, nejčastěji pak bývá uváděno jako mg/kg hmotnosti komodity. Hodnoty MRL vycházejí ze systému o správné zemědělské praxi (ang. Good Agricultural Practice, GAP) nebo oficiálních výzkumů a přezkoumání, přičemž bývají získávány zpravidla vždy pro konkrétní aktivní složku a komoditu. Tyto data jsou volně dostupná v databázích organizací a agentur, které se bezpečností pesticidních přípravků zabývají. Potraviny splňující MRL lze tedy nakonec považovat za toxikologicky přijatelné a tím pádem bezpečné konzumovat. [52]

2.6 Alternativy

V dnešní době lidé používají příliš mnoho běžných chemických pesticidů, které jsou sice velmi rychlé a účinné, ale také velmi nebezpečné. Kvůli syntetickým pesticidům vznikají problémy nejen pro člověka, ale hlavně i pro životní prostředí. Současnost však nabízí i velké množství alternativních metod, které mohou účinně regulovat výskyt škůdců nebo chorob. [53; 54]

Velmi perspektivní alternativou ochrany rostlin je ochrana pomocí tzv. botanických pesticidů. Jedná se o přípravky, které obsahují jako účinnou složku rostlinné sekundární metabolity obranného mechanismu. Tyto syntetizované produkty fungují na mechanismu inhibice růstu a příjmu potravy. Jako další náhrada syntetických pesticidů mohou sloužit obecně biologické

pesticidní přípravky, které stále spadají do kategorie PPPs, ale jejich princip působení vychází převážně z využití přirozených či chemicky šetrnějších aktivních složek. – mikroorganismy, rostlinné výtažky, feromony, esenciální oleje a jejich vedlejší produkty. [53; 54]

2.7 Metody analýzy reziduí pesticidů

Stanovení zbytků pesticidů bývá v současnosti prováděno především v potravinářství za účelem zjištění kontaminace ovoce a zeleniny, ale také pro kontrolu stavu životního prostředí. V praxi prováděné postupy jsou založeny na metodě interního standardu a následné hmotnostní detekci odseparovaných složek kapalinovým chromatografem (LC-MS). Pokud vzorky vyžadují nízké limity detekce, před instrumentální analýzou se předkoncentrovávají extrakčními metodami. V této práci SOČ byla konkrétně využita extrakce QuEChERS. [55]

2.7.1 Extrakce QuEChERS

Tato analytická metoda byla vyvinuta před více než 20 lety za specifickým úmyslem analýzy potravin podezřelých z obsahu veterinárních léčiv, načež se ukázala jako velmi efektivní i pro přečištění vzorků ovoce a zeleniny s obsahem reziduí pesticidů před jejich následnou analýzou. Za tímto a mnoha dalšími účely se používá dodnes. [56; 57]

Hned několik výhod extrakce QuEChERS je uvedeno v jejím plném názvu: Quick (rychlá), Easy (jednoduchá), Cheap (levná), Effective (účinná), Rugged (robustní) a Safe (bezpečná). Původní verze po analytické stránce představuje disperzní extrakci tuhými fázemi acetonitrilem s přídavkem anorganických solí, načež se vzniklý extrakt přečišťuje. [56; 67]

Podrobný popis, tj. postup extrakce QuEChERS, se nachází v praktické části, v kapitole 3.3.

3 PRAKTICKÁ ČÁST

Mezi klíčové cíle této práce patřilo následující:

- 1) Vybrat laické úpravy na základě jejich předpokládané účinnosti z volně dostupných zdrojů či vlastních znalostí. Stanovit konkrétní kritéria úpravy.
- 2) Porovnat efektivitu zvolených laických úprav oproti vzorku vystaveného pouze postřiku bez dalšího ošetření,
- 3) Navrhnout teoretické modifikace těchto úprav za účelem zvýšení efektivity bez toho, aniž by došlo k ovlivnění požitelnosti ovoce.

3.1 Metodika

3.1.1 Výběr ovoce a pesticidu

Postup experimentu vycházel z návodu využitého již v předchozí práci zabývající se hladinou pesticidů na ovoci a zelenině, jenže se zaměřením na obsah, který se v konečném důsledku mění v závislosti na druhu balení. Práce byla zpracována Zuzanou Juřenčákovou též pod vedením Mgr. Simony Rozárky Jílkové, Ph.D. v rámci ústavu RECETOX z podpory JCMM. [58]

Zvolené ovoce tedy muselo odpovídat takovému složení, aby zůstala zachována použitelnost postupu. Tento průběh extrakce lze obecně aplikovat pro libovolné ovoce či zeleninu s obsahem vody, který činí více než 70 % a obsahem tuků nepřekračující 10 %.

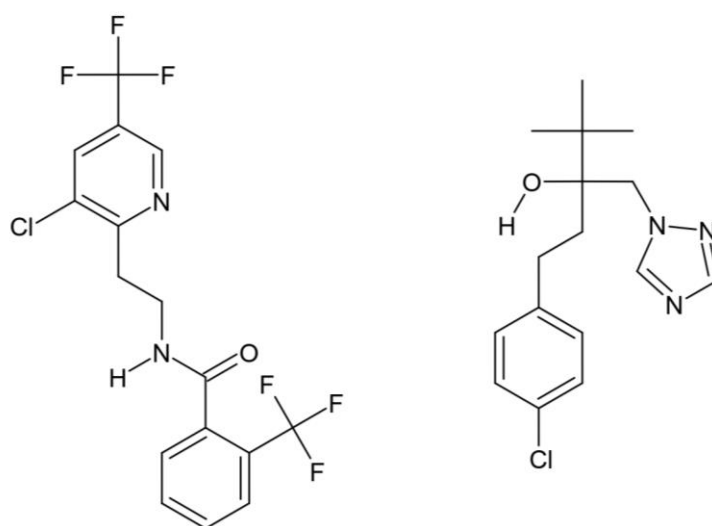
Kromě těchto číselných dat byl dále brán ohled na skutečnost, že není vždy možné ovoce zbavit jeho slupky, což představuje další možný způsob provedení úpravy. Poslední záležitostí k zohlednění byl předpoklad čistoty ovoce ve smyslu očekávané hladiny pesticidů. Toto vymezení zúžilo finální výběr pouze na kusy ovoce s vyšším, ale stále akceptovatelným, stupněm kontaminace.

Po zvážení uvedených důvodů bylo nakonec zvoleno bílé hroznové víno (*Vitis vinifera*). Podle vybraného zdroje se jeho obsah vody na 100 g pohybuje v rozsahu od 78,5 do 82,2 g, tudíž okolo 80 %. Dále obsahuje pouze zanedbatelné množství tuků, tj. maximálně 0,31 g. [59]

Hroznové víno také patří mezi ovoce, které se často umísťuje na známém listu „Dirty Dozen“. Tento seznam shrnuje celkem 12 kusů ovoce a zeleniny, u kterých se vyskytuje nejvyšší zbytková hladina užitých pesticidů. Za rok 2023 se hrozny umístily na 8. místě, což představuje

zlepšení oproti předchozímu roku, ve kterém zaujaly pozici o dvě příčky výše. Velice podobně se na seznamu „Dirty Dozen“ umísťují z řad ovoce např. jablka, broskve či hrušky, které však nebyly vybrány právě z důvodu snadno odstranitelné slupky. První místo bývá přitom zpravidla obsazováno jahodami, což by z nich činilo vhodnějšího kandidáta vzhledem k problematice reziduí pesticidů. Nakonec se od jejich výběru odstoupilo kvůli mnohonásobně nižší produkci oproti hroznovému vínu. Pro porovnání, v letech 2011–2021 produkce jahod zaznamenala nárůst téměř o 3 mil. tun (z 6,4 mil. tun na 9,2 mil. tun), ale oproti hroznovému vínu se stále jedná o zhruba 8krát až 10krát menší množství za stejný časový úsek. [60; 61; 62]

Za vhodný prostředek byl zvolen fungicid s obchodním názvem Luna Experience od výrobce BAYER s.r.o., který se hojně využívá pro ochranu vinné révy, celé řady ovocných stromů a zeleniny proti napadení houbovými patogeny. Jeho aplikace na hroznové víno slouží jako preventivní zásah proti padlí révovému a bílé hnilobě v případě signalizace výskytu choroby. V jeho složení se nachází dvojice účinných látek, a to fluopyram a tebukonazol (obr. č. 31), každá v koncentraci 200 g/l. Obě tyto chemikálie patří mezi širokospektrální fungicidní látky, však fluopyram svým mechanismem účinku patří mezi SDH inhibitory působící na dýchání a tebukonazol mezi DM inhibitory blokuující růst mycelia a klíčení spor (dle klasifikace FRAC). Určen je výhradně pro profesionální účely, vyžadující přítomnost uvážlivé osoby s odbornou způsobilostí (konkrétněji v příloze č. 1). [63]



Obr. č. 31: *Struktura fluopyramu (vlevo) a tebukonazolu (vpravo); Poznámka – funkční vzorec tebukonazolu lze zapsat jako „(RS)-1-(4-chlorofenyl)-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-pentan-3-ol“*

3.1.2 Výběr laických úprav

Laické techniky byly vybírány s ohledem na jejich rozšířenost, proveditelnost a také předpokládanou efektivitu na základě vlastní znalosti autorů a volně dostupných webových stránek (Zdravý Čech, Česká Ordinance). Dále byl stanoven odhad, že žádná z účinných složek pesticidu nebude chemicky reagovat s prostředkem pro úpravu za vzniku toxičtějšího produktu. Při uvážení veškerých těchto faktorů nakonec vzešlo rozhodnutí pro uskutečnění celkem 8 metod a přípravy 2 kontrolních vzorků (tab. č. 4). [64; 65]

Tab. č. 3: Přehled vzorků a zvolených laických úprav, včetně jejich upřesnění

Číslo vzorku	Skupina	Úprava	Poznámky
1	Blank	---	Kontrolní (bez postřiku)
2	Postřik	---	Kontrolní (s postřikem)
3	Voda	Oplach	5 sekund
4	Voda	Oplach	30 sekund
5	Voda	Oplach	Vařící
6	Voda	Ponor	10 minut
7	Chemikálie	Jedlá soda	Ponor, 10 minut
8	Chemikálie	Kuchyňská sůl	Ponor, 10 minut
9	Chemikálie	Ocet	Ponor, 10 minut
10	Chemikálie	Hypermangan	Ponor, 10 minut

Voda se prakticky odjakživa používala pro základní úpravy nejrůznějších potravin před jejich konzumací. Tradičně člověk v dnešní době v podstatě bez většího rozmyšlení nakoupené ovoce či zeleninu před jejich přímou spotřebou nebo přípravou jako první opláchně. Z tohoto důvodu byla tedy úpravě vodou věnována největší pozornost, a to s ohledem na délku oplachu nebo vliv teploty. Kromě vzorku č. 5 byly veškeré úpravy v této skupině prováděny studenou vodou.

Zbylá část testovaných metod byla založena na úpravě vycházející z použití běžně dostupných potravinářských přísad a jejich následného zředění na zvolený poměr. Tyto látky (v tab. č. 4 označeny skupinou chemikálie) se obecně vyznačují čisticími, konzervačními, nebo jakkoliv jinak dezinfekčními účinky.

