

Chemie a životní prostředí

Říjnové číslo našeho časopisu je již tradičně zaměřeno na problematiku životního prostředí a na roli chemických věd v této oblasti. Smutnou skutečností zůstává, že chemie je v této souvislosti spíše odsuzována a označována za faktor poškozující naše životní prostředí a pozitivní role chemie a chemického výzkumu v této oblasti není dostatečně zdůrazňována. I proto se Česká společnost chemická i Asociace českých chemických společností v těsné spolupráci s Ministerstvem životního prostředí ČR snaží zdůrazňovat pozitivní přínos chemických věd v této oblasti. Ten lze spatřovat zejména v oblasti objektivního a detailního studia dopadu nejrůznějších typů chemických látek na životní prostředí a na lidské zdraví, v oblasti monitorování výskytu škodlivých látek v životním prostředí a v oblasti vývoje a praktické realizace opatření snižujících výskyt antropogenních škodlivých látek v našem životním prostředí. Pokrok ve všech těchto oblastech je neodmyslitelně spojen s pokrokem v oblasti chemických i dalších přírodních věd, s ochotou společnosti investovat do této oblasti potřebné prostředky

i s jejich co nejefektivnějším využitím. V každém případě se jedná o problematiku, která by měla stát – a také skutečně stojí – v popředí zájmu chemického výzkumu. Převádění poznatků z této oblasti do praxe a jejich konkrétní uplatňování při zlepšování nepříliš utěšeného stavu našeho životního prostředí vyžaduje nepochybně kvalitní, jednoznačnou, účinnou a prakticky uplatňovatelnou legislativu. To je důvod, proč jsme se po dohodě se zástupci Ministerstva životního prostředí ČR, kterému tímto děkujeme za jeho účinnou materiální, organizační i odbornou pomoc a podporu při přípravě tohoto čísla, rozhodli zařadit do letošního říjnového čísla řadu článků z této oblasti. Problematiku vztahu chemie, chemických věd a chemického výzkumu a životního prostředí považuje redakce našeho časopisu za natolik významnou, že se jí i nadále budeme věnovat zcela pravidelně a systematicky nikoliv jenom v rámci tohoto zvláštního čísla.

Jiří Barek

CHEMICKÁ LEGISLATIVA ČESKÉ REPUBLIKY V MEZINÁRODNÍCH SOUVISLOSTECH

KAREL BLÁHA

Odbor environmentálních rizik, Ministerstvo životního prostředí ČR, Vršovická 65, 100 10 Praha 10

Došlo dne 1.VII. 2000

Klíčová slova: chemická legislativa, zákon o chemických látkách a přípravcích, zákon o prevenci závažných průmyslových havárií

Zákon č. 157/1998 Sb. o chemických látkách a chemických přípravcích, který nabyl účinnosti 1. ledna 1999, byl v zemích střední a východní Evropy první právní úpravou, která pojednala nakládání s chemickými látkami a přípravky v celé šíři a která ve značném rozsahu transponovala právo Evropské unie. Po nabytí účinnosti zákona se ozvaly kritické hlasy, které slovy klasika vyjadřovaly názor „... o tak uchvátané prvenství není co stát“. Objektivně řečeno, zákon vykazoval řadu nedostatků, které bylo nutno co nejrychleji odstranit. Stalo se tak zákonem č. 352/1999 Sb., který vstoupil v platnost 1. ledna letošního roku. Přesto nelze říci, že tím je problém chemického zákona definitivně vyřešen. V legislativním plánu práce vlády je již zařazen termín pro přípravu „nového“ chemického zákona, který by měl nabýt účinnosti 1. ledna 2003 a jehož příprava je zakotvena i v implementačním plánu pro oblast G – stěžejním dokumentu pro vstup ČR do Evropské unie.

Slovo „nového“ je v uvozovkách záměrně. Pevně doufám, že rozptýlí hrůzu u těch, kteří se s povinnostmi uloženými zákonem musí téměř dva roky vyrovnávat. V žádném případě se nebude jednat o změny zásadního charakteru, nebudeme vedeni snahou měnit základní filozofii zákona sotva se podařílo „zažít“ ten současný. Prvním důvodem k přípravě novely je fakt, že pouze praktické zkušenosti s naplňováním zákona mohou odhalit nedostatky a nepřesnosti jeho mechanismů. Druhým důvodem je pak skutečnost, že legislativa v oblasti chemických látek je dynamickým procesem, který přináší neustálé změny. Jakkoliv existence 13 prováděcích předpisů dává poměrně značnou flexibilitu a možnost pružně reagovat, dosavadní praxe ukazuje, že se často jedná spíše o přání.

V letošním roce jsme se zaměřili na novelizaci zejména těch prováděcích předpisů, které doznaly na mezinárodní scéně podstatných změn a které musely být prakticky okamžitě realizovány, aby ČR dostala mezinárodním závazkům. Jedná se konkrétně o novely vyhlášek MŽP č. 301/1998 Sb. a 302/1998 Sb, jejichž návrhy jsou v době přípravy tohoto textu předmětem meziresortního připomínkového řízení. Úpravy těchto předpisů byly nezbytné jednak z pohledu Úmluvy o uplatňování postupu předběžného souhlasu (PIC Convention), která byla ratifikována koncem května tohoto roku, jednak s ohledem na připravovanou globální úmluvu o persistentních organických polutantech (POPs Convention). Nelze říci, že novely ostatních vyhlášek a zejména nařízení vlády

č. 25/1999 Sb, upravující klasifikaci chemických látek a přípravků, nejsou urgentní. Je tomu právě naopak a lze říci, že právě klasifikace je předmětem nejintenzivnějších mezinárodních aktivit. Podrobnější pohled na problémy související s klasifikací poskytne jeden z dalších příspěvků. Podívejme se nyní stručně na nejdůležitější prvky mezinárodní spolupráce, kterými je oblast chemické legislativy ovlivňována. V zájmu únosné délky příspěvku zde samozřejmě nebudou zmíněny všechny. Pořadí, v jakém budou uvedeny, není vedeno snahou o zdůraznění jejich významu.

Zdá se však nezbytné uvést na prvním místě aproximaci práva EU – základní předpoklad pro vstup. Tento proces byl zahájen na začátku roku 1999 prvním kolem tzv. screeningu – zjištění stavu legislativy v dané oblasti – a pokračoval formulací aproximační strategie – časového harmonogramu transpozice práva EU. Začátkem letošního roku byla zahájena příprava implementačního plánu, tj. naplňování povinností ukládaných zákonem. Tento plán byl předložen Evropské komisi koncem prvního pololetí a stav jeho realizace bude ještě v letošním roce prověřen druhým kolem screeningu. Pro oblast G (chemické látky) nejsou vyjednávána žádná přechodná období. Zdálo by se, že chemická legislativa nepředstavuje při přípravě vstupu žádný problém. Toto konstatování by bylo hrubým zjednodušením. Bez ohledu na skutečnost, že Evropská komise nevyžaduje okamžitou transpozici všech změn přijatých k jednotlivým směrnici, bude v našem zájmu tento proces maximálně zrychlit a zkvalitnit.

Další významnou oblastí spolupráce na poli chemické legislativy je OECD. ČR, která je členem této mezinárodní organizace od r. 1995, je povinna implementovat rozhodnutí Rady (Council Acts) a stav implementace pravidelně dokládat na společných zasedáních Chemického programu. Na 30. společném zasedání Chemického programu OECD, konaném letos v únoru v Paříži, bylo konstatováno, že úroveň implementace rozhodnutí Rady je vysoká. Předsednictvo nepovažuje za nezbytné, aby ČR nadále společnému zasedání předkládala zprávu povinně, nýbrž pouze pokud to uzná za vhodné. Ocenění zajisté lichotivé, nicméně i v implementaci výše zmíněných rozhodnutí jsou rezervy. Zmíňme zejména otázku zavedení Registru výstupů a přenosů znečišťujících látek (PRTR). Těto problematice bylo sice věnováno mnoho úsilí, ale žádoucí výsledek zatím dosažen nebyl. Lze však bez nadsázky konstatovat, že aktivní účast delegátů ČR v jednotlivých odborných skupinách Chemického programu je jednoznačným přínosem k další práci na chemické legislativě.

Mezivládní fórum chemické bezpečnosti (Intergovernmental Forum on Chemical Safety – IFCS) je v současné době nejširší platformou pro oblast nakládání s chemickými látkami a přípravky. Kromě vládních delegací se činnosti IFCS účastní řada mezivládních organizací (OECD, UNEP, WHO, FAO, ILO), mezinárodních nevládních organizací (WWF, Greenpeace) a nejrůznějších profesních svazů soukromého sektoru (CEFIC, BIAC). ČR zde hraje od prvního plenárního zasedání (Stockholm, duben 1994) aktivní úlohu. Na druhém zasedání v r. 1997 byl zástupce ČR zvolen členem Řídícího výboru

(Forum Standing Committee) a ve spolupráci s viceprezidentem pro střední a východní Evropu přispěl k uspořádání dvou regionálních zasedání Fóra v září 1998 a v květnu 2000. Právě na druhém zasedání byl bilancován současný stav chemické legislativy v regionu a přítomné delegace jednoznačně ocenily možnost využití zkušeností ČR při přípravě vlastních právních úprav. V říjnu 2000 proběhne třetí plenární zasedání IFCS, na kterém bude delegace ČR prosazovat návrhy na zvýšení efektivity spolupráce v jednotlivých programových oblastech této platformy. Podrobnou zprávu o průběhu zasedání podáme v jednom z příštích čísel Chemických listů.

ČR aktivně participuje v řadě dalších mezinárodních aktivit. Zmíňme spolupráci s UNEP Chemicals – dlouhouleté zapojení v Mezinárodním programu chemické bezpečnosti, příprava globálního právně závazného dokumentu o eliminaci persistentních organických polutantů – a členství v Evropské hospodářské komisi OSN. Podrobnosti o těchto programech by přesáhly rámec tohoto příspěvku a účelnější bude, když o nich budou informovat samostatné články.