Jedlá soda označuje triviálním názvem hydrogenuhličitan sodný, NaHCO_3 . Dále se velmi často lze setkat s archaickým označením soda bikarbona vycházející ze zastaralého názvoslovného systému. Po vzhledové stránce se přitom jedná o bílý prášek. Obecně bývá především známa jako přísada kypřících prášků nebo neutralizační zásada. Zároveň jedlá soda patří mezi jeden z nerozšířenějších čisticích prostředků, který je zdravotně nezávadný. [66]

Další poměrně často užívanou a známou kuchyňskou chemikálií je standardní kuchyňská sůl, taktéž zvaná jedlá sůl, systematicky chlorid sodný, NaCl. Získává se buď z mořské vody nebo těžbou v nerostné podobě, přičemž ve své zpracované formě připomíná malé bílé krystaly. Nejčastěji se s ní člověk setkává v podobě ochucovačla přidávající na slané chuti nebo konzervačního prostředku. Obdobně jako jedlou sodu lze i kuchyňskou sůl využívat jako prostředek k čištění častokrát v kombinaci s jinými potravinářskými přísadami. [66]

Jedinou chemikálií organického původu vybranou pro tyto laické úpravy byl ocet představující 8% roztok kyseliny octové neboli ethanové, CH_3COOH , patřící do řad karboxylových kyselin. Kyselina octová je známa svými konzervačními účinky, uplatnění nalézá dokonce v syntézách léčiv nejen jako čistá, ale také v podobě některých svých solí. V koncentrované formě se jedná o čirou kapalinu charakteristického zápachu typického též pro zředěné roztoky. Barva octa přitom závisí na původu dalších přísad použitých při výrobě, přičemž velmi často je uměle barven, např. amoniakálním karamellem. Pro úpravu octem byl vybrán kvasný lihový. [67]

Poslední látkou zvolenou pro úpravy byl hypermangan, triviální označení manganistanu draselného, KMnO_4 . Jedná se o malé fialové krystaly, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodném prostředí. Zde je důležité podotknout, že se nejedná o ošetrovací prostředek běžně dostupný v domácnosti. Hypermangan je znám především jako silné oxidační činidlo uplatňované především u redoxních titrací jako odměrný roztok pro stanovení. Hojně se také využívá jako dezinfekce či antiseptikum. Hlavním cílem testování hypermanganu je prověřit, zdali lze jeho velmi zředěné roztoky použít s úmyslem efektivního odstranění pozůstatků pesticidů. [68]

Kromě samotných laických úprav byla připravena dvojice kontrolních vzorků. Vzorek značený jako blank (také slepý pokus) sloužil pro zjištění zbytkové hladiny pesticidů na zakoupených hroznech, jelikož z povahy celé této práce nelze předpokládat nulový obsah. Blanky obecně zpřesňují prováděné měření v tom smyslu, že neobsahují stanovovanou látku, zde tedy později nanesený postřik, ale při analýze je s nimi postupováno stejně jako s ostatními vzorky. Tímto postupem lze konkrétně zde zjistit obsah původní hladiny pesticidů a tu následně od všech dalších vzorků odečíst pro získání přesnějších dat. Druhý kontrolní vzorek přitom sloužil pro stanovení maximálního množství naneseného pesticidu. Jednalo se tedy o hrozny ošetřené postřikem, na kterých nebyly dále prováděny žádné úpravy. Tento údaj byl klíčový pro konečné porovnání efektivity úprav.

3.1.3 Poměr zředění a trvání úprav

Stanovení koncentrace každé z kuchyňských chemikálií a hypermanganu bylo postaveno na základě informací předávaných mezi lidmi, které pocházejí z různorodých zdrojů. Například doporučené ředění kvasného octa vodou lze nalézt na etiketě koupené lahve, a to v poměru 1 : 4. Konečný výběr byl realizován tak, aby se vyzkoušely obvykle tradované poměry. Další poměry, včetně navážek chemikálií k úpravám, jsou uvedeny v tabulce č. 6.

Časy studených oplachů (tj. kromě oplachu vařící vodou) byly vymezeny na zběžný (5 sekund) a důkladný (30 sekund). Délka trvání veškerých ponorů byla přitom souhrnně určena na dobu 10 minut. Opět se vycházelo z tradičních zvyklostí, avšak zde je nutno poznamenat, že leckdy se lze setkat s delšími časy ponoření (15 až 20 minut). Za časově optimální byla tedy nakonec zvolena varianta 10 minut.

3.2 Materiály

Nákup hroznů, látek pro jejich laickou úpravu, použitých chemikálií (tab. č. 5) a dalších pomůcek a materiálů byl realizován z finanční podpory JCMM v hodnotě 5 000 Kč. Veškerý laboratorní materiál, přístroje, standardy a chemikálie pro extrakci a analýzu byly poskytnuty ústavem RECETOX spadajícího pod Přírodovědeckou fakultu Masarykovy univerzity, kde laboratorní práce také probíhala.

Tab. č. 4: Seznam použitých chemikálií a jejich aplikace při stanovení

Systematický název (triviální, zkratka)	Funkční vzorec	Aplikace
Chlorid sodný	NaCl	Extrakční směs [A]
Síran hořečnatý	MgSO ₄	
Směs primárních a sekundárních aminů (PSA)	NH ₂ -R ₁ ; R ₁ -NH-R ₂	Čisticí směs [B]
Acetonitril (ACN)	CH ₃ CN	Složka extrakčního roztoku
Kyselina ethanová (octová)	CH ₃ COOH	
Ethanol (EtOH)	C ₂ H ₅ OH	Promývání
Kyselina methanová (mravenčí)	CHOOH	Analýza – MF
Methanol (MeOH)	CH ₃ OH	Analýza – MF
Interní standardy	---	Eliminace vlivu vnějších změn

Po provedení laických úprav byl ke vzorkům přidáván tzv. interní standart (více v kapitole 3.3.3). Jeho výběr se zakládá na zohlednění toho, že se v původním vzorku nenachází, nevykazuje žádnou reaktivitu se kteroukoliv ze složek vzorku, od kterých musí být dobře oddělen a také je nutné, aby se v blízkosti stanovovaného analytu eluoval. Dodatečně s přidavkem interního standardu dochází k eliminaci vlivu vnějších změn, jelikož současně dochází k ovlivňování stanovované složky ve vzorku, tak interního standardu.

Koncentrace použitého interního standardu odpovídala 1 µg/ml. Jeho složení přitom odpovídalo celkem 21 izotopicky značeným standardům analytů, přičemž nejvýznamnějším byl konkrétně tebukonazol (označen jako Tebuconazole-D6), jenž představoval jednu z účinných látek pesticidu Luna Experience. Druhá z účinných látek tohoto pesticidu – fluopyram, však v analytech izotopicky značených standardů obsažena nebyla, tudíž s jeho obsahem nebylo možné dále pracovat.

Mezi zbylé inertní standardy analytů patřily:

- Acetochlor-D11,
- Alachlor-D13,
- Atrazine-D5,
- Carbendazim-D4,
- Chlorpyrifos-D10,
- Chlortoluron-D6,
- Dimethoate-D6,
- Diuron-D6,
- Fenitrothion-D6,
- Isoproturon-D3,
- Metamitron-D5,
- Metazachlor-D6,
- Metolachlor-D6,
- Metribuzin-D3,
- Pendimethalin-D5,
- Phosmet-D6,
- Prochloraz-D7,
- Propiconazole-D5,
- Simazine-D10,
- Tertbutylazin-D5.

K použitému laboratornímu sklu patřily především kádinky vhodného objemu (250 – 600 ml) a to za účelem přípravy roztoků nebo provedení laických úprav. Zbylé nádobí a pomůcky byly vždy uvedeny v konkrétním kroku provádění laboratorní práce. Manipulace se vzorky a chemikáliemi byla zajištěna prostřednictvím polypropylenových zkumavek. V neposlední řadě byly využity zatmavené šroubovací vialky (2 ml) pro skladování finálních vzorků.

Během laboratorní práce bylo také využito mnoho nástrojů a přístrojů. Jejich značka a výrobce byly proto uvedeny do závorek v postupu při jejich konkrétním uplatnění.

3.3 Postup – analýza hladiny pesticidů

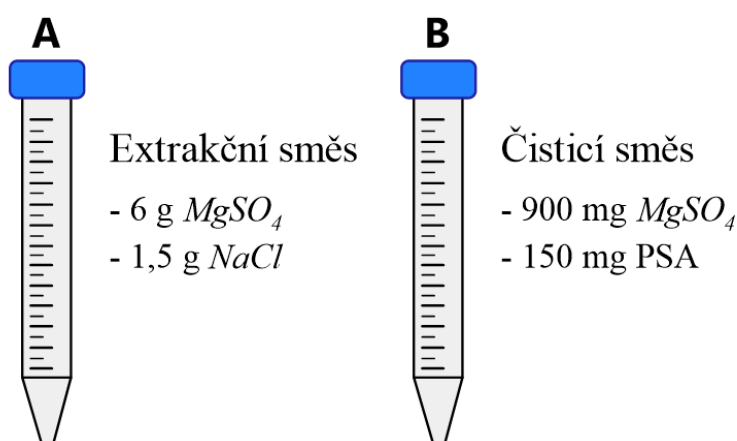
Experimentální část probíhala ve třech hlavních krocích – příprava, extrakce a analýza. V první řadě došlo k přípravě jednotlivých reakčních směsí z navážených látek, poté proběhly samotné laické úpravy, po kterých ihned následovala extrakce a čištění. Konečná analýza zbytkového množství pesticidů proběhla v listopadu ultra vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (UHPLC) spojenou s detekcí ve formě vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (HRMS).

Pro stanovení byly nakoupeny dvě plastová balení bílých hroznů o hmotnosti 500 g, přičemž však bylo nakonec použito pouze jedno z nich. Tento faktor navíc vyhovoval již zjištěné skutečnosti z předchozí práce (viz úvodní odstavec v kapitole 3.1.1) vycházející z rozdílů hladin pesticidů v různých balení.

Uvedený postup vychází z protokolu poskytnutého externí vedoucí práce.

3.3.1 Příprava

Pro samotnou extrakci (A) a čištění (B) bylo potřeba připravit dvojici směsí (obr. č. 32). Zde uvedené navážky slouží pouze pro orientační přehled, jelikož bylo dostačující navažovat přibližně. Vážení probíhalo na analytických vahách (OHAUS Pioneer a Sartorius Cubis) do polypropylenových zkumavek (15 ml).



Obr. č. 32: Složení směsí pro extrakci a čištění; Schéma: autoři

3.3.2 Laické úpravy

Pro nanesení pesticidu formou souhrnného postřiku všech vzorků najednou bylo nutné stanovit jeho použité množství. Dohromady mělo být nanášeno 270 μg , tj. 10 μg na vzorek, celkem 27 (9 vzorků po triplikátech). Toto množství bylo stanoveno proto, aby se při analýze nacházelo v horní části kalibrační křivky. Jelikož se jednalo o suspenzní koncentrát s přesně danou koncentrací aktivních složek (200 g/l), tak pro zachování koncentrace by bylo pipetováno 1,35 μl , načež by tento objem byl převeden do 20 ml vody. Jelikož ale bylo nanášeno přesně 20 ml roztoku, bylo na místo toho připraveno 100 ml roztoku, což znamenalo navýšení pipetovaného množství 5krát. Automatickou pipetou (0,5 – 10 μl , Eppendorf) bylo tedy v závěru pipetováno 6,75 μl do 100 ml vody.

Před samotným začátkem provádění metod k laickým úpravám bylo několik hroznů ponecháno stranou jako kontrolní vzorky (konkrétně blanky, slepé pokusy) pro určení výskytu zbytkového množství pesticidů využitých k ochraně hroznů během jejich pěstování. Zbytek hroznů byl podroben jednomu hromadnému postřiku připraveného pesticidu.

Hrozny byly následně rozděleny do 9 kádinek zhruba rovným dílem, přičemž jedna z nich představovala podíl (konkrétně kontrolní vzorek s postřikem), který bylo též nutné ponechat stranou, zde však pro stanovení celkového obsahu naneseného pesticidu po postřiku.

Průběh metod k laické úpravě byl prováděn téměř pro veškeré vzorky stejně. V první řadě došlo k jejich umístění do 8 kádinek, ve kterých byly buď ponechány k úpravě (oplachy), nebo v nich byly úpravy přímo prováděny (ponory). Úpravy byly prováděny postupně s úmyslem zabránit chybě, která jinak mohla potenciálně vzniknout v závislosti na nedodržení časového intervalu (oplachy trvající několik sekund či desetiminutové ponory, viz sloupec poznámky tab. č. 4).

Zředěné roztoky chemických látek se mezi sebou lišily v závislosti na koncentracích, tj. poměru účinné látky a vody. Při navažování byl tento poměr zohledňován a dodržen. Veškeré údaje zahrnující složení roztoků skupiny chemikálií jsou uvedeny v tabulce č. 6. Vážení probíhalo na laboratorních vahách (KERN EW).

Tab. č. 5: Skutečné koncentrace chemických látek v roztocích pro laické úpravy

Triviální název	Systematický název	Funkční vzorec	Teoretický poměr	Koncentrace [%]	Hmotnost látky [g]	Hmotnost roztoku [g]
Jedlá soda	Hydrogenuhlíčitán sodný	NaHCO ₃	1 : 99	1,02	5,12	501,77
Kuchyňská sůl	Chlorid sodný	NaCl	1 : 9	10,01	50,18	501,48
Ocet	Kyselina ethanová (8% roztok)	CH ₃ COOH	1 : 4	19,97	80,86	405,44
Hypermangan	Manganistan draselný	KMnO ₄	---	0,62 · 10 ⁻³	3,1 · 10 ⁻³	500,02

Zde je taktéž patrné, že pro hypermangan nebyl stanovován přesný poměr. Zvolená koncentrace vycházela z tradovaného množství čtyř krystalů (zrníček) na 1 litr vody. Množství bylo nakonec sníženo na polovinu, aby došlo k zachování zhruba stejného objemu vody, přičemž krystaly hypermanganu byly váženy na analytických vahách (KERN ABJ-NM/ABS-N).

Tímto vzniklo dohromady 10 vzorků (obr. č. 33), se kterými bylo dále pracováno, 8 z nich tvořilo provedené úpravy ze skupin voda a chemikálie, zbývající dvojice představovala již zmíněné kontrolní vzorky. Pro další návaznost se číslování vzorků řídí dle tabulky č. 4.



Obr. č. 33: Provádění laických úprav (zleva doprava – bez postřiku, s postřikem (kontrolní vzorky), oplach vodou 5 sekund a 30 sekund, ponoření do vody 10 minut, jedlá soda, hypermangan, kuchyňská sůl, ocet a vařící voda); Foto: Mgr. Simona Rozárka Jílková, Ph.D.

3.3.3 Extrakce

Po provedení veškerých úprav byly vzorky rozmixovány tyčovým mixérem (ECG) do chvíle, dokud nebyl každý z nich dostatečně zhomogenizován. Každému rozmixování předcházelo očištění mixéru ethanolem, aby byly odstraněny zbytky předchozího vzorku a tím se zamezilo kontaminacím. Nakonec byly vytvořeny triplikáty, které byly naváženy do polypropylenových zkumavek (50 ml). Přibližné množství každého vzorku bylo stanoveno na 15 g.

Dále bylo ke každému ze vzorků přidáno 50 μ l interního standardu prostřednictvím automatické pipety (10 – 100 μ l, Eppendorf) a následně 10 ml připraveného roztoku acetonitrilu s obsahem 1 % kyseliny octové (CH_3COOH) z Erlenmeyerovy baňky přes sklopnou pipetu, tzv. špaček. Poté došlo k ručnímu protřepání zkumavek po dobu zhruba 1 minuty.

Po dostatečném protřepání byla do každé zkumavky se vzorkem přisypána extrakční směs A, která zapříčinila posun rovnováhy, načež došlo k opětovnému třepání, tentokrát však za využití třepačky (Reax Multi, Heidolph), jež i tentokrát trvalo 1 minutu. Již v tuto chvíli začalo být patrné určité rozdělování uvnitř zkumavky (obr. č. 34), ale pro kompletní oddělení ostrým rozhraním byly vzorky přemístěny do centrifugy (5810 R, Eppendorf) na dobu trvání 3 minut při 3 000 otáčkách za minutu.

Takto došlo k rozdělení daných vrstev (odshora): acetonitrilový extrakt žluté barvy, zbytek hroznů, respektive především vláknina a vodní fáze ovoce a reagenty (obr. č. 35).



Obr. č. 34: Začátek rozdělování (před centrifugou);
Foto: autoři



Obr. č. 35: Konec rozdělování (po centrifuge);
Foto: autoři

Extrakce byla zakončena opatrným odebráním 5 ml acetonitrilového extraktu automatickou pipetou (0,5 – 5 ml, Eppendorf) do polypropylenové zkumavky B (15 ml), která obsahovala čisticí směs.

3.3.4 Čištění

Extrakt z předešlého kroku byl přidán do polypropylenové zkumavky B obsahující čisticí směs. Obsah byl protřepán jak ručně, tak za využití třepačky (Reax Multi, Heidolph) trvajících 1 minutu. Usazení reagensů bylo urychleno pomocí centrifugace (5810 R, Eppendorf) po dobu 5 minut při 3 000 otáčkách za minutu.

Poslední část přečišťování vzorků představovala odebrání 1 ml čistého extraktu do tmavých šroubovacích vialek (2 ml), které byly následně umístěny do koncentrátoru se zabudovaným výparníkem dusíku (NEWTRY NDK200-1B), pod jehož proudem byly vzorky odpařovány (obr. č. 36). Odpařování probíhalo za teploty 35 °C do sucha zhruba 25 až 60 minut v závislosti na druhu konkrétního vzorku na třech zařazení současně. Po skončení bylo do každé z vialek se vzorky přidáno 0,5 ml methanolu pro snazší rozdělování v následné analýze.

Na závěr byly vzorky pečlivě zašroubovány a uloženy do mrazáku, ve kterém byly skladovány až do samotné analýzy. Před analýzou bylo přidáno navíc 0,5 ml ultračisté vody.



Obr. č. 36: *Odpařování vzorku pod proudem dusíku v koncentrátoru*; Foto: autoři

3.4 Instrumentální analýza

Jak již bylo uvedeno v úvodu, princip získání požadovaných dat vychází ze spojení separace a následné kvantifikace analytů ve vzorcích. To bylo v důsledku uskutečněno prostřednictvím ultra vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC), jež sloužila pro rozdělení složek na jednotlivé analyty, a která byla propojena s vysokorozlišovací hmotnostní detekcí (HRMS) pro stanovení jejich množství ve vzorcích díky přidavku izotopicky značených interních standardů na začátku experimentu ještě před samotným procesem extrahování.

Tato část experimentální práce byla kompletně zpracována zaměstnancem ústavu RECETOX, bez účasti autorů práce SOČ.

3.4.1 Chromatografická separace UHPLC

Kapalinová rozdělovací chromatografie funguje obecně na základě vzájemné interakce složek vzorku se stacionární (nepohyblivou; SF) fází unášených mobilní (pohyblivou; MF) fází. Toto ovlivnění následně způsobí, že různé složky budou strávit různý čas na chromatografické koloně, což se v důsledku projeví rozdílnými retenčními časy, podle kterých lze jednotlivé složky identifikovat.

Pro analýzu reziduí pesticidu byl použit ultra vysokoúčinný kapalinový chromatograf (UHPLC) s reverzními fázemi konkrétně vybavený analytickou kolonou Luna C-18 endcapped (4 μm) o rozměrech 100 \times 2 mm s předkolonou SecureGuard C-18 značky Phenomenex. Prostřednictvím programovatelného dávkovače vzorků (tzv. autosampleru) bylo na kolonu nastříkováno 5 μl každého ze vzorků rozpuštěných v 50% methanolu. Termostat udržoval na koloně konstantní teplotu 30 $^{\circ}\text{C}$, přičemž teplota vzorku byla udržována na 10 $^{\circ}\text{C}$.

Dávkování mobilní fáze bylo zajištěno binárním čerpadlem s gradientovou elucí, tj. proměnlivé složení mobilní fáze v průběhu separace. Mobilní fáze sestávala celkem ze dvou složek, MilliQ vody s přidavkem 0,1% kyseliny mravenčí (složka č. 1) a methanolu, též s obsahem 0,1% kyseliny mravenčí. Složení mobilní fáze v čase je uvedeno níže v tabulce č. 7. Průtok mobilní fáze činil 250 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Tab. č. 6: *Parametry gradientu mobilní fáze*

Čas [min]	Složka č. 1 [%]	Složka č. 2 [%]
0,00	50	50
3,00	20	80
6,50	5	95
6,51	0	100
8,00	0	100
8,01	50	50
11,50	50	50

3.4.2 Hmotnostní detekce HRMS

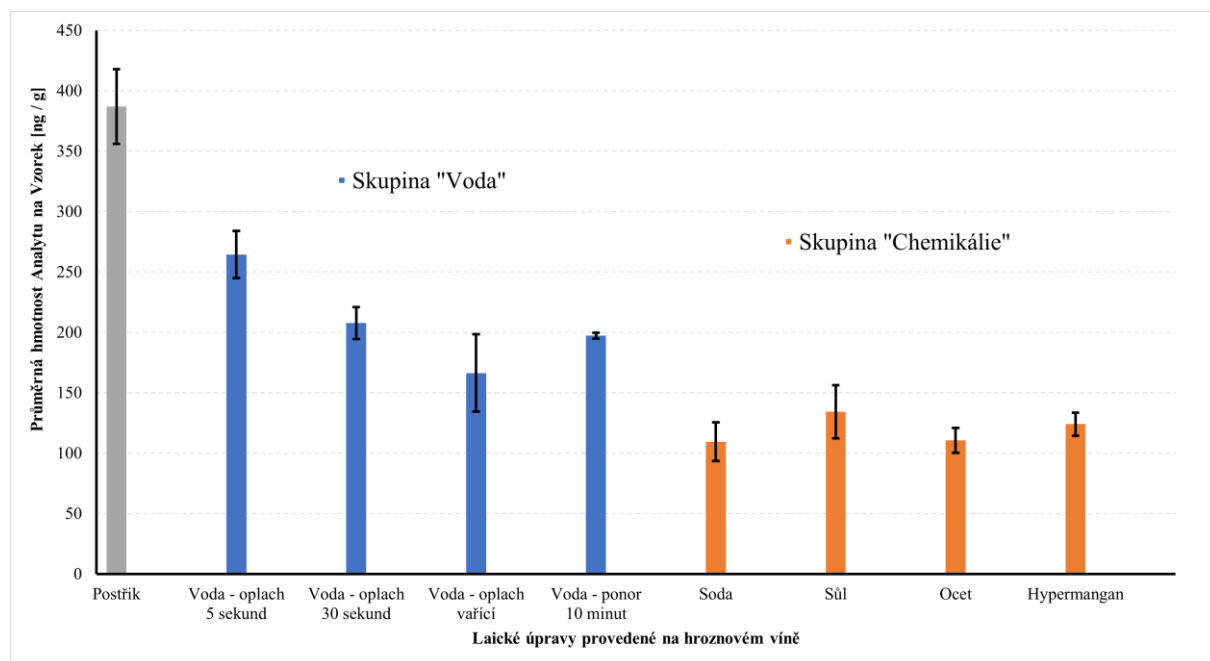
Jako detektor pro analýzu odseparovaných složek byl využit tandemový vysokorozlišovací hmotnostní spektrometr HRMS vybavený iontovým zdrojem typu ESI s dostatečnou citlivostí. Pro analýzu byl využit systém AB Sciex QTrap 5500, záznam signálu sledovaných analytů využíval dvojici MRM přechodů s pozorovacím oknem o délce 60 sekund. Během hmotnostní detekce byly látky ionizovány na fragmenty a následně separovány podle výsledného poměru hmotnosti a náboje.