Je třeba si uvědomit, že zákon č. 352/1999 Sb. o chemických látkách a chemických přípravcích není jedinou právní úpravou v oblasti chemické legislativy. 29. ledna 2000 nabyl účinnosti zákon č. 353/1999 Sb. o prevenci závažných průmyslových havárií. Tento zákon je důslednou transpozicí směrnice 96/82/EC známé pod názvem Seveso II a hraje

v mezinárodním kontextu velmi významnou roli. Nabytí účinnosti zákona vytvořilo podmínky pro ratifikaci úmluvy o účinných průmyslových haváriích přesahujících hranice států v květnu letošního roku. Na 3. zasedání Výboru orgánů zodpovědných za implementaci směrnice 96/82/EC v Lisabonu letos v květnu bylo konstatováno, že v šesti členských zemích směrnice dosud nebyla transponována. Dosažení transpozice v ČR není zanedbatelným úspěchem, což přítomní zástupci Direkto-rátu Evropské komise pro životní prostředí patřičně ocenili. Za zmínku také stojí skutečnost, že ostatní země vyjednávací vstup do EU tuto právní úpravu teprve připravují a o zkušenosti z ČR je velký zájem. Existence zákona pochopitelně negarantuje kvalitní implementaci, budeme proto využívat každé možnosti k výměně zkušeností s aplikací zákona, především z průmyslového sektoru.

Zákon o podmínkách uvádění biocidních přípravků na trh, transponující směrnici 98/8/ES bude dalším prvkem chemické legislativy. Věcný záměr zákona je v době přípravy tohoto článku předkládán vládě a podle legislativního plánu práce vlády by zákon měl nabýt účinnosti 1. ledna 2002.

Závěrem je třeba znovu zdůraznit, že tvorba a aktualizace právních úprav v oblasti chemických látek je velmi dynamický proces, který není myslitelný bez široké mezinárodní spolupráce. ČR tuto cestu nastoupila a hodlá v ní důsledně pokračovat.

HODNOCENÍ NEBEZPEČNOSTI CHEMICKÝCH LÁTEK V RÁMCI ORGANIZACE PRO HOSPODÁŘSKOU SPOLUPRÁCI A ROZVOJ (OECD)

JOSEF HASA

Odbor environmentálních rizik, Ministerstvo životního prostředí ČR, Vršovická 65, 100 10 Praha 10

Došlo dne 1.VII.2000

Klíčová slova: chemické látky, nebezpečnost

Historie

Na základě rozhodnutí Rady OECD z r. 1990 bylo zahájeno hodnocení nebezpečnosti chemických látek vyráběných ve velkých objemech (HPV Chemicals). Za takové chemické látky se považují látky vyráběné v množství vyšším než 1000 t/rok v jedné členské zemi nebo v rámci Evropské unie. Podle tohoto rozhodnutí mají členské země spolupracovat:

- při výběru chemických látek pro hodnocení nebezpečnosti,
- při shromažďování charakteristik a informací o účincích vybraných chemických látek a údajů o jejich expozici,
- při zkoušení chemických látek prováděném za účelem doplnění chybějících údajů,
- při zpracování výchozího hodnocení potenciální nebezpečnosti vybraných chemických látek.

Výsledkem hodnocení je zpráva, která uvádí potenciální nebezpečnost chemické látky pro lidské zdraví a životní prostředí dostatečně podrobně, aby bylo možno na jejím základě přijímat základní rozhodnutí o nakládání s danou látkou. Součástí hodnocení je rovněž doporučení, zda látka vyžaduje zvýšenou pozornost v budoucnosti, to znamená, zda jsou potřebné další údaje o expozici dané látky, zda jsou nutné její další zkoušky, apod. I v těchto následných činnostech členské státy navzájem spolupracují.

Současný stav

Na základě zkušeností získaných v průběhu prvních let spolupráce se nedávno přistoupilo k přehodnocení zaměření tohoto programu, především z důvodu zvýšení jeho efektivity. Důležitou úlohu v tomto přehodnocení hraje spolupráce s průmyslem.

Nově formulovaný program se skládá ze šesti segmentů:

- doplňování seznamu OECD chemických látek vyráběných ve velkých objemech (OECD HPV List),
- zdokonalení nástrojů pro výběr chemických látek z tohoto seznamu pro hodnocení nebezpečnosti,
- zkoušení chemických látek pro doplnění souboru údajů potřebných pro hodnocení,
- zaměření výchozího hodnocení na nebezpečnost chemických látek,
- koordinace činnosti následující po zpracování hodnocení,

- pilotní projekty Mezinárodního programu chemické bezpečnosti (International Programme on Chemical Safety – IPCS) ve spolupráci s OECD zaměřené na hodnocení rizika.

Činnost OECD se od r. 1999 soustřeďuje na prvé čtyři segmenty programu, tj. na výběr chemických látek, shromažďování údajů o nich, jejich zkoušení a hodnocení jejich nebezpečnosti. Podrobné hodnocení expozice, které bylo součástí původního programu, se nyní realizuje pouze u těch chemických látek, pro které to vyplynulo z výchozího hodnocení. Rovněž hodnocení rizika, které bylo součástí původního programu, se nyní uskutečňuje pouze u těch chemických látek, pro které bylo doporučeno v rámci výchozího hodnocení nebezpečnosti.

Jedním ze základních rysů programu spolupráce je sdílení nákladů na hodnocení chemických látek. Každá členská země se podílí na hodnocení určité části chemických látek a získává výsledky hodnocení ostatních zemí. Tím se zabráňuje duplicitám při hodnocení nebezpečnosti a zvláště při zkoušení chemických látek. Každá členská země si vybírá chemikálie pro hodnocení podle svých priorit a zhruba v poměru množství chemických látek, které vyrábí. Dosud bylo zahájeno hodnocení asi 400 chemických látek, z nichž je dokončena přibližně polovina.

Seznam látek OECD vyráběných ve velkých objemech (Seznam)

Seznam je vytvářen sekretariátem OECD podle údajů poskytovaných členskými státy OECD na základě národních seznamů nebezpečných látek. Poslední verze Seznamu je z r. 1997 a obsahuje 4 103 chemických látek. Další verze Seznamu bude vytvořena v tomto roce. Seznam je možno najít na internetové adrese <http://www.oecd.org/ehs/hpv.htm>.

Shromažďování údajů o chemických látkách

Východiskem pro hodnocení nebezpečnosti chemických látek je stanovení souboru údajů, na nichž bude toto hodnocení založeno. Tento základní soubor informací byl schválen OECD jako soubor údajů pro hodnocení (Screening Information Data Set – SIDS). Tento soubor obsahuje charakteristiky a údaje podobné těm, které jsou poskytovány při notifikaci nových chemických látek a dále základní údaje o expozici dané látky vycházející především z rozsahu a způsobu jejího použití. Tento soubor se považuje za minimální soubor údajů potřebných pro hodnocení nebezpečnosti.

Počáteční činností při provádění hodnocení je shromáždění údajů zahrnutých do SIDS. K tomu účelu se používají publikované údaje, jakož i dosud nepublikované údaje, které jsou ve vlastnictví průmyslových organizací. Ke shromažďování údajů standardním způsobem byl Evropskou komisí vyvinut počítačový formát HEDSET. Pokud pro určitý prvek SIDS nejsou k dispozici žádné údaje, používají se údaje z

skané na základě modelů, např. na základě kvantitativního vztahu struktury a aktivity (Quantitative Structure Activity Relationship – QSAR). V tomto případě je však třeba poskytnout informace o použité metodě. Kvalita údajů je velmi důležitým faktorem hodnocení, a proto této otázce věnuje OECD velkou pozornost. Jsou vypracovány speciální pokyny pro hodnocení kvality údajů a jejich adekvátnosti. V rámci obnoveného programu hodnocení bylo rozhodnuto zařadit do SIDS rovněž souhrny klíčových studií o vlastnostech dané látky, které poskytují podrobné informace o vlastnostech látky. Metodické materiály pro naplnění SIDS jsou k dispozici na internetové adrese: <http://www.oecd.org/ehs/hpv.htm>.

Pokud nejsou pro určitý prvek SIDS k dispozici žádné údaje nebo pokud jsou takové údaje nespolehlivé nebo neadekvátní, je nutno provést příslušné zkoušky dané chemické látky. Veškeré zkoušky se mají provádět metodami uvedenými ve Směrnici OECD pro zkoušení při dodržení zásad správné laboratorní praxe, aby se zabezpečilo uznání těchto zkoušek jinými členskými státy v souladu s rozhodnutím Rady OECD o vzájemném uznávání údajů z r. 1981. Příslušné podkladové materiály jsou k dispozici na internetové adrese uvedené v předchozím odstavci.

Soubory údajů SIDS a plány zkoušek byly na počátku programu posuzovány kontaktními místy SIDS ustavenými v členských zemích, aby se dosáhlo shody při hodnocení jejich kvality a adekvátnosti zkoušek. Na základě získaných zkušeností bylo od tohoto postupu upuštěno a odpovědnost za kvalitu údajů je plně na příslušné členské zemi provádějící hodnocení (sponzorská země).

Výchozí hodnocení nebezpečnosti

Jakmile jsou shromážděny všechny údaje SIDS, přistoupí se ke zpracování zprávy o výchozím hodnocení SIDS (SIDS Initial Assessment Report – SIAR). Při tom se může sponzorská země obrátit na kontaktní místa jiných členských zemí se žádostí o připomínky a doporučení k úplnosti SIDS. SIAR obsahuje podrobné údaje o potenciální nebezpečnosti hodnocené chemické látky a doporučení pro další činnost. Po dokončení je SIAR zaslán jednotlivým kontaktním místům k připomínkám. Tento proces probíhá obvykle elektronickou formou prostřednictvím internetu. Sekretariát OECD zasílá SIAR rovněž k posouzení externím konzultantům.

SIAR příslušné chemické látky se projednává na zasedání pracovní skupiny pro výchozí hodnocení SIDS (SIDS Initial Assessment Meeting – SIAM) za účasti zástupců sponzorské země, zástupců ostatních členských zemí a Evropské komise, expertů doporučených IPCS a průmyslovými svazy, zástupců společností vyrábějících danou chemickou látku a členů sekretariátu OECD. Na tomto zasedání se diskutuje výchozí hodnocení chemické látky včetně kvality shromážděných údajů a posuzují se navrhované závěry a doporučení. Výsledkem jednání je konsensuálně přijaté hodnocení nebezpečnosti látky s dohodnutými závěry a doporučeními.

V závěrech se uvádí:

- souhrn nebezpečných vlastností chemické látky uvedených s dostatečnou podrobností, aby mohly sloužit jednotlivým zemím k rozhodování,
- informace o expozici dané látce uváděné v kontextu s její nebezpečností.