4 VÝSLEDKY

Analýza všech 30 vzorků poskytla data celkem pro 36 pesticidů, včetně 20 z těch, které byly použity jako přírůstek interního standardu s výjimkou jednoho a to Phosmetu-D6. Nad limitem detekce byl zaznamenán pouze fungicid tebukonazol, který byl zároveň tím nejvíce důležitým, protože se jednalo o aktivní složku přípravku Luna Experience, který byl použit na postřik hroznového vína z nakoupeného balení na začátku experimentální části této práce.

Od každého vzorku, přesněji od každého jeho jednotlivého triplikátu, byla odečtena průměrná hodnota slepého vzorku představující zbytkové množství tebukonazolu z pesticidu použitého již během pěstování. Tím došlo k očištění výsledků od průměrné hodnoty, jež se teoreticky na všech hroznech v balení nacházela. Jednalo se o množství 6,94 ng/vzorek.

Dále byl stanoven hmotnostní zlomek, tj. poměr analytu na množství vzorku (ng/g), včetně výběrových směrodatných odchylek vyjádřených v podobě chybových úseček. Tato data slouží pro finální vyhodnocení experimentální části, tudíž pro lepší přehled údajů jsou níže uvedena v grafickém znázornění jako graf č. 1.



Graf č. 1: Průměrné hodnoty zbytkové hladiny aktivní složky tebukonazol z přípravku Luna Experience pro laické úpravy v daných skupinách; Poznámka: Chybové úsečky znázorňují výběrovou směrodatnou odchylku.

Pro kompletní srovnání shrnuje tento graf průměrná data analýzy pro vzorek ošetřený postříkem bez jakýchkoliv dalších úprav a obě skupiny provedených laických úprav, které se řídí pořadím číslování z tabulky č. 4. Číselné hodnoty jsou dále uvedeny v tabulce č. 8, včetně jejich rozdělení do kategorií efektivity.

Tab. č. 7: Rozdělení laických úprav podle efektivity do kategorií A,B,C v závislosti na velikosti zbytkové hladiny účinné látky tebukonazol z pesticidu Luna Experience

Číslo vzorku	Úprava	Průměrné množství analytu na gram vzorku ± směrodatná odchylka [ng / g]	Efektivita [%]	Kategorie
2	Postřík	387,02 ± 30,88	---	---
3	Voda - oplach 5 sekund	246,46 ± 19,68	31,67	C
4	Voda - oplach 30 sekund	207,67 ± 13,30	46,34	B
5	Voda - oplach vařící	166,40 ± 32,09	57,00	B
6	Voda - ponor 10 minut	197,24 ± 2,55	49,04	B
7	Jedlá soda	109,47 ± 16,05	71,71	A
8	Sůl	134,22 ± 22,07	65,32	B
9	Ocet	110,45 ± 10,33	71,46	A
10	Hypermangan	124,07 ± 9,52	67,94	A

Procentuální efektivita zde popisuje, jak velké množství analytu bylo z hroznů prostřednictvím úprav odstraněno z jejich povrchu při porovnání s neupraveným vzorkem, tj. postříkem. Vyšší hodnota efektivity tedy znamená, že metoda byla schopná eliminovat větší množství pesticidu. Na základě toho byly jednotlivé laické úpravy následně rozděleny do tří kategorií: nejvíce efektivní metody byly zařazeny do kategorie A (procentuální efektivita 66,67 – 100 %), dále kategorie B zahrnuje úpravy stále poměrně účinné (33,33 – 66,66 %), přičemž nejméně efektivní metody byly zařazeny do kategorie C (0,00 – 33,32 %).

Pro každý triplikát byl navíc vytvořen i průměr ng analytu ve vzorku zahrnující surová data z přístroje, tak odečet průměru slepého pokusu. Zbytek těchto dat společně s navážkami hroznů pro každý vzorek je pro přehled uveden v následující tabulce (tab. č. 9).

Následující kapitola shrnuje podrobným komentářem porovnání s dříve provedenými pracemi, doporučení pro snížení expozice vůči zbytkovému množství pesticidů a další důležitá fakta pro vyhodnocení.

Tab. č. 8: Kompletní data analýzy zbytkové hladiny tebukonazolu na povrchu hroznů (*Vitis vinifera*) stanovená prostřednictvím UHPLC-HRMS; Poznámka: písmena A; V v jednotkách označují Analyt; Vzorek

Číslo	Úprava - Vzorek	Navážka [g]	Analyt [ng / V]	Analyt Ø [ng / V]	Analyt - BLANK [ng / V]	Analyt Ø - BLANK [ng / V]	Analyt / Vzorek [ng / g]	Analyt / Vzorek Ø [ng / g]	Směrodatná odchylka [ng A / g V]
1	Blank	15,48	11,3	6,94	---	---	---	---	---
		15,60	6,02		---		---		
		14,60	3,49		---		---		
2	Postřik	15,67	6510	6116,67	6503,06	6109,73	415,00	387,02	30,88
		14,95	5870		5863,06		392,18		
		16,85	5970		5963,06		353,89		
3	Voda - oplach 5 sekund	15,19	4230	4256,67	4223,06	4249,73	278,02	264,46	19,68
		15,15	4150		4143,06		273,47		
		18,12	4390		4383,06		241,89		
4	Voda - oplach 30 sekund	17,79	3760	3560,00	3753,06	3553,06	210,96	207,67	13,30
		16,49	3190		3183,06		193,03		
		17,00	3730		3723,06		219,00		
5	Voda - oplach vařící	14,38	2900	2583,33	2893,06	2576,40	201,19	166,40	32,09
		14,70	2360		2353,06		160,07		
		18,00	2490		2483,06		137,95		
6	Voda - ponor 10 minut	16,64	3310	2926,67	3303,06	2919,73	198,50	197,24	2,55
		15,60	3110		3103,06		198,91		
		12,11	2360		2353,06		194,31		
7	Soda	15,22	1940	1686,67	1933,06	1679,73	127,01	109,47	16,05
		14,27	1370		1363,06		95,52		
		16,46	1750		1743,06		105,90		
8	Sůl	14,45	1580	1786,67	1573,06	1779,73	108,86	134,22	22,07
		14,71	2200		2193,06		149,09		
		10,87	1580		1573,06		144,72		
9	Ocet	14,46	1740	1656,67	1733,06	1649,73	119,85	110,45	10,33
		14,12	1590		1583,06		112,11		
		16,43	1640		1633,06		99,40		
10	Hypermangan	15,04	1820	1813,33	1813,06	1806,40	120,55	124,07	9,52
		14,78	2000		1993,06		134,85		
		13,81	1620		1613,06		116,80		

5 DISKUSE

Veškeré testované laické úpravy se ukázaly být do určité míry efektivní a měly tím za následek odstranění naneseného pesticidu ze vzorků hroznového vína. Změřené množství tebukonazolu pro každý triplikát vzorku oproti vzorku s postřikem kleslo v závislosti na použité metodě zhruba v rozmezí od 30 – 70 %. Při porovnání obou skupin je zřetelné, že úpravy kuchyňskými chemikáliemi, včetně hypermanganu, byly o minimálně 8 % účinnější než ryze vodní úpravy (srovnáno na základě nejvíce účinné úpravy vodou a nejméně účinné úpravy chemikálií: oplach vařící vodou a kuchyňská sůl).

5.1 Úpravy vodou

Obecně tyto metody patří mezi méně efektivní, proto byly až na jedinou výjimku s ohledem na procentuální efektivitu zahrnuty do kategorie B (rezidua pesticidu byla menší než 66,66 %).

Délka expozice hraje značnou roli během počátečního vystavení vodě, jelikož pouze oplach trvajícím 5 sekund nebyl natolik účinný, aby se umístil do kategorie B. Průměrný obsah množství zbytků pesticidu byl přibližně o 1,66 % nižší, tudíž byl jako jediná laická úprava zařazen do kategorie C. Prodloužení oplachu šestkrát, tj. na 30 sekund, však mělo za následek očištění téměř poloviční. Délka oplachu trvajícím 10 minut již takový skok nepředstavuje, ke snížení také došlo, nikoliv však k tak razantnímu jako je patrné mezi zběžným a důkladným oplachem.

Delší oplachy navíc povedou nejen k odstranění zbytků pesticidů, ale také očištění od ostatních druhů nečistot, např. mikroorganismy, částice prachu nebo přípravky pro voskování.

Značný vliv na snížení rezidua pesticidu měla také teplota. Zatímco zbylé výše uvedené metody byly prováděny se studenou vodou, oplach vařící vodou se ukázal jako nejvíce efektivní z celé této skupiny. Jako jediný zde dokázala odstranit více než polovinu (přesněji 57,00 %) množství oproti kontrolnímu vzorku s postřikem. Oplach přitom trval stejně jako ten zběžný (5 sekund). Tato konkrétní úprava také představuje nejširší možnou variabilitu, co se prostoru pro nepřesnost týče, jelikož směrodatná odchylka je zde zdaleka nejvyšší. Tato odchylka s největší pravděpodobností nesouvisí s nespolehlivostí metody, nýbrž však s nerovnoměrným oplachem všech hroznů ve vzorku a postřikem. Na tuto skutečnost je nutno brát ohled pro každý provedený oplach. Podle studie provedené Stephenem Chungem s rostoucí teplotou vody roste také rozpustnost pesticidů v ní, což má za následek lepší odstranění. [69]

Podle Wexnerova lékařského centra spadajícího pod Ohijskou státní univerzitu je doporučená doba oplachu studenou vodou okolo 10 sekund pro ovoce a zeleninu se slupkou. Přitom některé kusy ovoce (např. bobulovité plody) by neměly být omývány, dokud nemají být konzumovány z důvodu postupného zhoršení jejich kvality. Za to u pórovitého ovoce (např. jahody) je nutné provádět studené oplachy trvající aspoň 20 sekund eventuálně doplněné očištěním kartáčem. Silnější slupky, které se zároveň nekonzumují (např. pomeranče) není nutné oplachovat. [70]

Pokud by měla být využita pouze voda jakožto prostředek úpravy pro snížení hladiny pesticidů, na základě získaných dat doporučujeme její přivedení k varu a následné provedení oplachu. Také se nabízí možnost zalití ovoce vařící vodou, ve které by se následně ponechalo několik minut. Vlivem vysoké teploty však může docházet i ke snižování množství vitaminů. V případě kombinace s kuchyňskými chemikáliemi je možné tento způsob aplikovat pro finální očištění ovoce od reziduí pesticidů i dané chemikálie.

5.2 Úpravy kuchyňskými chemikáliemi

Vybrané laické úpravy poskytly velice chvalitebné výsledky, jelikož se dvě ze tří kuchyňských chemikálií byly schopné zařadit do kategorie A (množství reziduí se pohybovalo pod 33,32 %) a to přesněji 20% roztok kvasného octu a 1% roztok jedlé sody. Pouze 10% roztok soli se velmi těsně umístil do kategorie B, za to však dokázal odstranit zhruba o 8 % více zbytků pesticidu než nejvíce efektivní úprava vodou – vařící oplach.

V žádném případě nebylo předpokládáno, že kterákoliv z těchto metod povede ke kompletnímu odstranění reziduí z hroznového vína, ale jejich vysoká účinnost byla očekávaná. Tyto metody byly také s ohledem na odchylky poměrně přesně, opět s výjimkou kuchyňské soli, jež by se jinak byla také pravděpodobně schopna zařadit k ostatním chemikáliím do kategorie A.

Ve studii provedené pětičlenným týmem (Bhilwadikar, Pounraj, Manivannan, Rastogi a Negi), zabývající se výzkumem běžně prováděných laických úprav a moderních technik prováděných za účelem odstraňování mikroorganismů a pesticidů, bylo zjištěno, že 10% roztok soli dokáže odstranit z povrchu hlávkového zelí až 67,2 % reziduí za 20 minut čili za dvakrát delší čas, než byl stanoven pro tuto práci. Rozdíl je to však pouze minimální (necelá 2 %), podobně jako u provedení důkladného oplachu (30 sekund) a ponoru (10 minut) u vodních úprav. Tato metoda byla aplikována na pesticid chlorpyrifos, který funguje jako insekticid. Podle studie by však navýšení koncentrace soli mohlo vést ke zvýšení efektivity úpravy. [71]

S efektivitou úpravy souvisí obzvláště chemická struktura pesticidu. Aktivní složky s vysokým počtem substituentů chloru bez dalších funkčních skupin a zbytků (HCB, HCH, DDT atd.) jsou touto úpravou ovlivněny minimálně, za to pesticidy, které ve své molekule chlor neobsahují (dimethoát, pirimifos-methyl), mohou být touto úpravou odstraněny až z 90 %. Však v případě lehce chlorovaných látek s různým obsahem uhlovodíkových zbytků s funkčními skupinami záleží efektivita výhradně na nich. Výše uvedený chlorpyrifos ve své struktuře obsahuje kromě thiofosfátové skupiny také trojnásobně chlorovaný pyridin, proto nelze předpokládat vyložení efektivní odstranění, ale ani nulový účinek. Tebukonazol do této skupiny patří díky triazolové skupině propojené uhlovodíkovým řetězcem s jednou chlorovaným benzenem. [69; 71]

Účinnost zbylých dvou metod – jedlé sody a octu, úzce souvisí s jejich vlastnostmi mající vliv na změnu pH vody, ve které byly kuchyňské chemikálie rozpuštěny. Jedlá soda ve vodném prostředí disociuje za vzniku sodného kationtu Na^+ a hydrogenuhličitanového aniontu HCO_3^- , který působí bazicky sám o sobě, ale který dále reaguje s vodou za vzniku hydroxidového aniontu OH^- , což vede ke zvýšení pH. V případě kvasného octu čili 8% roztoku kyseliny octové CH_3COOH (který byl dále zředěn 4 díly vody) je to přesně naopak, disociací vzniká octanový aniont CH_3COO^- a odštěpený proton H^+ , který ve vodném prostředí přechází na oxoniový kationt H_3O^+ snižující pH vody. Změna pH může následně vést ke zkrácení poločasu rozpadu pesticidu a tím k jeho dřívějšímu a snadnějšímu rozkladu. Pesticidům však spíše škodí alkalické pH, ve kterém rychle hydrolyzují do své inaktivní formy. Kyselina octová patří k tzv. slabým kyselinám, což znamená, že svůj vodíkový proton H^+ odštěpuje velmi neochotně, tudíž raději přetrvává ve své nedisociované formě. [69; 71]

5.3 Úprava hypermanganem

Navzdory faktu, že metoda úpravy hypermanganem (manganistanem draselným, KMnO_4) byla zařazena do skupiny chemikálií, nejedná se o tradiční kuchyňskou chemikálii ve smyslu běžné dostupnosti v domácnosti, proto se komentář k její efektivitě nachází oddělen od zbytku. Jeho efektivita jej byla schopná zařadit do kategorie A, leč se množství odstraněných reziduí velmi blížilo spodní hranici (67,94 %).

Tato chemikálie se od podskupiny kuchyňských chemikálií liší hlavně ve své značné toxicitě. Konzumace již velmi nízkých dávek (zhruba 4-20 mg/kg tělesné hmotnosti) vodného roztoku o koncentrací nad 200 mg/l způsobuje gastrointestinální potíže a obecnou nevolnost. [72]

Poloviční smrtelná dávka LD₅₀ při orálním požití bývá udávána v rozmezí okolo 1090 mg/kg (potkan) až 1449 mg/kg (myš). V případě lidí se smrtelná dávka při požití pohybuje kdekoliv od 10 do 25 g čistého hypermanganu, smrt obvykle nastává v různém časové intervalu podle velikosti dávky. Aby bylo při použití hypermanganu v laických úprav zabráněno potenciální otravě, je nutné připravit velmi zředěný roztok, což v této práci bylo dodrženo (naváženo bylo 3,1 mg krystalického KMnO₄, jež byl rozpuštěn v zhruba 500 g vody). [72]

Již ve výše zmíněné studii pětičlenného vědeckého týmu bylo také zjišťováno, jak efektivně hypermangan odstraňuje rezidua pesticidů. Jejich chemické struktury samozřejmě významně působily při průběhu úpravy, a tak nebyl hypermangan příliš účinný (methomyl a cypermethrin byly odstraněny zhruba z 50 %). Ve zbývajících zhruba 10 případech však došlo k odstranění minimálně 80 %, včetně téměř 100 % účinnosti. Tyto úpravy byly prováděny o délce 1 minuty, přičemž použité koncentrace roztoků činily 0,01 % či 0,001 %. S tímto se tedy váže možnost zvýšení koncentrace roztoku hypermanganu použitého k úpravě ovoce, což by teoreticky vedlo k rapidnímu zvýšení efektivity této metody. Je však nutné upozornit, že tento krok bude muset být doprovázen i důkladným oplachem vodou, aby se zabránilo otravě. V experimentální části k žádné další takové úpravě pod vodním proudem nedošlo. [71]

Hypermangan funguje jako oxidační činidlo, což znamená, že jiné látky jsou v jeho přítomnosti oxidovány (dochází ke zvyšování oxidačního stupně), ale sám sebe redukuje (oxidační stupeň se snižuje). Takto by došlo k redoxní reakci, která by mohla docílit snížení reziduí, ale také k teoretickému vzniku metabolitů, které by mohly být naopak škodlivější než samotný pesticid. Pravděpodobnost něčeho takového by však byla velmi malá, ale stále hodna pozornosti. [69]

V praxi se hypermangan využívá především za účelem odstranění mikroorganismů v procesech spojených s čištěním vod jako dezinfekční prostředek. To je zapříčiněno jeho vysokou afinitou k organické hmotě. Prakticky většina pesticidů užívaných v dnešní době je syntetického původu a skládá se výhradně z organických prvků. Slouží také k regulaci koncentrace železa v pitných vodách. [72]

5.4 Konečné srovnání všech laických úprav

Získané výsledky byly srovnány se studií uskutečněnou dvojicí B. Acoğlu a P. Yolci Ömeroğlu. Jejich práce se obdobně jako tato SOČ zaměřovala na zjištění efektivity laických úprav na snižování hladiny reziduí pesticidů, včetně podobných metod a postupu práce. Provedené laické úpravy kuchyňskými chemikáliemi byly provedeny se širokou škálou koncentrací. Patrný rozdíl je značný pouze ohledně použitých pesticidů a testovaného ovoce, kterým byl konkrétně pomeranč (*Citrus sinensis*). [73]

Výsledky byly porovnávány s jedním z pěti fungicidů – imazalilem, který se podobně jako použitý tebukonazol nachází ve skupině DMI fungicidů G1 (inhibitory demethylace sterolu, C14-demethylázy). Výsledky procentuálního odstranění reziduí tebukonazolu jsou v této práci vyšší než v provedené studii, ale vesměs prezentují dosažení stejného cíle. [42; 73]

Nehledě na uvážené koncentrace je úprava jedlou sodou tou nejvíce účinnou, těsně následovaná úpravou octem. Sůl byla ze skupiny kuchyňských chemikálií také nejméně účinná, přičemž nejvíce neefektivní metodou úpravy zůstal oplach studenou vodou. Pořadí metod je tedy shodné s dosaženými výsledky. [73]

5.4.1 Tebukonazol – MRL

Legislativa EU udává maximální limity reziduí použitého tebukonazolu v nařízení Evropské komise 2018/1514, které upravilo několik příloh původního nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005. Aktivní složka je zde uvedena jako Tebukonazol (R) vyjadřující sumu tebukonazolu, hydroxy-tebukonazolu a jejich konjugátů. Navíc, hodnota MRL hroznů (přesněji moštových) nebyla přezkoumána do konkrétního data kvůli absenci některých informací, které se týkaly prováděných pokusů. Úroveň MRL je zde uvedena jako 1 mg/kg hroznů. [74]

Tebukonazol lze považovat za nepříliš toxický fungicidní přípravek, především ve srovnání s ostatními, avšak stále vykazuje škodlivé účinky – narušuje endokrinní systém, reprodukci a vyznačuje se zároveň mutagenitou, neurotoxicitou, cytotoxicitou a potenciální karcinogenitou a vývojovou toxicitou vůči lidského organismu. Zároveň působí negativně na vodní organismy, další savce, ptáky a včelstvo, dále také na půdní systém a rostliny. [75]

S ohledem na uvedené zdroje bylo množství tebukonazolu na hroznech před postřikem hluboce pod tímto hraničním limitem. To stejné platí i pro analyzované vzorky.

6 ZÁVĚR

Pesticidy našly své hlavní uplatnění již dávno v průmyslovém zemědělství jakožto prostředky určené k ochraně úrody před škodlivými organismy, ke kterým jsou řazeni nejen hlodavci, ptáci a hmyz, ale také choroby vyvolané parazitickými škůdci. Leč se lidé moderní doby pokoušejí od těchto pesticidních přípravků oprostit, jelikož mnohé z nich jsou velmi toxické a jejich vliv na životní prostředí je obecně také nepříznivý, nelze předpokládat, že se jejich užívání zastaví.

Jak již bylo nastíněno v úvodní kapitole a konkretizováno v experimentální části, mezi hlavní cíle této práce patřil výběr laických metod úpravy, včetně stanovení jejich kritérií, které by měly vést ke snížení hladiny reziduí stanovovaného fungicidu – přípravku Luna Experience s aktivní složkou tebukonazol. Výsledky analýzy měly být dále interpretovány do podoby, ze které by bylo možné jednotlivé úpravy mezi sebou porovnat a okomentovat jejich účinek. Jako poslední měly být navrženy modifikace, které by vedly ke zvýšení efektivity těchto laických úprav.

Ke zvoleným a následně provedeným metodám pro laické úpravy patřily zběžný (5 sekund), důkladný (30 sekund) a vařící oplach vodou, zahrnující také ponor trvajících 10 minut. Skupina byla souhrnně označena jako „voda“ a kromě vařícího oplachu byly veškeré úpravy provedeny se studenou vodou. Druhá skupina označená jako „chemikálie“ zahrnovala tři běžně dostupné kuchyňské chemikálie – jedlou sodu (1% roztok), sůl (10% roztok) a kvasný ocet (20% roztok); a velmi zředěný roztok hypermanganu. Obdobě se jednalo o ponory o délce 10 minut.

Pokud se vrátíme k otázkám vyslovených v úvodu, díky zpracovaným výsledkům je lze v tuto chvíli snadno zodpovědět:

Zaprvé: „Stačí prostý oplach ovoce pro odstranění rezidua pesticidů?“ Ano, tyto úpravy vedou ke snížení hladiny zbytků pesticidů a to v rozmezí 31–57 %. Nicméně ze zkoumaných laických úprav byly metody ošetření vodou nejméně efektivní. Nejvíce účinnou úpravou se ukázal být vařící oplach, který dokázal odstranit 57,00 % reziduí tebukonazolu, protikladem k němu byla nejméně účinnou metody úpravy zběžným (5 sekund) oplachem, jenž odstranil pouze 31,67 % čili necelou třetinu. Zbylá dvojice úprav v této skupině, důkladný (30 sekund) a ponor trvajících 10 minut, odstranila množství zhruba podpoloviční.