Na základě schválených závěrů se přijímá doporučení, ve kterém se uvádí jedna z následujících možností:

- látka se nepovažuje za prioritní pro další činnost,
- látka je vzhledem k jejím potenciálním rizikům kandidátem pro další činnost.

Po zapracování připomínek podaných během připomínkového řízení a SIAM, je konečné znění SIAR spolu s plným zněním SIDS schváleno řídicími orgány OECD a postupně příslušné instituci Programu OSN pro životní prostředí (UNEP Chemicals) ke zveřejnění. Příslušné texty jsou rovněž prezentovány na adrese: <http://irptc.unep.ch/irptc/sids/sidspub.html>.

Aktivity po ukončení hodnocení

Pokud je v hodnotící zprávě SIAR přijato doporučení, že daná látka je kandidátem pro další činnost, je navrhovaná činnost v dalším období realizována. Typ činnosti závisí na doporučení; může to být shromažďování podrobnějších informací o expozici dané látce v regionálním nebo globálním měřítku, další podrobnější zkoušení látky nebo realizace opatření sloužících k omezení potenciálních negativních účinků dané látky. Tyto aktivity koordinuje sponzorská země a informuje o nich průběžně SIAM.

Účast průmyslu na hodnocení

Na výběru chemických látek pro hodnocení a na získávání příslušných údajů se podílel chemický průmysl členských zemí už v minulosti. V r. 1998 se tento podíl prohloubil na základě iniciativy vyvolané Mezinárodním výborem chemických svazů (International Council of Chemical Associations – ICCA). Na základě této iniciativy bylo rozhodnuto stanovit seznam 1000 prioritních chemických látek, především z hlediska jejich rozsáhlého používání nebo potenciálně vysoké expozice člověka. Členské organizace ICCA byly vyzvány shromáždit informace a provést výchozí hodnocení těchto látek do konce r. 2004. Tato iniciativa původně vznikla mimo rámec programu OECD, avšak postupně dochází k propojení obou aktivit. Předpokládá se, že průmyslové organizace budou předkládat shromážděné informace a výchozí hodnocení prostřednictvím členských států, aby se dosáhlo jednotné úrovně hodnocení. Podrobnosti o této iniciativě jsou uvedeny na internetové adrese <http://www.icca-chem.org/issues.htm>.

V minulosti byla za shromažďování údajů, kompletaci SIDS a zpracování výchozího hodnocení zodpovědná sponzorská země. V r. 1999 bylo rozhodnuto, že v případě, kdy SIAR zpracuje průmyslová organizace (např. výrobce látky), bude příslušná sponzorská země působit jako prostředník v hodnotícím procesu mezi touto organizací a OECD. Členské země mohou organizovat spolupráci s průmyslem podle vlastního uvážení, avšak tak, aby principy hodnocení požívané v OECD byly zachovány. Podrobný popis tohoto postupu, tj. shromažďování údajů, provádění zkoušek a zpracování hodnocení včetně příslušných zodpovědností, se stane součástí příslušné zprávy SIAR.

V r. 2000 byl schválen dvouletý pilotní projekt zaměřený na hodnocení kvality výsledků hodnocení prováděných průmyslem. Sponzorská země, která bude s průmyslem spolupracovat na hodnocení, má za úkol v daném období posoudit

zprávu SIAR připravenou průmyslem, včetně závěrů a doporučení, a postoupit ji sekretariátu pro distribuci ostatním kontaktním místům pro připomínky. Sponzorská země rovněž odpovídá za to, že budou připomínky uvedené během připomínkového řízení a během SIAM zohledněny při přípravě revidovaného znění zprávy SIAR. Cílem tohoto projektu je dosáhnout co nejdříve plné adekvátnosti hodnocení vypracovaných průmyslem.

Účast České republiky

V České republice dosud neexistuje seznam vyráběných nebo dovážených nebezpečných chemických látek. V souvis-

losti s přijatou právní úpravou (zákon č. 157/1998 Sb. a vyhláška MŽP č. 302/1998 Sb.) existuje oznamovací povinnost výrobců a dovozců nebezpečných chemických látek, na jejímž základě bude možno takový seznam zpracovat. Uvedený zákon rovněž stanoví povinnost zpracovat seznam prioritních látek, které budou předmětem hodnocení.

Účast České republiky v hodnotícím programu OECD vyplývá z členství v této organizaci. Předpokládá se, že ČR se zapojí do spolupráce při hodnocení po stanovení seznamu prioritních látek. Zástupci ČR se účastní jednání příslušných pracovních skupin pro hodnocení chemických látek a mají k dispozici příslušné metodické materiály. Kontaktním místem pro SIDS je Odbor environmentálních rizik Ministerstva životního prostředí (Ing. J. Hasa, CSc.).

OVĚŘOVÁNÍ DODRŽOVÁNÍ ZÁSAD SPRÁVNÉ LABORATORNÍ PRAXE A VÝHLEDY DO BUDOUCNOSTI

PETR FINGER^a, IVAN KORUNA^a
a KAREL BLÁHA^b

^aVýzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Národní inspekční orgán správné laboratorní praxe, Podbabská 30, 160 60 Praha 6, ^bMinisterstvo životního prostředí ČR, Vršovická 65, 100 10 Praha 10

Došlo dne 1.VII.2000

Klíčová slova: správná laboratorní praxe, národní program

Úvod

Správná laboratorní praxe (SLP) je mezinárodně dohodnutý systém zabezpečení a kontroly kvality, zahrnující organizování zkoušek a studií a podmínky, za nichž jsou neklinické studie plánovány, prováděny, monitorovány, zaznamenávány a archivovány. Vzhledem k členství České republiky v OECD a přípravám na vstup do EU je nezbytné, aby tento systém byl zaveden i zde a byl funkční.

Pro registraci chemických látek a chemických přípravků je podle zákona 157/1998 Sb. ve znění pozdějších předpisů vyžadováno hodnocení jejich bezpečnosti pouze v testovacích zařízeních se zavedeným a ověřeným systémem správné laboratorní praxe, tedy v zařízeních, která jsou zařazena do Národního programu SLP.

Správná laboratorní praxe je systém jakosti, který na rozdíl od systémů jako jsou ISO 9 000, ČSN EN 45 001 a dalších, je určený pouze pro jeden specifický obor. Pro mnohé laboratoře je to pojem zcela nový, velmi často zjednodušovaný na „něco jako akreditace“. Důsledkem nepochopení pak je, že o udělení osvědčení žádají (a to velmi kategoricky, avšak zbytečně) i laboratoře, které provádějí výhradně rutinní analýzy, které pod systém SLP nespádají.

Česká legislativa a národní program

Správná laboratorní praxe je pro oblast léčiv vyžadována zákonem 79/1997 Sb., pro oblast chemických látek zákonem 157/1998 Sb. a jeho úpravou 352/1999 Sb. Zásady správné laboratorní praxe určuje (pro oblast chemických látek) vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 305/1998 Sb. Národní program je vedle legislativy základní dokument, který vydávají Státní ústav pro kontrolu léčiv a Ministerstvo životního prostředí, a který popisuje organizaci, prvky postupů monitorování SLP, postupy při získávání osvědčení, zařazení do Národního programu a který rámcově určuje spolupráci obou inspekčních orgánů. Vytvořením společného Národního programu SLP došlo k částečné harmonizaci národních doznání legislativy. Není výjimkou, že je v jedné zemi více inspekčních orgánů, raritou však jsou dva zákony o správné labora-

torní praxi. Krok ke sjednocení legislativy Národním programem je proto Evropou hodnocen velmi pozitivně.

Inspekční orgány

V České republice jsou dva inspekční orgány: Oblast léčiv je řízena i monitorována Státním ústavem pro kontrolu léčiv, oblast chemických látek a chemických přípravků je řízena Ministerstvem životního prostředí, monitorování (ověřování dodržování zásad SLP) provádí ASLAB – Středisko pro posuzování způsobilosti laboratoří, které sídlí ve Výzkumném ústavu vodohospodářském T. G. Masaryka. Nezávislou částí ASLAB je Národní inspekční orgán SLP (NIO).

Vzhledem k tomu, že většina testovacích zařízení, u kterých je zavedení systému SLP vyžadováno, musí splňovat požadavky jak zákona o léčivech, tak zákona o chemických látkách, stanoví Národní program pro takováto zařízení jednu společnou kontrolu (inspekci) inspektory obou inspektorátů. Každý řídicí orgán (SÚKL i MŽP) vydává na základě kontroly vlastní osvědčení.

Postup udělování osvědčení

(pro oblast chemických látek a chemických přípravků)

Osvědčení o dodržování zásad SLP uděluje MŽP na návrh Národního inspekčního orgánu (NIO).

Osvědčení umožňuje držiteli provádět studie o bezpečnosti chemických látek a přípravků ve smyslu zákona 157/1998 Sb. Osvědčení dále umožňuje vzájemné uznání takto získaných dat členskými státy OECD.

Získání osvědčení o dodržování zásad SLP je podmíněno podáním přihlášky a splněním dalších podmínek uvedených ve vyhlášce (§ 2, odst. (1)–(3) vyhlášky 305/1998 Sb.).

Žádost podává fyzická nebo právnická osoba (žadatel) Ministerstvu životního prostředí.

Podání žádosti se řídí § 5, odst. (4) zákona 157/1998 Sb. ve znění pozdějších změn a dodatků a vyhláškou č. 305/1998 Sb.

Vlastní kontrola nebo audit studie se řídí metodickým pokynem Ministerstva životního prostředí, který je překladem závazné (pro členské státy OECD) směrnice pro provádění inspekci a auditů studií.

Podle Národního programu jsou rozlišovány tři kategorie kontrol a auditů studií:

- celková kontrola testovacího zařízení, která je prováděna vždy, když testovací zařízení žádá o vydání osvědčení SLP, v případě periodické kontroly, nebo na vyžádání či podnět,
- kontrola odstranění nedostatků, která slouží především k ověření, že byly odstraněny odchylky zjištěné při předchozí kontrole v případech, kdy byly klasifikovány jako závažné, které však nemají vliv na integritu studie, a
- audit studie, který je vždy součástí kontroly testovacího zařízení, a který může být prováděn i samostatně.