A zadruhé: „Jak moc jsou tyto laické úpravy ve skutečnosti efektivní?“ Oproti prostým úpravám využívajících jako prostředek očištění vodu jsou laické metody využívající chemikálie výrazně efektivnější. Velice podobnou účinnost bylo možné zaznamenat u jedlé sody (1% roztok) a

kvasného octu (20% roztok), jež dokázaly odstranit přes 71 % reziduí tebukonazolu, tj. nejlepší dosažený výsledek eliminace. Efektivita hypermanganu a soli (67,94 % a 65,32 % respektive) přitom oproti nim poklesla zhruba o 5 %. Veškeré chemikálie byly rozpouštěny ve vodě.

V samotné závěrečné diskusi byly tyto dosažené výsledky porovnány s odbornými vědeckými posudky a výzkumy uskutečněnými již v minulosti. Byla tak ověřena shodnost v seřazení podle procentuální účinnosti: jedlá soda > ocet > hypermangan > kuchyňská sůl > voda. Efektivita metod však velmi úzce souvisí s chemickou strukturou daného pesticidu, která ovlivňuje jeho mnohé vlastnosti. V závislosti na její znalosti lze poté stanovit, které faktory budou k eliminaci reziduí přispívat, např. rozpustnost, stabilita při změně pH či teploty (zpravidla zvýšení), průběh chemických reakcí apod.

Tím pádem nelze univerzálně stanovit nejvíce účinnou modifikaci provedených laických úprav, jelikož je vždy nutné pracovat s vlastnostmi daného pesticidu. Pokud však bude vycházeno čistě z výsledků dosažených v této práci SOČ, lze kombinací ponoru do připraveného roztoku některé účinnější kuchyňské chemikálie a následným oplachem pod proudem, ideálně vařící vody, dostáhnout teoreticky nejvyšší možné efektivity.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACN	Acetonitril
AMK	Aminokyseliny
CLP	<i>Classification, Labelling and Packaging</i> Klasifikace, označování a balení chemických látek a směsí
DBCP	1,2-dibrom-3-chlorpropan
DDT	Dichlordifenyltrichlorethan 1,1'-(2,2,2-trichlorethan-1,1-diyl)bis(4-chlorbenzen)
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> Úřad pro ochranu životního prostředí USA
EtOH	Ethanol
EU	Evropská unie
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> Organizace pro výživu a zemědělství
FRAC	<i>Fungicide Resistance Action Committee</i>
GAP	<i>Good Agricultural Practices</i> Správná zemědělská praxe
GHS	<i>Globally Harmonised System</i> Globálně harmonizovaný systém
GMO	Geneticky modifikované organismy
HCB	Hexachlorbenzen
HCH	Hexachlorcyklohexan
HRAC	<i>Herbicide Resistance Action Committee</i>
HRMS	Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
IPM	<i>Integrated Pest Management</i> Integrovaná ochrana proti škůdcům

IRAC	<i>Insecticide Resistance Action Committee</i>
LC-MS	Kapalinová chromatografie spojená s detekcí hmotnostní spektrometrií
LD ₅₀	Poloviční smrtelná dávka
MeOH	Methanol
MF	Mobilní fáze
MRL	<i>Maximum Residue Level / Limit</i> Maximální limity reziduí
MoA	<i>Mode of Action</i> Způsob působení
NIEHS	<i>National Institute of Environmental Health Sciences</i>
PIPs	<i>Plant-Incorporated-Protectants</i> Protektanty inkorporované do rostlin
PPPs	<i>Plant Protection Products</i> Přípravky pro ochranu rostlin
PSA	Primární a sekundární aminy
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe Method</i> Rychlá, jednoduchá, levná, efektivní, robustní a bezpečná metoda extrakce
REACH	<i>Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i> Registrace, evaluace, autorizace a omezování chemických látek
SF	Stacionární fáze
SUD	Sustainable Use of Pesticides Directive (2009/128/EC) Směrnice 2009/128/EC o udržitelném používání pesticidů
TCDD	2,3,7,8-tetrachlordibenzodioxin
UHPLC	Ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie
WHO	<i>World Health Organization</i> Světová zdravotnická organizace

8 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] KUBIŠOVÁ, Jana. *Charakteristika organofosforových látek v rámci všech pesticidů*. [online]. Hradec Králové, 2008. [cit 2024-01-21]. *Práce ve formátu PDF*. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/12151> Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd. Vedoucí práce prof. Ing. KUČA, Kamil, Ph.D.
- [2] BAAR, Ondřej. *Latinský slovník – vyhledání hesel „pestis“; „caedere“*. [online]. © 2009 Latinsky.cz. [cit 2024-01-21] Dostupné z: <http://latinsky-slovník.latinsky.cz/>
- [3] World Health Organization. *Chemical safety: Pesticides – What are pesticides?* [online]. Ženeva, © 2024 WHO. [cit 2024-01-22] Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/chemical-safety-pesticides>
- [4] European Food Safety Authority. *Glossary – Pesticide*. [online]. Parma, © 2024 EFSA. [cit 2024-01-22] Dostupné z: <https://www.efsa.europa.eu/en/glossary/pesticide>
- [5] U.S. Environmental Protection Agency. *What is a Pesticide?* [online] Washington, EPA. [cit. 2024-01-22] Dostupné z: <https://www.epa.gov/minimum-risk-pesticides/what-pesticide>
- [6] National Institute of Environmental Health Sciences. *Pesticides*. [online]. Severní Karolína, NIEHS. [cit 2024-01-22] Dostupné z: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides>
- [7] Food and Agriculture Organization of the United Nations. *International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides (Revised Version – 2003)*. [online] Řím, © 2024 FAO. [cit 2024-01-22]. *Kodex ve formátu PDF*. Dostupné z: <https://www.fao.org/documents/card/en?details=f7acebd6>
- [8] BOURGUIGNON, Didier. *EU policy and legislation on pesticides: Plant protection products and biocides*. [online]. © 2017 European Union. [cit 2024-01-22]. Dostupné z DOI: 10.2861/39154
- [9] National Geographic Society. *The Development of Agriculture*. [online]. Washington, © 1996 – 2024 National Geographic Society. [cit. 2024-01-13]. Dostupné z: <https://education.nationalgeographic.org/resource/development-agriculture/>
- [10] UMETSU, Noriharu a SHIRAI, Yuichi. *Development of novel pesticides in the 21st century*. [online]. © 2020 Pesticide Science Society of Japan. [cit 2024-01-18] Dostupné z DOI: 10.1584/jpestics.D20-201

- [11] UNSWORTH, John. *History of Pesticide Use*. [online]. Velká Británie, IUPAC Agrochemicals. [cit 2024-01-15]. Dostupné z: https://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&sobi2Id=31&ItemId=19
- [12] Editori encyklopedie Britannica. *Pyrethrum*. [online]. Chicago, © 2024 Britannica. [cit 2024-01-23]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/plant/pyrethrum>
- [13] GIGERICHOVÁ, Lydie. *Kopretina starčkolistá* [online]. Brumov-Bylnice, Fotodoma. [cit 2024-01-23]. Dostupné z: <http://www.fotodoma.cz/rostliny-plantae/kopretina-starckolista/>
- [14] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological profile for Pyrethrins and Pyrethroids – 4. Chemical and Physical Information*. [online]. Atlanta, 2003. [cit 2024-01-23]. *Toxikologická charakteristika ve formátu PDF*. Dostupné z: <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=787&tid=153>
- [15] Fisher Scientific. *The Evolution of Chemical Pesticides*. [online]. Otava, © 1995 – 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. [cit 2024-01-24]. Dostupné z: <https://www.fishersci.ca/ca/en/publications/lab-reporter/2016/issue-4/the-evolution-chemical-pesticides.html>
- [16] U.S. Environmental Protection Agency. *Integrated Pest Management (IPM) Principles*. [online]. Washington, EPA. [cit. 2024-01-24]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/safepestcontrol/integrated-pest-management-ipm-principles>
- [17] National Pesticide Information Center. *Fungicides*. [online]. Oregon, 2022 NPIC. [cit 2024-01-24]. Dostupné z: <http://npic.orst.edu/ingred/ptype/fungicide.html>
- [18] BURIÁNEK, Tomáš. *Toxikologie*. 1. vydání. Brno: SPŠCHBR, 2019. [cit 2024-01-24]
- [19] Editori encyklopedie Britannica. *Herbicide*. [online]. Chicago, © 2024 Britannica. [cit 2024-01-24]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/herbicide>
- [20] U.S. Environmental Protection Agency. *Herbicides*. [online]. Washington, EPA. [cit. 2024-01-24]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/caddis-vol2/herbicides>
- [21] BS vinařské potřeby. *Jak se vyznat v pesticidech?* [online]. © 2024. [cit 2024-01-24] Dostupné z: <https://www.vinarskepotreby.cz/clanky/detail/jak-se-vyznat-v-pesticidech.htm>
- [22] CLEARWATER, Susan, HICKEY, Chris a MARTIN, Michael. *Overview of potential piscicides and molluscicides for controlling aquatic pest species in New Zealand*. [online]. © New Zealand Department of Conservation. Wellington: Science & Technical Publishing, 2008. ISBN (webové PDF) 978-0-478-14376-8.

- [23] MCDONNELL, Gerald a RUSSEL A. Denver. *Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance*. [online]. © 1999 American Society for Microbiology. [cit 2024-01-24] Dostupné z DOI: 10.1128/cmr.12.1.147
- [24] National Center for Biotechnology Information. *Dichlone*. [online]. 2024 PubChem. [cit 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dichlone>
- [25] National Center for Biotechnology Information. *Tebuthiuron*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tebuthiuron>
- [26] National Center for Biotechnology Information. *Dalfampridine*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dalfampridine>
- [27] National Center for Biotechnology Information. *Strychnine*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Strychnine>
- [28] National Center for Biotechnology Information. *Methiocarb*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methiocarb>
- [29] National Center for Biotechnology Information. *1,2-Dibromo-3-chloropropane*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_2-Dibromo-3-chloropropane
- [30] HAHN, Jeffrey a WOLD-BURKNESS, Suzanne. *Aphids in home yards and gardens*. [online]. © 2024 Regents of the University of Minnesota. [cit 2024-01-24] Dostupné z: <https://extension.umn.edu/yard-and-garden-insects/aphids#using-pesticides-344413>
- [31] National Center for Biotechnology Information. *Acephate*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acephate>
- [32] SABRY, Hazafy. *Ovicidal efficacy of some common insecticides against the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders)*. [online]. © 2008-2024 ResearchGate GmbH. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/326446830_Ovicidal_efficacy_of_some_common_insecticides_against_the_pink_bollworm_Pectinophora_gossypiella_Saunders
- [33] National Center for Biotechnology Information. *Temephos*. [online]. 2024 PubChem. [cit. 2024-01-24] Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Temephos>
- [34] U.S. Environmental Protection Agency. *What are Biopesticides?* [online]. Washington, EPA. [cit. 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/what-are-biopesticides>

- [35] SCHWINGL, Pamela, LUNN, Ruth a MEHTA, Suril. *A tiered approach to prioritizing registered pesticides for potential cancer hazard evaluations: implications for decision making*. [online]. National Library of Medicine. [cit 2024-01-25]. Dostupné z DOI: 10.1186/s12940-021-00696-0
- [36] U.S. Environmental Protection Agency. *Chemically-related Groups of Active Ingredients*. [online]. Washington, EPA. [cit 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/chemically-related-groups-active-ingredients>
- [37] U.S. Environmental Protection Agency. *Pesticide Poisoning Handbook – Kapitoly 4, 5, 6, 7 a 10*. [online]. Washington, EPA. [cit. 2024-01-25]. *Příručky ve formátu PDF*. Dostupné z: <https://www.epa.gov/pesticide-worker-safety/recognition-and-management-pesticide-poisonings>
- [38] ARUNKUMAR, S. Suvarna. *A review on synthetic hetrocyclic compounds in agricultural and other applications*. [online]. International Journal of PharmTech Reserach 2015. Vol. 8, No. 8, pp 170-179. [cit 2024-01-25]. ISSN 0974-4304
- [39] Xerces Society. *Understanding Neonicotinoids*. [online]. Portland, © 2006-2023 The Xerces Society. [cit 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.xerces.org/pesticides/understanding-neonicotinoids>
- [40] ENSLEY, Steve. *Veterinary Toxicology (Third Edition), Chapter 40 – Neonicotinoids*. [online]. 2018, Academic Press. ISBN 9780128114100. Dostupné z DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00040-4>
- [41] U.S. Environmental Protection Agency. *Registration Review of Pyrethrins and Pyrethroids*. [online]. Washington, EPA. [cit 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/registration-review-pyrethrins-and-pyrethroids>
- [42] FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. *Search Fungicide to find FRAC Recommendations*. [online]. FRAC. [cit 2024-01-25]. Dostupné z: <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-fungicide-common-name>
- [43] HERBICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. *2024 HRAC GLOBAL HERBICIDE MOA CLASSIFICATION*. [online]. © 2024 HRAC. [cit 2024-01-25] Dostupné z: <https://hracglobal.com/tools/2024-hrac-global-herbicide-moa-classification>
- [44] Insecticide Resistance Action Committee. *THE IRAC MODE OF ACTION CLASSIFICATION ONLINE*. [online]. © 2024 IRAC INTERNATIONAL. [cit 2024-01-25]. Dostupné z: <https://irac-online.org/mode-of-action/classification-online/>

- [45] PROKOP, Martin. Přípravky na ochranu rostlin. [online]. 2017, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. © 2020 Agromanual. [cit 2024-01-26] Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/pripravky-na-ochranu-rostlin>
- [46] SLOVÁKOVÁ, Klára. *Pesticidy: Jak špatné jsou pro nás tyto chemikálie?* [online]. Krnov, © 2024 TANECO. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://www.taneco.cz/blog/clanky/pesticidy-jak-%C5%A1patn%C3%A9-jsou-pro-n%C3%A1s-tyto-chemik%C3%A1lie/>
- [47] KRUPKOVÁ, Olga. *Stanovení obsahu reziduí pesticidů u vybraných peckovin se zaměřením na dithiokarbamáty.* [online]. Pardubice, 2018. [cit 2024-01-28]. *Práce ve formátu PDF.* Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/71600> Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Ústav environmentálního a chemického inženýrství. Vedoucí práce Ing. Dr. KOŘÍNKOVÁ, Jaroslava
- [48] MENDELU. *Podmínky pro vznik nežádoucích účinků pesticidů.* [online]. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta. *E-learningový portál.* [cit 2024-01-28]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_sklad/frvs/hrudova/index_soubory/Page3870.htm
- [49] SCHREIEROVÁ, Kateřina. *Vliv pesticidů na naše zdraví.* [online]. © 2024 TERAPIE VÝŽIVOU. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://www.terapievyzivou.cz/2016/02/17/vliv-pesticidu-na-nase-zdravi/>
- [50] Projekt TOX-OER. *Environmental Pollutants – Pesticides II. Toxicology Issues (2 ECTS), Kapitola 4.5.4.* [online]. Salamanca, 2018. TOX-OER. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <http://moodle.toxoer.com/mod/imsdp/view.php?id=3228>
- [51] AMANATIDIS, Georgios a CURMEI, Maria-Mirela. *Chemické látky a pesticidy.* [online]. Evropský parlament – Fakta a čísla o Evropské unii. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://www.europarl.europa.eu/factsheets/cs/sheet/78/chemicals-and-pesticides>
- [52] Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Maximum Residue Limits.* [online] Řím, © 2024 FAO. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://www.fao.org/pesticide-registration-toolkit/information-sources/maximum-residue-limits/en/>
- [53] Zpravodajství Evropského parlamentu. *Nahradit nebezpečné pesticidy biologickými alternativami.* [online]. 2017, Evropský parlament – Zpravodajství, Ekonomika. Dostupné z odkazu: 20170127STO60016

- [54] KUTHAN, Aleš. *Biopesticidy u nás a ve světě*. [online]. Trubská 2017, © 2020 Agromanual. [cit 2024-01-28] Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/biopesticidy-u-nas-a-ve-svete>
- [55] ALS Life Sciences. *ANALYTICAL METHODS FOR PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS*. [online]. © 2013 ALS Europe. [cit 2024-01-26]. Dostupné z: <https://www.alsglobal.eu/specialities/pesticides-testing/analytical-methods-for-pesticide-residue-analysis>
- [56] Pragolab. *QuEChERS (HyperSep Dispersive SPE)*. [online]. Praha, © 2023 Pragolab. [cit. 2024-01-26]. Dostupné z: <https://www.pragolab.cz/chromatografie-a-ms/spotrebni-material/priprava-vzorku/quechers-hypersep-dispersive-spe>
- [57] Thermo Fisher Scientific. *QuEChERS Sample Preparation Kits – Reproducible results, excellent recoveries*. [online]. © 2006-2024 Thermo Fisher Scientific Inc. [cit 2024-01-26]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/industrial/chromatography/chromatography-sample-preparation/sample-preparation-consumables/quechers-kits.html#menu6>
- [58] SOČKAŘI. *Vliv laických úprav na hladiny pesticidů na ovoci a zelenině*. [online]. Brno, © 2023 JCMM. [cit 2023-12-06]. Dostupné z: <https://sockari.cz/en/supervisors/topics?tema=6378174178666878487575128>
- [59] U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central, 2019. *Grapes, red or green (European type, such as Thompson seedless), raw*. [online]. [cit. 2023-12-05]. Dostupné z: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/174683/nutrients>
- [60] ONQUE, R. *2023's 'Dirty Dozen': The 12 fruits and vegetables with the most pesticides —and 4 tips for enjoying them safely*. [online]. New Jersey, © 2023 CNBC LLC. [cit. 2023-12-06]. Dostupné z: <https://www.cnbc.com/2023/03/29/dirty-dozen-2023-12-fruits-andvegetables-with-the-most-pesticides.html>
- [61] ROSANE, O. *'Dirty Dozen' and 'Clean Fifteen' Lists for 2022: Conventional Produce With the Most and Least Pesticides*. [online]. Ohio, © 2023 EcoWatch. [cit. 2023-12-06]. Dostupné z: <https://www.ecowatch.com/dirty-dozen-2022-pesticides-vegetables-fruits.html>
- [62] Food and Agriculture Organization of the United Nations. *FAOSTAT Crops and livestock products*. [online]. Řím, © 2023 FAO. [cit. 2023-12-27]. Dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>

- [63] CROP SCIENCE BAYER. *Etikety a bezpečnostní listy LUNA EXPERIENCE*. [online]. Praha, © 2022 Bayer s.r.o. [cit 2024-01-07]. *Katalog ve formátu PDF*. Dostupné z: https://www.cropscience.bayer.cz/ceskarepublika/produkty/product-detail-page.label.html/fungicides/luna_experience
- [64] ALMÁSYOVÁ, Lucie. *5 způsobů, jak se zbavit pesticidů v ovoci a zelenině*. [online]. Praha, © 2019 Zdravý Čech. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://zdravycech.cz/obchodni-podminky-a-uzivani-webu/>
- [65] SVOBODOVÁ, Marie, VINŠOVÁ, Světluše a VINŠOVÁ, Nina. *Mytí ovoce v hypermanganu*. [online]. Praha, © 2012–2024 NetConsulting. Česká ordinace – rodinná encyklopedie zdraví. [cit 2024-01-28]. Dostupné z: <https://tema.ceskaordinace.cz/tema-myti-ovoce-v-hypermanganu-60678.html>
- [66] HONZA, Jaroslav a MAREČEK, Aleš. *Chemie pro čtyřletá gymnázia – 1. díl*. 3. opravené vydání. Brno: Proton, dotisk 2013. s. 134-135. ISBN 978-80-902402-0-9.
- [67] HONZA, Jaroslav a MAREČEK, Aleš. *Chemie pro čtyřletá gymnázia – 3. díl*. 2. opravené vydání. Brno: Proton, 2014. s. 59. ISBN 978-80-902402-6-1.
- [68] HONZA, Jaroslav a MAREČEK, Aleš. *Chemie pro čtyřletá gymnázia – 2. díl*. 4. opravené vydání. Brno: Proton, 2014. s. 57. ISBN 978-80-902402-5-4.
- [69] CHUNG, Stephen. *How effective are common household preparations on removing pesticide residues from fruit and vegetables? A review*. [online]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017. Wiley Online Library, 2018. [cit 2024-01-25] Dostupné z DOI: 10.1002/jsfa.8821
- [70] WEINANDY, Liz. *How important is it to wash fruits and vegetables before eating?* [online]. Ohio, © 2024 The Ohio State University Wexner Medical Center. [cit 2024-01-08]. Dostupné z: <https://wexnermedical.osu.edu/blog/washing-fruits-vegetables>
- [71] BHILWADIKAR, Tanmayee, POUNRAJ, Saranya, MANIVANNAN, S., RASTOGI, N. K. a NEGO, P. S. *Decontamination of Microorganisms and Pesticides from Fresh Fruits and Vegetables: A Comprehensive Review from Common Household Processes to Modern Techniques*. [online]. © 2019, Institute of Food Technologists. [cit 2024-01-25] Dostupné z DOI: 10.1111/1541-4337.12453
- [72] WILLHITE, CC., BHAT, VS., BALL, GL. a MCLELLAN, CJ. *Emergency Do Not Consume/Do Not Use concentrations for potassium permanganate in drinking water*. [online]. © 2013. [cit 2024-01-26]. Dostupné z DOI: 10.1177/0960327112456316

- [73] ACOGLU, P. a OMEROGLU, P. Yolci. *Effectiveness of different type of washing agents on reduction of pesticide residues in orange (Citrus sinensis)*. [online]. Turecko, © 2021 Elsevier, Bursa Uludag University. [cit 2024-01-26]. Dostupné z DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111690.
- [74] ÚŘEDNÍ VĚŠTNÍK EVROPSKÉ UNIE. *Narizení Komise (EU) 2018/1514 ze dne 10. října 2018, kterým se mění přílohy II, III a IV narizení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, pokud jde o maximální limity reziduí pro abamektin, acibenzolar-S-methyl, klopuralid, emamektin, fenhexamid, fenpyrazamin, fluazifop-P, isofetamid, Pasteuria nishizawae Pn1, talek E553B a tebukonazol v některých produktech a na jejich povrchu (Text s významem pro EHP.)* – Dokument 32018R1514. [online]. 2018. [cit 2024-01-27]. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L_.2018.256.01.0008.01.CES&toc=OJ%3AL%3A2018%3A256%3AFULL
- [75] DONG, Bizhang. *A comprehensive review on toxicological mechanism and transformation products of tebuconazole: Insights on pesticide management*. [online]. Čína, © 2024 Elsevier, Universit of Science and Technology Beijing. Science of the Total Environment. [cit 2024-01-27]. Dostupné z DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.168264