Výroky inspektorů o shodě se zásadami SLP jsou následující:

- splněno – žádné nebo malé odchylky;
- nerozhodnuto – závažné odchylky, které nemají vliv na celistvost a důvěryhodnost studie;
- nesplněno – závažné odchylky, které mají vliv na celistvost a důvěryhodnost studie;
- není možno stanovit – pouze v případě testovacího zařízení, které žádá o první kontrolu, ale jehož činnost je natolik omezená, že zjištění neumožňují vynést žádný z výše uvedených výroků.

NIO se řídí mimo platné legislativy vlastní dokumentací, která podrobně popisuje všechny související postupy (zacházení s dokumenty, důvěrnost, odvolací postupy a další). Je ve formě standardních operačních postupů, které rozvádějí některé body Národního programu.

Po provedení kontroly i auditu předává NIO Ministerstvu životního prostředí závěrečnou zprávu o provedené kontrole. Závěr zprávy obsahuje výrok inspektorů a doporučení z výroku plynoucí.

Ministerstvo seznámí na základě doporučení testovacího zařízení se svým rozhodnutím v době stanovené zákonem a buď vydá nebo nevydá nebo oznámí testovacímu zařízení neplatnost osvědčení.

Výhledy a navrhované změny

Dva roky platnosti zákona odкрыly v oblasti správné laboratorní praxe některé nedostatky.

V první řadě se jedná o komplikovaný způsob získání osvědčení. Není zvykem, aby osvědčení uděloval orgán státní správy. Doporučení o udělení osvědčení, které dává NIO Ministerstvu životního prostředí, je fakticky rozhodnutí. Administrativní smyčka ministerstvo – NIO – ministerstvo se z tohoto pohledu jeví jako zbytečná a ztěžuje komunikaci mezi inspekčním orgánem a testovacím zařízením. Předpokládá se, že v novele zákona nebo v novém zákoně o chemických látkách budou všechny tyto kompetence převedeny z ministerstva na NIO.

Dalším, ne zcela jednoznačným bodem, je oblast, pro kterou je správná laboratorní praxe vyžadována. Podle zákona 157/1998 Sb. nebylo zcela jasné, kdo musí mít systém SLP zaveden, což pochopitelně vedlo k již uvedeným nejasnostem a potížím. Novela zákona č. 352/1999 Sb. tuto otázku sice řeší (pouze pro účely registrace), není však stále v intencích zdrojových dokumentů.

Je pravděpodobné, že provádění kontrol testovacích zařízení a auditů studií odhalí další úskalí a doufejme, že se podaří jejich řešení včlenit do nového zákona.

CHEMICKÁ KOMUNIKACE HMYZU POHLEDEM ORGANICKÉHO CHEMIKA

Přednáška nositele ceny Alfreda Badera za rok 1998. Předneseno na konferenci v Liblicích¹

MICHAL HOSKOVEC

*Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
e-mail: hoskovec@uochb.cas.cz*

Došlo dne 13.1.2000

Klíčová slova: chemická komunikace, semiochemikálie, feromony, obaleč východní, *Cydia molesta*, analogy feromonů

Obsah

1. Úvod
2. Cíl projektu
3. Testované sloučeniny
4. Stanovení biologické aktivity analogů feromonů
 - 4.1. Elektrofyziologické techniky
 - 4.1.1. EAG záznam
 - 4.1.2. ESG záznam
 - 4.1.3. Problém těkavosti sloučenin při EAG/ESG
 - 4.2. Testování vlivu analogů na chování motýlů (tzv. behaviorální techniky)
 - 4.2.1. Test v Petriho miskách (short-range behavior test; SRB test)
 - 4.2.2. Větrný tunel (long-range behavior test; LRB test)
5. Výsledky biologických testů a diskuse
 - 5.1. Dodecyl-chlorformiát (II)
 - 5.2. Laktonové analogy III–V (alkenolidy)
 - 5.3. Thiaanalogy VI a VII
 - 5.4. Dodecyl-acetát (VIII)
 - 5.5. Rozvětvené analogy IX–XI
6. Závěr

1. Úvod

Výzkum chemické komunikace živých organismů patří v posledních 30 letech k bouřlivě se rozvíjejícím oblastem přírodních věd. Vznikl nový, multidisciplinární vědní obor – chemická ekologie. Studium chemicko-biologických vztahů v ekosystémech umožnilo komplexní pohled na celou strukturu vnitrodruhových a mezidruhových vztahů mezi živými organismy. Díky tomu se změnil náš pohled na přírodu jako takovou – dnes již víme, že vzájemné interakce valné většiny živočichů i rostlin jsou do značné míry ovlivňovány či dokonce přímo řízeny stopovým množstvím určitých, pro daný druh či situaci, specifických organických sloučenin. Naše současné znalosti ukazují na primární úlohu chemické komunikace

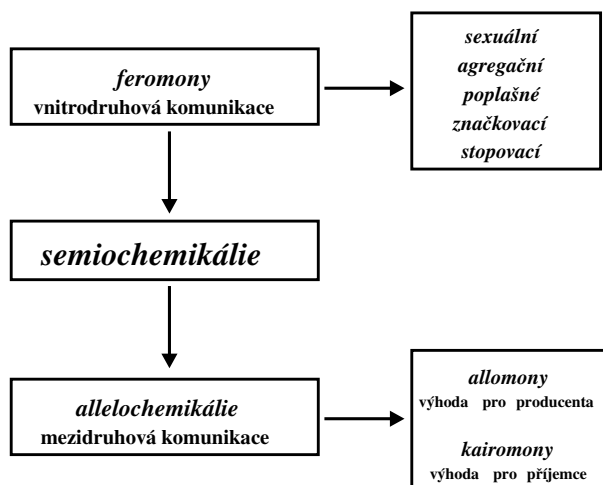
u hmyzu (*Insecta*). Přístupnost čichového orgánu – tykadla, specifita čichových receptorů a možnost laboratorních chovů činí z této živočišné třídy unikátní model pro teoretické studium. Většina současných obecných poznatků o chemické komunikaci a čichovém vnímání je odvozena právě od modelových experimentů na hmyzu. Práce v této oblasti je důležitá i z praktického hlediska – znalost principu chemické komunikace určitého druhu hmyzu nám dává strategickou výhodu v možnosti modifikace jeho chování v náš prospěch (např. využití v integrované, ekologicky nezávadné ochraně rostlin a zemědělských produktů).

Z hlediska působení semiochemikálií (dělení viz obr. 1) – látek používaných živými organismy k chemickému přenosu informace – mají největší význam feromony (řecky: φερειν – přenos, ορμων – vzruch) zajišťující vnitrodruhovou komunikaci²⁻⁴. Feromony jsou z hlediska chemické struktury množinou obsahující značné množství mnohdy i naprosto nesorodných strukturálních typů (alifatické nenasycené sloučeniny, heterocykly, makrocycly, spiroketaly, terpeny atd.).

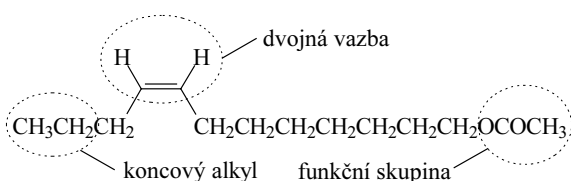
Kvantitativně i kvalitativně na nejvyšší úrovni jsou v současné době naše znalosti o sexuální chemické komunikaci u hmyzího řádu motýlů (*Lepidoptera*)⁵. Pro to jsou dva ryze praktické důvody: 1) mnoho motýlů patří mezi významné zemědělské škůdce a tím je zajištěna společenská objednávka na příslušný výzkum, 2) motýlí feromony mají relativně jednoduchou chemickou strukturu. Později se ukázalo, že motýli jsou díky již výše zmíněným výhodám velmi vhodným materiálem i pro základní výzkum v oblasti mechanismu čichového vnímání.

Chceme-li ovlivnit biochemický proces, jehož výsledkem je biologický efekt, měli bychom znát jeho mechanismus na různých úrovních biologického systému. V našem případě to znamená na molekulární úrovni objasnit povahu interakce feromonu s proteiny čichového receptoru, jejichž detailní funkce a struktura nejsou zatím zcela známy. Výše zmíněné interakce zahrnují např. vodíkové můstky, van der Waalsovy, elektrostatické, hydrofobní a hydrofilní mechanismy. V případě sexuálních feromonů motýlů (většinou jde o nízkomolekulární lineární mono/polyenické acetáty, alkoholy či aldehydy) je obecně přijímán tzv. třibodový model⁶, podle kterého molekula obsahuje tři farmakofory: 1. koncový alkyl; 2. dvojnou/dvojnou vazbu a 3. funkční skupinu (obr. 2). Klíčovou roli zde hraje geometrie dvojných vazeb – z možných izomerů je daným druhem rozpoznáván a využíván převážně jeden nebo specifická směs několika izomerů. V některých případech má „nepravý“ izomer inhibiční účinky. Proto je syntéza feromonů striktně podřízena potřebě získat geometrické izomery o co nejvyšší čistotě.

Jedním z perspektivních způsobů uplatnění feromonů v praxi je tzv. metoda dezorientace⁷⁻⁹ spočívající v narušení systému vnitrodruhové sexuální komunikace a tím i reprodukce druhu. Dezorientačního efektu lze v principu dosáhnout dvěma způsoby: použitím skutečného feromonu (jeho analogu) ve vysoké koncentraci (klasická dezorientace) nebo využitím tzv. reaktivních analogů^{10,11} schopných buď blokovat (nejlépe nevratně) čichové receptory nebo působit jako inhibitory



Obr. 1. Dělení semiochemikálií. Poznámka: Allomonem je např. semiochemikálie emitovaná predátorem, sloužící jako návnada pro jeho kořist (výhoda pro producenta). Kairomonem je např. ovipoziční feromon motýla, „zneužitý“ lumkem – parazitem k lokalizaci vajíček hostitele (výhoda pro příjemce)



Obr. 2. Strukturální prvky („farmakofory“) rozhodující o biologické aktivitě (Z)-8-dodecenyl-acetátu

feromonových katabolických enzymů. V obou případech je výsledkem tzv. čichová slepota.

Při objasňování mechanismů chemické komunikace motýlů na molekulární úrovni a designu perspektivních analogů sexuálních feromonů je nutné řešit množství experimentálních i teoretických problémů zasahujících do oblastí organické a fyzikální chemie, entomologie, etologie, fyziologie či biostatistiky. Několik následujících stran textu si klade za cíl nastínit možné způsoby řešení uvedené problematiky na příkladu projektu „Potenciální bioracionální pesticidy na bázi analogů feromonů“.