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: <i>Kyselina chryzantémová</i>	14
Obr. č. 2: <i>Kyselina pyrethrová</i>	14
Obr. č. 3: <i>Pyrethrin I</i>	14
Obr. č. 4: <i>Cinerin I</i>	14
Obr. č. 5: <i>Jasmolin I</i>	14
Obr. č. 6: <i>Pyrethrin II</i>	14
Obr. č. 7: <i>Cinerin II</i>	14
Obr. č. 8: <i>Jasmolin II</i>	14
Obr. č. 9: <i>Struktura DDT</i>	15
Obr. č. 10: <i>Struktura HCB</i>	15
Obr. č. 11: <i>Struktura glyfosátu</i>	16
Obr. č. 12: <i>Klasifikace pesticidů podle působení na cílené škůdce</i>	18
Obr. č. 13: <i>Struktura DDT (insekticid)</i>	20
Obr. č. 14: <i>Struktura TCDD (herbicid)</i>	20
Obr. č. 15: <i>Struktura aldrinu (insekticid)</i>	20
Obr. č. 16: <i>Struktura pikloramu (herbicid)</i>	21
Obr. č. 17: <i>Struktura hexazinonu (herbicid)</i>	21
Obr. č. 18: <i>Struktura triadimefonu (fungicid)</i>	21
Obr. č. 19: <i>Struktura chlorpyrifosu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 20: <i>Struktura parathionu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 21: <i>Struktura glyfosátu (herbicid)</i>	21
Obr. č. 22: <i>Struktura karbarylů (insekticid)</i>	21
Obr. č. 23: <i>Struktura oxamylu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 24: <i>Struktura karbofuranu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 25: <i>Struktura imidaklopridu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 26: <i>Struktura klothianidinu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 27: <i>Struktura acetamipridu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 28: <i>Struktura deltamethrinu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 29: <i>Struktura fenothrinu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 30: <i>Struktura tetramethrinu (insekticid)</i>	21
Obr. č. 31: <i>Struktura fluopyramu (vlevo) a tebukonazolu (vpravo)</i>	29

Obr. č. 32: <i>Složení směsí pro extrakci a čištění</i>	34
Obr. č. 33: <i>Provádění laických úprav</i>	36
Obr. č. 34: <i>Začátek rozdělování (před centrifugou)</i>	37
Obr. č. 35: <i>Konec rozdělování (po centrifuze)</i>	37
Obr. č. 36: <i>Odpařování vzorku pod proudem dusíku v koncentrátoru</i>	38

10 SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1: <i>Struktury esterů kyseliny chryzantémové (skupina I) a pyrethrové (skupina II)</i>	14
Tab. č. 2: <i>Klasifikace aktivních složek chemických pesticidů podle chemického složení</i>	20
Tab. č. 3: <i>Přehled vzorků a zvolených laických úprav, včetně jejich upřesnění</i>	30
Tab. č. 4: <i>Seznam použitých chemikálií a jejich aplikace při stanovení</i>	32
Tab. č. 5: <i>Skutečné koncentrace chemických látek v roztocích pro laické úpravy</i>	36
Tab. č. 6: <i>Parametry gradientu mobilní fáze</i>	40
Tab. č. 7: <i>Rozdělení laických úprav podle efektivity do kategorií A,B,C</i>	42
Tab. č. 8: <i>Kompletní data analýzy zbytkové hladiny tebukonazolu na povrchu hroznů</i>	43

11 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Katalog přípravku Luna Experience (© 2022 Bayer Crop Science, ČR)

Luna[®] Experience

Účinné látky

fluopyram 200 g/l
tebuconazole 200 g/l

Fungicidní přípravek ve formě suspenzního koncentrátu k foliární ochraně révy vinné, jabloň, hrušně, višně, třešně, broskvoně, slivoně, meruňky a zeleniny proti houbovým chorobám.

Balení a hmotnost

HDPE láhev 1 l

Působení přípravku

Luna[®] Experience obsahuje dvě účinné látky fluopyram a tebuconazole s odlišným mechanismem účinku. Fluopyram je širokospektrální systémově působící fungicidní účinná látka. Způsobem účinku je řazena mezi SDH inhibitory (FRAC skupina C 2), působí na dýchací procesy. Inhibuje růst klíčících vláken a etablování haustorií. Tebuconazole je širokospektrální systémově působící fungicidní účinná látka. Způsobem účinku je řazena mezi inhibitory demethylace ergosterolů (DMI), (FRAC skupina G 1). Inhibuje klíčění spor a blokuje růst mycelia houbových patogenů.

Doporučení pro aplikaci

Réva vinná

Přípravek je určen k ochraně proti padlí révovému a bílé hnilobě hroznů révy. Aplikaci je třeba provádět zásadně preventivně, optimálně s využitím prognózy a signalizace výskytu chorob. Výhodou je široké aplikační okno zahrnující období od vývojové fáze 6 listů (BBCH 57) až do období bobulí velikosti broku (BBCH 73). V závislosti na infekčním tlaku chorob doporučujeme interval mezi ošetřeními v rozpětí 10–12 dnů. Při silném infekčním tlaku chorob není vhodné překročit interval 10 dnů mezi aplikacemi.

Jabloň, hrušně

Fungicid Luna[®] Experience je možné využít jak k ochraně proti padlí jabloňovému, strupovitosti a nektriové rakovině, tak také proti původcům skládkových chorob. Aplikuje se zásadně preventivně, optimálně s využitím prognózy a signalizace výskytu chorob. Dávkování proti všem zaregistrovaným chorobám je stanoveno na 0,25 l/ha/m výšky koruny (max. 0,75 l/ha). Jestliže se ošetření provádí na výsadbě s výškou koruny 3 m a s tím související max. dávkou 0,75 l/ha, je možná pouze jedna aplikace během sezóny. U poros-



tů s výškou koruny 2 m a dávkou přípravku 0,5 l/ha, jsou povoleny dvě aplikace během sezóny. V závislosti na infekčním tlaku chorob doporučujeme interval mezi ošetřeními v rozmezí 10–14 dnů. Za situace silného infekčního tlaku chorob není vhodné překročit interval 10 dnů mezi aplikacemi.

U skládkových chorob jaderovin byla účinnost přípravku ověřena proti moniliové hnilobě, šedé hnilobě, hořké (gloeosporiové) hnilobě, peniciliové (modré) hnilobě, alternáriové hnilobě a skládkové strupovitosti.

Třešeň, višně, slivoň

Luna[®] Experience poskytuje ochranu proti moniliové spále, moniliové hnilobě, skvrnitosti listů třešně a koletotrichové hnilobě třešně. Aplikuje se zásadně preventivně, optimálně s využitím prognózy a signalizace výskytu chorob. Při zaregistrované dávce 0,2 l/ha/m výšky koruny je možná pouze jedna aplikace během sezóny za předpokladu ošetřování 3 m olistěné koruny a dávce 0,6 l/ha. Je-li aplikace prováděna na méně vzrostlý porost s výškou koruny 2 m a dávkou 0,4 l/ha jsou možné dvě aplikace ročně.

Meruňka

Za povětrnostních podmínek předpokládajících výskyt moniliového úžehu se ošetřuje v době počátku kvetení nebo dokvétání. Proti moniliové hnilobě plodů je možné přípravek použít od počátku zrání až do období těsně před sklizní při respektování ochranné lhůty. Aplikuje se zásadně preventivně s využitím prognózy a signalizace výskytu chorob.

Antirezistentní prevence

Pro předcházení vzniku rezistence nedoporučujeme aplikovat přípravek Luna[®] Experience nebo jiný, který obsahuje účinnou látku typu karboxamidu nebo benzamidu ze skupiny SDHI (např. bixafen,



LUNA[®] EXPERIENCE

201

Luna® Experience

boscalid, carboxin, fluopyram, isopyrazam) vícekrát než 3x za vegetační sezónu. Obdobně není vhodné aplikovat přípravky této skupiny vícekrát než 2x bezprostředně po sobě, poté přerušete sled ošetření přípravkem s odlišným mechanismem působení. Fungicidy obsahující účinné látky ze skupiny SDHI nepoužívejte jinak než preventivně nebo co nejdříve na počátku výskytu choroby.

Mísitelnost

Přípravek Luna® Experience je možné pro rozšíření spektra účinnosti o plíseň révy kombinovat s fungicidy Defender® Dry, Cassiopee® 79 WG, Profiler® nebo Melody® combi 65,3 WG. Příprava směsi s fungicidem Cassiopee® 79 WG nebo Profiler® vyžaduje respektování pořadí přípravků umístovaných do nádrže postřikovače. První se vlévá Luna® Experience a po řádném promíchání

následuje vsypání přípravku Cassiopee® 79 WG nebo Profiler®. Míchadlo přitom zůstává neustále v činnosti včetně následného přejezdu na pozemek a doby vlastní aplikace. Při přípravě směsi přípravků je zakázáno mísit jejich koncentráty a přípravky se vpravují do nádrže odděleně.

Integrovaná produkce

Při dodržení uvedených aplikačních dávek a aplikačních podmínek může být přípravek Luna® Experience použit v integrovaných systémech ochrany rostlin za současného respektování aktuálních pravidel systému IP.

Luna® Experience nevykazuje v případě révy vinné jakýkoliv negativní vliv na množství cukrů, kyselin a průběh kvašení.

Návod k použití

Plodina	Škodlivý organizmus	Dávka na ha	OL (dny)	Poznámka
Réva vinná	Padlí révové, bílá hniloba hroznů révy	0,375 l	14	BBCH 57–73 max. 2x za rok
Jabloň, hrušeň	Padlí jabloňové, strupovitost, nektriová rakovina, skládkové choroby jaderovin	0,25 l/1 m výšky koruny (0,5–0,75 l/ha)	14	Max. 1x za rok při výšce koruny 3 m a dávce 0,75 l/ha Max. 2x za rok při výšce koruny 2 m a dávce 0,5 l/ha
Třešeň, višně	Moniliová spála, moniliová hniloba, skvrnitost listů třešně, koletotrichová hniloba třešně	0,2 l/1 m výšky koruny (0,4–0,6 l/ha)	7	Max. 1x za rok při výšce koruny 3 m a dávce 0,6 l/ha Max. 2x za rok při výšce koruny 2 m a dávce 0,4 l/ha
Slivoň	Moniliová hniloba, skvrnitost listů peckovin	0,2 l/1 m výšky koruny (0,4–0,6 l/ha)	7	Max. 1x za rok při výšce koruny 3 m a dávce 0,6 l/ha Max. 2x za rok při výšce koruny 2 m a dávce 0,4 l/ha
Broskvoň (vč. nektarinky)	Moniliová hniloba	0,25 l/1 m výšky koruny (0,5 l/ha)	7	Max. 2x za rok při výšce koruny 2 m a dávce 0,5 l/ha
Meruňka	Moniliová spála, moniliová hniloba plodů	0,25 l/1 m výšky koruny (0,5–0,75 l/ha)	3	Max. 1x za rok při výšce koruny 3 m a dávce 0,75 l/ha Max. 2x za rok při výšce koruny 2 m a dávce 0,5 l/ha

Menšíkové použití přípravku povolené dle čl. 51 odst. 2 nařízení EP a Rady (ES) č.1107/2009

Plodina	Škodlivý organizmus	Dávka na ha	OL (dny)	Poznámka
Cibule	Alternariová skvrnitost cibule, rez cibulová, botryotiniová skvrnitost listů cibule	0,5 l/ha	7	BBCH 20–49
Pór	Alternariová skvrnitost póru, rez cibulová	0,75 l/ha	21	
Mrkev	Suchá skvrnitost listů mrkve, padlí miříkovitých	0,6 l/ha	14	
Petržel	Padlí miříkovitých	0,6 l/ha	14	
Zelí hlávkové, květák, kapusta růžičková	Alternariová skvrnitost brukvovitých, kroužkovitá skvrnitost brukvovitých	0,75 l/ha	14	