2. Cíl projektu

Cíl projektu, design nových chemických struktur, použitelných jako bioracionální insekticidy pro boj s motýlkem obalečem východním (*Cydia molesta*; celosvětově významný škůdce peckovin) měl i teoretický aspekt. Obaleč východní byl použit jako modelový druh hmyzu pro studium mechanismu čichového vnímání na úrovni receptorového systému.

3. Testované sloučeniny

Objektem našeho zájmu, hlavní složkou sexuálního feromonu obaleče východního, je (Z)-8-dodecenyl-acetát (I; dále Z8-12:Ac)^{5,12}. Molekula Z8-12:Ac nabízí tři strukturální

jednotky vhodné pro případnou modifikaci – koncový alkyl, *cis*-dvojnou vazbu a acetátovou funkci (obr. 2). Pokud se podíváme na struktury syntetizovaných analogů (schéma 1), můžeme je rozdělit do několika skupin. Do první skupiny reaktivních analogů (modifikovanou původní acetátovou skupinou) lze zařadit chlorformiát II a alkenolidy (laktony) III–V. Kromě předpokládané reaktivity¹³ by analogy II–V díky bioizostericitě záměny¹⁴ CH₃ → Cl a určité podobnosti mezi acetátovou a laktónovou funkcí mohly interagovat s receptorovými proteiny stejným způsobem jako feromon I. Druhá skupina obsahuje sirmé bioizostery VI a VII (náhrada dvojně vazby skupinou -CH₂S- resp. -SCH₂-)¹⁵. U třetí skupiny je pozměněno okolí dvojně vazby původního C-skeletu molekuly. Patří sem nasycený analog VIII a větvené vinyl/ethyliden analogy IX–XI. Návrh větvených analogů IX–XI byl inspirován prací¹⁶ o inhibičních účincích vinylanalogu feromonu u motýla *Cryptophebia leucotreta*. Popis syntézy látek II–XI je stericky příliš náročný a lze se s ním podrobně seznámit v literatuře^{17–20}.

4. Stanovení biologické aktivity analogů feromonů

4.1. Elektrofyziologické techniky

Mezi základní způsoby testování semiochemikálií u hmyzu patří v současnosti elektrofyziologické sledování aktivity na tykadlech lokalizovaných čichových receptorových buňkách²¹ (olfactory receptor cell – ORC). Jde o elektroantennografii (EAG), snímající sumaci změn potenciálů všech ORC na tykadle a elektrosenzilografii (ESG) monitorující změny potenciálu jediné ORC. Schéma typického zařízení pro měření EAG je znázorněno na obrázku 3. ESG aparatura je až na použití střídavého zesilovače prakticky identická, místo tykadla je v případě motýlů zapojena do měřícího obvodu jediná trichoidní senzila obsahující jednu ORC. Obě techniky byly využity pro stanovení biologické aktivity analogů hlavní složky sexuálního feromonu obaleče východního (*Cydia molesta*).

4.1.1. EAG záznam

Klíčovým parametrem získaným z EAG záznamu je amplituda změny potenciálů (řádu mV) po stimulaci (obr. 4). Ta je výslednicí efektivity semiochemikálie (tj. její schopnosti snižovat polarizaci ORC) a počtu aktivovaných receptorů. Pořízení EAG záznamu je méně náročné než práce s jedi-

nou ORC v případě ESG²¹. Při stanovení aktivity testované semiochemikálie (v našem případě analogu feromonu) obvykle pořizujeme EAG záznam při různých koncentracích pro získání závislosti dávky a odezvy (dose-response). Ze sigmoidních dose-response křivek se běžně odečítají následující parametry: 1) saturační odezva, 2) odezva pro standardní dávku a 3) dávka odpovídající 100 % nebo 75 % odezvě standardu

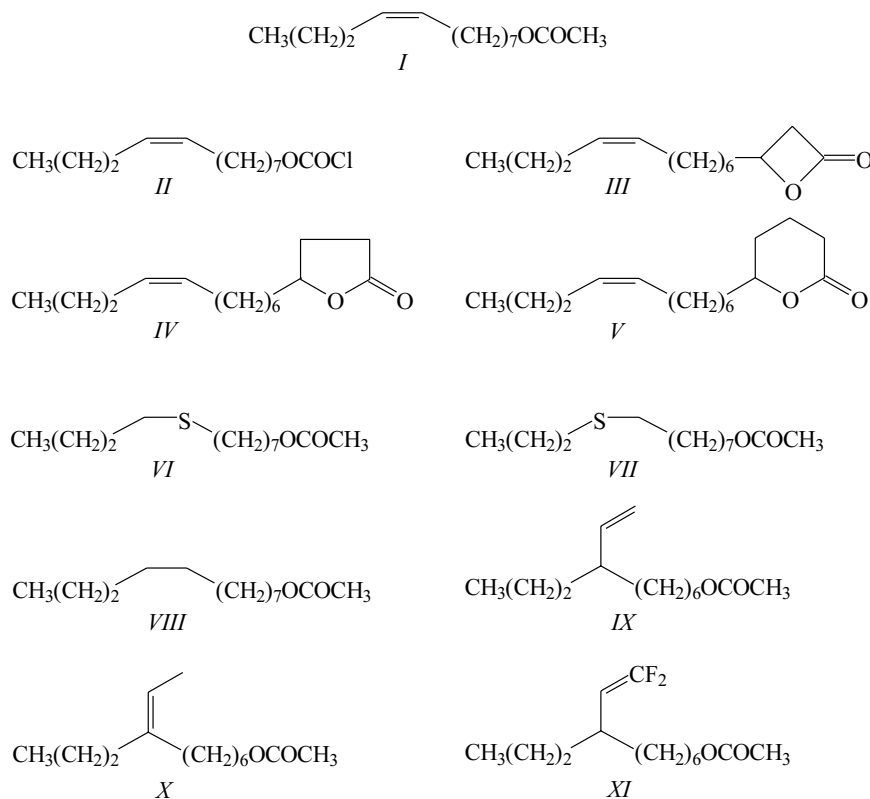
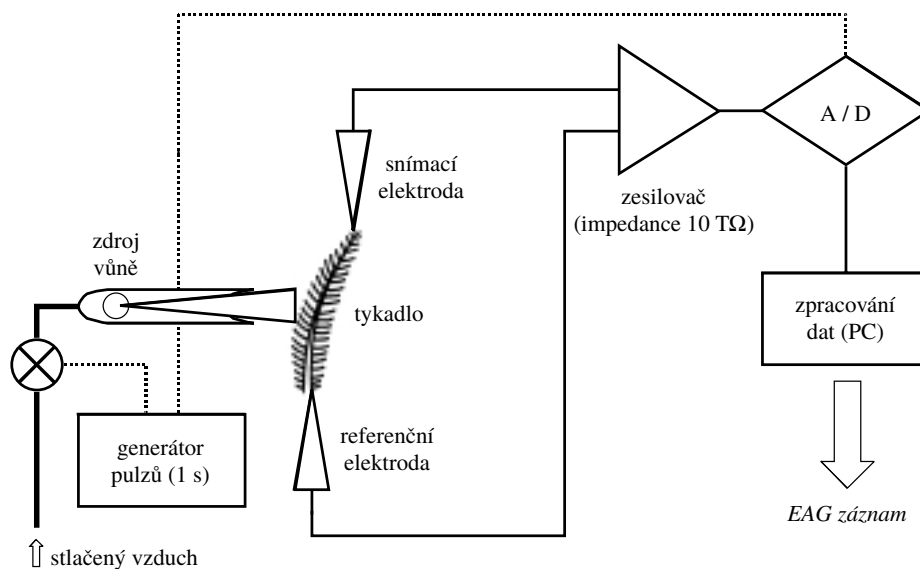
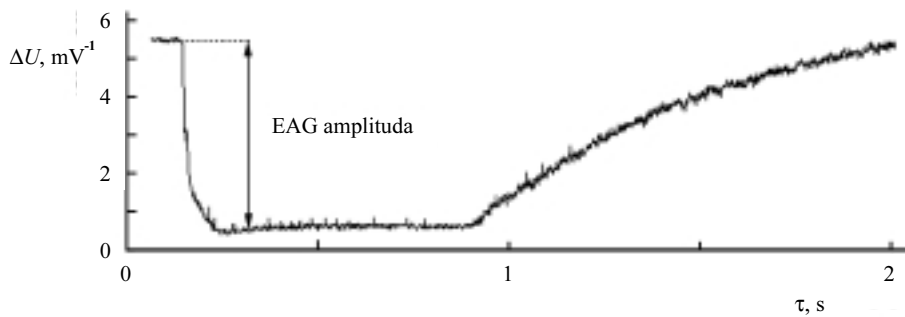


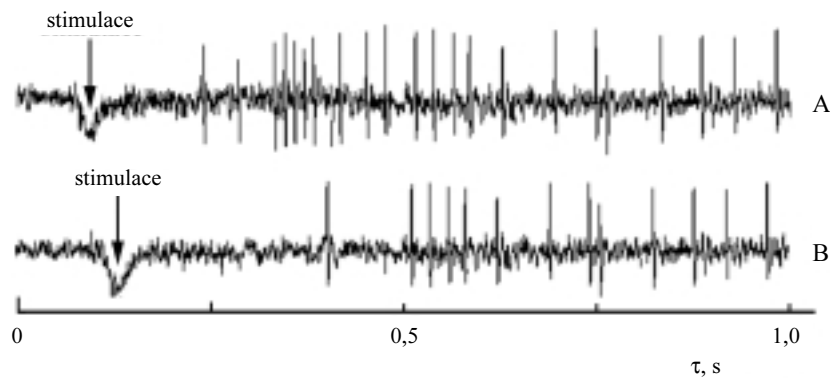
Schéma 1



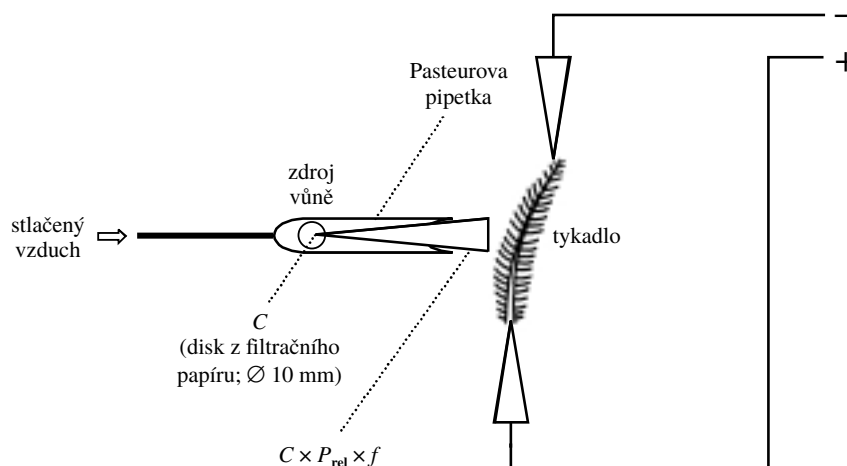
Obr. 3. Blokové schéma standardního zařízení pro elektroantenografii (EAG)



Obr. 4. Příklad elektroantenogramu (reakce tykadla samce obaleče východního na Z8-12:Ac, I)



Obr. 5. Příklad elektrosenzilogramu (reakce ORC specifické pro Z8-12:Ac, I na: A) Z8-12:Ac; B) chlorformiátu II)



Obr. 6. Schematické znázornění problému rozdílné těkavosti testovaných látek při elektrofyziologickém experimentu

(feromonu). Pro posuzování výsledků EAG měření je důležité si uvědomit fakt, že EAG odezva je odezvou všech ORC tykadla. V případě receptorového systému „naladěného“ na vícesložkový feromon pak většinou odpovídají všechny typy ORC (každá složka má vlastní typ ORC), každý typ jinou intenzitou.

4.1.2. ESG záznam

Elektrosenzilografie²¹ nám umožňuje exaktně srovnat od-

pověď specializované ORC na „vlastní“ semiochemikálii (na kterou je naladěna) s odpovědí na libovolnou testovanou sloučeninu (v našem případě na analog feromonu). Pro vyhodnocení ESG záznamů (příklad na obr. 5) je nejdůležitější frekvence tzv. akčních potenciálů (spiků) po stimulaci. Hustota spiků po stimulaci je přímo úměrná biologické aktivitě testovaných semiochemikálií, jejich amplituda je stejná u méně i více aktivních sloučenin. Nejintenzivnější odpověď vykazuje ORC obvykle po stimulaci sloučeninou na jejíž identifikaci je „naladěna“ (např. sexuálního feromonu).

4.1.3. Problém těkavosti sloučenin při EAG/ESG

Amplituda EAG (či frekvence akčních potenciálů v případě ESG) je výslednicí efektivity semiochemikálie, tj. její schopnosti snižovat polarizaci ORC, a skutečné koncentraci sloučeniny, které na receptory působí. Tato koncentrace je přímo úměrná těkavosti testované sloučeniny. Při porovnávání elektrofyziologické aktivity série sloučenin jsou díky jejich rozdílné těkavosti (a tím odlišných tlaků nasycených par i při použití stejné dávky sloučenin pro elektrofyziologický experiment) získaná data používaná pro konstrukci dose-response křivek často velmi nepřesná a zavádějící (obr. 6). Při znalosti tlaku nasycených par testovaných sloučenin však lze uvedený problém snadno eliminovat korekcí na relativní těkavost vztaženou ke standardu. V našem případě je standardem feromon, Z8-12:Ac (*I*; jeho relativní těkavost $P_{REL} = P_T/P_R = 1$).

Pro samotné stanovení tlaků nasycených par (a tím i relativních těkavostí) feromonů²²⁻²⁵ a jejich analogů jsme jako první použili plynově-chromatografickou (GC) metodu vyvinutou Jensenem a Schallem²⁶. Na rozdíl od přímých technik^{27,28} stanovení tlaků nasycených par při nízkých teplotách nevyžaduje velké množství sloučeniny, náročné přístrojové vybavení a je časově poměrně nenáročná. Metoda je založena na myšlence srovnání GC retenčních časů referenční a testované sloučeniny. Fyzikálně-chemické základy metody lze shrnout do tří jednoduchých rovnic²⁹. Závislost tlaků nasycených par (*P*) dvou sloučenin při stejné teplotě lze vyjádřit pomocí rovnice

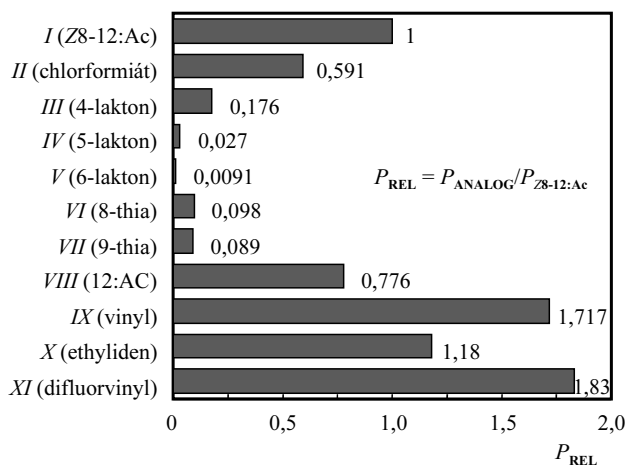
$$\ln P_T = (\Delta H_T/\Delta H_R) \ln P_R + c \quad (1)$$

kde dolní indexy T a R popisují testovanou a referenční sloučeninu a ΔH je latentní výparné teplo. Tlaky par jsou také závislé na retenčních časech

$$\ln P_T = \ln P_R - \ln(\tau_T/\tau_R) \quad (2)$$

kde τ jsou retenční časy. Kombinací a úpravou rovnic (1) a (2) získáme vztah (3)

$$\ln(\tau_T/\tau_R) = (1 - \Delta H_T/\Delta H_R) \ln P_R - c \quad (3)$$

Obr. 7. Relativní těkavosti P_{REL} Z8-12:Ac a jeho analogů

V grafickém znázornění závislosti $\ln(\tau_T/\tau_R)$ proti $\ln P_R$ je pak směrnice $1 - \Delta H_T/\Delta H_R$ a úsek na ose $-c$. Směrnici i úsek získáme lineární regresi retenčních časů testované a referenční sloučeniny naměřených za různých teplot. Takto získané hodnoty mohou být po dosažení do rovnice (1) použity pro výpočet tlaku nasycených par testované sloučeniny při libovolné teplotě za předpokladu znalosti tlaku referenční sloučeniny za téže teploty.

Jako referenční sloučeniny byly pro stanovení tlaku Z8-12:Ac (*I*) a jeho analogů zvoleny vyšší *n*-alkany (C_{14} – C_{21}) u kterých jsou známy s dostatečnou přesností tlaky nasycených par v širokém rozmezí teplot. Kromě toho splňují i požadavek na „podobné“ chromatografické chování (především polaritu) jako série testovaných sloučenin. Význam korekce na těkavost v případě analogů Z8-12:Ac (*I*) potvrzují výsledky stanovení (graf na obr. 7). Například laktonový analog V je více než 100× méně těkavý než feromon *I*, naopak větvené vinylanalogy IX a XI jsou téměř 2× těkavější.

4.2. Testování vlivu analogů na chování motýlů (tzv. behaviorální techniky)

Elektrofyziologické metody nám poskytují údaje o působení testovaných analogů sexuálního feromonu na úroveň feromonového receptorového systému. Pro odpověď na otázku, jak působí testované semiochemikálie na vlastní chování zkoumaných motýlů, je nutné použít některou z tzv. behaviorálních technik³⁰. Mezi ně lze zařadit testy v Petriho miskách či ve větrném tunelu (ale též testy v polních podmínkách).

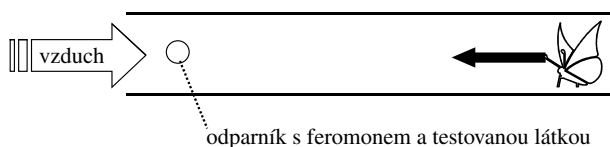
4.2.1. Test v Petriho miskách (short-range behavior test; SRB test)

Jeden z nejjednodušších behaviorálních testů je založen na sledování chování motýlího samečka umístěného v Petriho misce spolu s volající (tj. feromon emitující) samičkou v přítomnosti odparníku s testovanou látkou (100 ng analogu). Vyhodnocuje se úspěšnost kopulace ve srovnání s kontrolou (index K) bez analogu vyjádřená tzv. konfuzním koeficientem

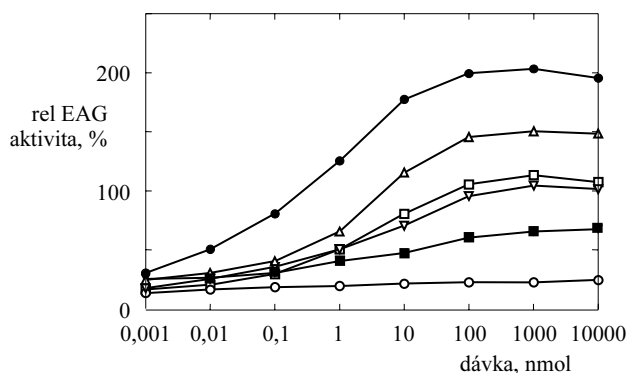
$$CC [\%] = (C_K/N_K - C_A/N_A) \times 100$$

4.2.2. Větrný tunel (long-range behavior test; LRB test)

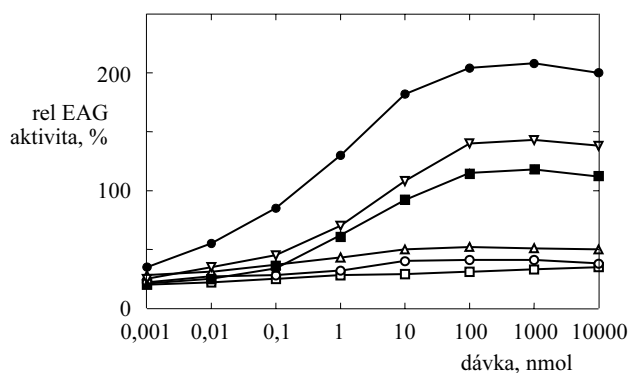
Větrný tunel z plexiskla o rozměrech 186×30×30 cm má systémem ventilátorů zajištěné laminární proudění zvlhčeného vzduchu ($0,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$); řízenou teplotu, dobu a intenzitu osvětlení. Za příívodem proudu vzduchu se umísťuje odparník s testovanou semiochemikálií a na protilehlém konci tunelu se vypouští sameček motýla (obr. 8). Sledují se 4 fáze předkopulačního letového chování samečka – mávání křídly (fanning), vzlet (take off), orientovaný let (oriented flight) a dosednutí



Obr. 8. Princip větrného tunelu (LRB test)



Obr. 9. Dose-response závislosti pro Z8-12:Ac a analogy s modifikovanou acetátovou skupinou, ● *I* (Z8-12:Ac), Δ *II* (chlorformiát), ■ *III* (4-lakton), ▽ *IV* (5-lakton), ○ *V* (6-lakton), □ *VIII* (12:Ac)



Obr. 10. Dose-response závislosti pro Z8-12:Ac a analogy s modifikací v místě *cis*-dvojně vazby, ● *I* (Z8-12:Ac), ■ *VI* (8-thia), ▽ *VII* (9-thia), Δ *IX* (vinyl), ○ *X* (ethyliden), □ *XI* (difluorvinyl)

na odparník (touch/landing). Pro LRB testy na inhibiční účinky byly použity směsi přírodního feromonu (10 ng) se syntetizovanými analogy (100 ng).

5. Výsledky biologických testů a diskuse

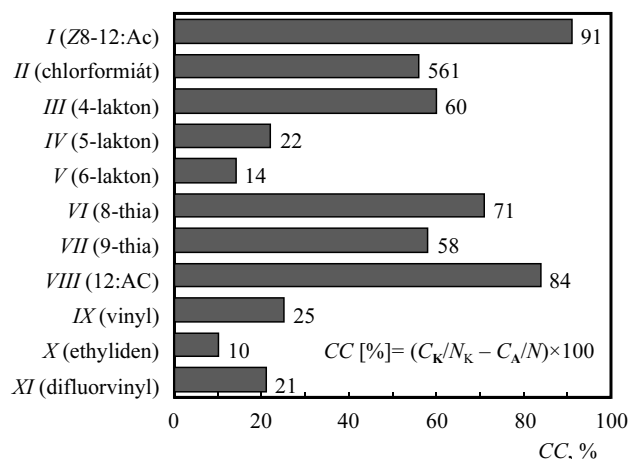
EAG aktivity syntetizovaných analogů jsou znázorněny jako dose-response křivky na obr. 9 a 10. Výsledky ESG testů (pořadí aktivity) se až na případ dodecyl-acetátu (*VIII*) v podstatě shodují s daty získanými EAG metodou. Konfuzní účinnosti testovaných sloučenin (SRB test) jsou srovnány v grafické formě na obr. 11. Pořadí inhibiční aktivity analogů v LRB testu je prakticky shodné. Celkové výsledky elektrofyziologických i behaviorálních testů jsou ve zjednodušené formě prezentovány v tabulce I.

5.1. Dodecyl-chlorformiát (*II*)

Tato sloučenina vykazuje nejvyšší elektrofyziologickou (EAG/ESG) aktivitu ze všech syntetizovaných analogů Z8-12:Ac (*I*). Výrazný je také inhibiční efekt po přidání k přírodnímu feromonu (LRB test) a konfuzní efekt při SRB testu. Samotný analog *II* dokáže ve větrném tunelu částečně nahradit feromon, neboť aktivuje první tři fáze předkopulačního letového chování samečka. Podle molekulárně-mechanického (dále MM; software HyperChem^(tm) 2, výpočty minimální energie metodou MM+) modelování je molekula analogu *II* vysoce prostorově podobná molekule feromonu *I*. Analog *II* tedy dobře mimikuje Z8-12:Ac a navíc nelze vyloučit jeho reakci s receptorovými proteiny za tvorby karbamátové vazby (a tím zablokovat čichový transdukční mechanismus).

5.2. Laktonové analogy *III*–*V* (alkenolidy)

Analog *III* (pětičlenný lakton, Z10-tetradecen-3-olid) je elektrofyziologicky málo aktivní, ale má výrazný konfuzní efekt (SRB test) a slušné inhibiční účinky v tunelu. Sloučenina podle MM modelů nemimikuje Z8-12:Ac, za inhibiční účinky zodpovídá vysoká afinita 4-členného laktonu k nukleofilům. Z10-tetradecen-3-olid by tak mohl inhibovat feromon-katabolické enzymy alkylací či acylací jejich nukleofilních skupin.



Obr. 11. Konfuzní koeficienty Z8-12:Ac a jeho analogů

Tabulka I
Biologické aktivity analogů feromonu obaleče východního (*Cydia molesta*)

Analog/Metoda	EAG ^a	ESG ^a	SRB test ^a	LRB test ^a
<i>II</i> (chlorformiát)	+++	+++	+++	+++
<i>III</i> (4-členný lakton)	+	–	+++	++
<i>IV</i> (5-členný lakton)	++	+++	–	–
<i>V</i> (6-členný lakton)	–	–	–	–
<i>VI</i> (8-thia)	++	+++	+++	+++
<i>VII</i> (9-thia)	++	++	+++	++
<i>VIII</i> (nasycený acetát)	+++	–	++	–
<i>IX</i> (vinyl)	+	+	+	+
<i>X</i> (ethyliden)	–	–	–	–
<i>XI</i> (difluorvinyl)	–	–	–	–

^a + + +: vysoká aktivita, + +: střední aktivita, +: nízká aktivita, –: neaktivní

Pětičlenný lakton (*IV*; Z11-pentadecen-4-olid) má relativně vysokou EAG/ESG aktivitu, ale minimální konfuzní a in-

hibiční účinky. Molekula analogu *IV* sice mimikuje Z8-12:Ac (MM model) ale jeho inhibiční aktivita je nízká. To lze vysvětlit podstatně menší afinitou 5-členného laktonického uskupení k nukleofilům (50–100× menší než u 4-členného laktonu *III*) (cit.³¹).

Šestičlenný lakton (*V*; Z12-hexadecen-5-olid) není biologicky aktivní, tj. nenapodobuje původní feromon a nemá ani inhibiční účinky. Důvodem je příliš velký zásah do geometrie původního Z8-12:Ac (*I*) v místě koncové acetátové skupiny (MM model) a předpokládaná nízká reaktivita 6-členného laktonového uskupení sloučeniny *V*.

5.3. Thiaanalogy *VI* a *VII*

Obě dvě sloučeniny mají vysokou elektrofyziologickou (EAG / ESG) aktivitu a též značný konfuční efekt při SRB behaviorálním testu. Při směsných EAG experimentech (směsi s Z8-12:Ac v poměrech 1:10 a 1: 100) zvyšují odpověď tykadla o 50–70 %.

Podle MM modelů oba thiaanalogy dobře mimikují Z8-12:Ac a navíc jejich flexibilní molekuly pravděpodobně interagují i s receptory minoritních komponent sexuálního feromonu. Látky *VI* a *VII* mají konfuční efekt srovnatelný s feromonem (díky desetinné těkavosti při 10-ti násobné dávce). Obě látky se chovají jako agonisté Z8-12:Ac, spíše modifikují než inhibují percepci feromonu.

5.4. Dodecyl-acetát (*VIII*)

Tento ester byl nově identifikován³² ve feromonové směsi produkované samičkou obaleče východního. Nejde tedy o analog feromonu, ale o minoritní komponentu sexuálního feromonu. Proto sloučenina *VIII* vykazuje vysokou EAG odezvu celého tykadla a minimální ESG odezvu buněk specializovaných na hlavní složku Z8-12:Ac. To vše spolehlivě indikuje přítomnost doposud anatomicky nelokalizovaných, k identifikaci 12:Ac určených specifických receptorů, na samčím tykadle obaleče *Cydia molesta*.

5.5. Rozvětvené analogy *IX–XI*

Elektrofyziologická (EAG/ESG) aktivita vinylnalogu *IX* je velmi nízká a i jeho konfuční efekt v LRB testu je nevýrazný. Při směsných EAG experimentech (směsi s Z8-12:Ac 1:10 a 1:100) snižuje odpověď tykadla cca o 20 %. Podle MM modelů analog *IX* nemimikuje Z8-12:Ac, tj. jeho slabé inhibiční účinky nejsou spojeny se schopností „napodobit“ původní molekulu hlavní složky feromonu. Analog *IX* je pravděpodobně schopen inhibovat EAG odpověď na úrovni tykadla (nutné další ověření).

Ethylidenanalog (*X*) a difluorvinylnanalog (*XI*) jsou díky velkým zásahům do struktury molekuly Z8-12:Ac (MM modely) látky s velmi nízkou elektrofyziologickou i behaviorální aktivitou.

6. Závěr

Získané údaje o biologické aktivitě sloučenin *II–XI* nás opravňují konstatovat, že inhibiční vlastnosti analogů nejsou spojeny pouze s jejich schopností napodobit (mimikovat) pů-

vodní molekulu Z8-12:Ac. Na základě provedených experimentů můžeme uvažovat o dvou odlišných hypotetických mechanismech působení syntetizovaných analogů: 1) Zablouknutí receptorového systému feromonu mimikujícím analogem (thiaanalogy *VI* a *VII*, částečně chlorformiát *II*), 2) Zablokování normálních transportních a enzymatických procesů v receptoru díky možné alkylaci či acylaci nukleofilních skupin receptorových proteinů a / nebo katabolických enzymů (chlorformiát *II* a 4-členný lakton *III*).

Perspektivní sloučeniny (*II*, *III*, *VI* a *VII*) budou podrobeny dalšímu intenzivnímu biochemickému a biologickému studiu. Z praktického hlediska si zaslouží zvláštní pozornost thiaanalogy *VI* a *VII*. Jednoduchá syntéza a vyšší environmentální stabilita ve srovnání s hlavní složkou feromonu (Z8-12:Ac) jsou významnými aktivy obou analogů pro jejich potenciální využití^{9,33,34} v integrované ochraně sadů před obalečem východním.

Řešení uvedeného komplexního projektu pro nás znamenalo nutnost poprvé spojit „síly“ nejenom v oblasti organické syntézy a fyziologie hmyzu, ale řešit i otázky fyzikálně-chemické (těkavosti semiochemikálií) či molekulárně-mechanické a etologické (design behaviorálních testů). Kromě „praktických“ výstupů (nové biologicky aktivní analogy semiochemikálií) vidím hlavní význam tohoto projektu ve vypracování obecně použitelného interdisciplinárního modelu řešení podobných problémů vztahů chemická struktura – biologická aktivita v oblasti chemické ekologie.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu č. DHR-5600-G-00-1051-00, Program in Science and Technology Cooperation, agentury USAID (United States Agency for International Development).

LITERATURA

- Hoskovec M.: Chem. Listy 92, 941 (1998).
- Baker R., Herbert R. H.: Nat. Prod. Reports 1984, 299.
- Techniques in Pheromone Research* (Hummer H. E., Miller T. A., ed.). Springer, New York 1984.
- CRC Handbook of Natural Pesticides* (Morgan, E. D., Mandava, ed.), sv. VI. CRC Press, Boca Raton 1988.
- Arn H., Tóth M., v databázi: *List of Sex Pheromones of Lepidoptera and Related Attractants* (Arn H., Tóth M., Priesner E., ed.). Internetová databáze Pherolist: <http://nysaes.cornell.edu/pheronet/>.
- Hoskovec M., Kalinová B., Konečný K., Koutek B., Vrkoč J.: J. Chem. Ecol. 19, 735 (1993).
- Rice R. E., Kirsch P., v knize: *Applications of Pheromones and Other Attractants* (Ridgway R. L., Silverstein R. M., Inscoe M. N., ed.), kap. 13. Marcel Dekker, New York 1990.
- Voght H., Schropp A., Neumann U., Eichhorn K. W.: J. Appl. Entomol. 115, 217 (1993).
- Cardé R. T., Minks P. M.: Annu. Rev. Entomol. 40, 559 (1995).
- Prestwich G. D., Carvalho J. F., Ding Y. S., Hendricks D. E.: *Experientia* 42, 964 (1986).
- Parilla A., Guerrero A.: Chem. Senses 19, 185 (1994).
- Cardé A. M., Baker T. C., Cardé R. T.: J. Chem. Ecol. 5, 423 (1979).
- Mayer R. J., Louis-Flamberg P., Elliott J. D., Fischer M.,

- Leber J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 169, 610 (1990).
14. Silvermann R. B.: *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, kap. 2. Academic, San Diego 1992.
 15. Camps F., Gasol V., Guerrero A.: *J. Chem. Ecol.* 16, 1155 (1990).
 16. Burger B. V., Le Roux M., Mackenroth W. M., Spies H. S., Hofmeyr J. H.: *Tetrahedron Lett.* 31, 5771 (1990).
 17. Hoskovec M., Šaman D., Koutek B.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 59, 1211 (1994).
 18. Hoskovec M., Koutek B., Lazar J., Kalinová B., Brožová E., Streinz L., Vrkoč, J: *Helv. Chim. Acta* 77, 1281 (1994).
 19. Hoskovec M., Hovorka O., Kalinová B., Koutek B., Streinz L., Svatoš A., Šebek P., Šaman D., Vrkoč J.: *Bioorg. Med. Chem.* 4, 479 (1996).
 20. Hoskovec M., Hovorka O., Kalinová B., Koutek B., Svatoš A., Vlček K., Vrkoč J: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 63, 1031 (1998).
 21. Bjostad L. B., v knize: *Methods in Chemical Ecology, Chemical Methods* (Millar J. G., Haynes K. F., ed.), sv. 1, kap. 9. Kluwer Academic Publishers, Norwell 1998.
 22. Koutek B., Hoskovec M., Konečný K., Vrkoč J.: *J. Chromatogr.* 626, 215 (1992).
 23. Koutek B., Hoskovec M., Vrkočová P., Konečný K., Felzl L.: *J. Chromatogr. A* 679, 307 (1994).
 24. Koutek B., Hoskovec M., Vrkočová P., Konečný K., Felzl L.: *J. Chromatogr. A* 719, 391 (1996).
 25. Koutek B., Hoskovec M., Vrkočová P., Felzl L.: *J. Chromatogr. A* 759, 93 (1997).
 26. Jensen D. J., Schall E. D.: *J. Agr. Food Chem.* 14, 123 (1966).
 27. Murray J. J., Pottie R. F., Pupp C.: *Can. J. Chem.* 52, 275 (1983).
 28. Spencer W. F., Cliath M. M.: *Residue Rev.* 85, 57 (1983).
 29. Hamilton D. J.: *J. Chromatogr.* 195, 75 (1980).
 30. Hare J. D., v knize: *Methods in Chemical Ecology, Bioassay Methods* (Millar J. G., Haynes K. F., ed.), sv. 2, kap. 5. Kluwer Academic Publishers, Norwell 1998.
 31. Hemminki K.: *Chem. Biol. Interact.* 34, 323 (1981).
 32. Lacey M. J., Sanders C. J.: *J. Chem. Ecol.* 18, 1421 (1992).
 33. Bartell R. J.: *Physiol. Entomol.* 7, 353 (1982).
 34. Rice R. E., Kirsch P., v knize: *Behaviour-Modifying Chemicals for Insect Management. Applications of Pheromones and Other Attractants* (Ridgway R. L., Silverstein R. M., Inscoc M. N., ed.), kap. 13. Marcel Dekker, New York 1990.

M. Hoskovec (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*):
Insect Chemical Communication from the Viewpoint of the Organic Chemist

The multiscience complexity of the research in the field of the insect chemical communication is demonstrated on the project Biorational Pesticides Based on Pheromone Analogues. The project dealt with the design, synthesis and structure – biological activity studies of sex pheromone analogues of some important insect pests, such as the oriental fruit moth (*Cydia molesta*). Ten new analogues of (*Z*)-dec-8-en-1-yl acetate (*I*) with the modified acetate group (*II–V*) or alkene moiety (*VI–XI*) were tested for their biological activity by electroantennography (EAG), electrosensillography (ESG), short-range sexual stimulation and activation in the flight tunnel. All the structure modifications resulted in compounds whose electrophysiological activities were lower than that of *I* following the order $I > II > VII > IV > VIII = IV = VI \gg III \gg V = IX = X = XI$. In behaviour experiments, some of the synthesised compounds were found to generally reduce the ability of males to find a pheromone source. The highest inhibitory effect was observed for chloroformate *II*, the four-membered lactone *III* and the thia analogues *VI* and *VII*. The results support the view that inhibitory properties of the analogues should not be entirely associated with their pheromone-mimicking capabilities.

VEDLEJŠÍ PRODUKTY DEZINFEKCE PITNÉ VODY

VÁCLAV JANDA a MARIE ŠVECOVÁ*

Ústav technologie vody a prostředí, Vysoká škola chemicko-technická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 18.X.1999

Klíčová slova: dezinfekce pitné vody, vedlejší produkty dezinfekce

Obsah

1. Úvod
2. Dezinfekční činidla a jejich vedlejší produkty
 - 2.1. Chlor a jeho sloučeniny
 - 2.1.1. Chlor, chlornan sodný, anorganické chloraminy
 - 2.1.2. Oxid chloričitý
 - 2.2. Ozon
3. Závěr

1. Úvod

Při vodárenské dezinfekci pitné vody se jako chemická činidla uplatňují především látky se silným oxidačním účinkem. Cílem jejich aplikace je samozřejmě usmrcení nebo alespoň inaktivace ve vodě přítomných (patogenních) mikroorganismů. Dezinfekční činidlo avšak nereaguje pouze s cílovými mikroorganismy, ale i s dalšími látkami, které jsou ve vodě běžně přítomny, za vzniku nežádoucích vedlejších produktů dezinfekce. Dále je třeba mít na paměti, že i koncentrace samotného dezinfekčního činidla je limitována. Do pitné vody se mohou dostávat i chemikálie, ze kterých se toto činidlo připravuje.

Dosud používaná norma definující kvalitu pitné vody¹ uvádí limitní hodnoty pro některé vedlejší produkty dezinfekce. I když normy řady ČSN nejsou dnes již obecně závazné, orgány dohlížející na zabezpečení kvality pitné vody využívají nadále hodnoty limitních koncentrací uvedených v této normě a vyžadují jejich plnění, respektive jejich nepřekročení. Je pochopitelné, že tato norma již nevyhovuje dnešním potřebám – byla schválena 5.1.1989 – a není schopna postihnout vývojové trendy a nové poznatky, kterých bylo dosaženo v posledním desetiletí. Proto je připravována vyhláška² Ministerstva zdravotnictví ČR, ve které budou zakotveny nové požadavky na jakost pitné vody. Mezi těmito požadavky figurují i limitní hodnoty pro dezinfekční činidla a vedlejší produkty dezinfekce vody v mnohem širší škále, než tomu bylo v předchozí normě. Pravděpodobně nekomplexnější přehled o limitních koncentracích dezinfekčních činidel a vedlejších produktů de-

zinfekce lze nalézt ve směrnici Světové zdravotnické organizace³. Diskutované limitní hodnoty v této publikaci jsou převzaty především z této práce. Většina vedlejších produktů dezinfekce vykazuje karcinogenní účinky. Pro tyto látky s bezprahovým působením je limitní hodnota odvozena pro riziko vzniku rakoviny 10^{-5} (vyvolá u populace 10^5 průměrných spotřebitelů při celoživotní konzumaci jeden případ úmrtí navíc).

I v odborné veřejnosti často padá otázka, proč se neustále rozšiřuje spektrum vedlejších produktů dezinfekce, po kterých v pitné vodě pátráme. Důvody jsou zřejmě dva: neustále se vylepšují analytické metody používané pro jejich analýzu a současně se rozšiřuje paleta používaných chemických dezinfekčních prostředků. Druhý důvod je přímým důsledkem populačního tlaku. V globálním měřítku je kvalitní pitné vody stále větší nedostatek (to ovšem není případ ČR, kde potřeba vody v posledním desetiletí po určitém narovnání cenových relací poklesla). Její zvýšená potřeba je saturována exploatací méně kvalitních zdrojů. Paleta dezinfekčních chemikálií se tedy neustále rozšiřuje. Před 25 lety nebylo o vedlejších produktech dezinfekce pitné vody známo téměř nic, i když například její chlorace byla z tohoto hlediska vždy podezřelá. V roce 1974 byla popsána jednoznačná identifikace a kvantifikace prvních vedlejších produktů chlorace vody – trichlormethanu a dalších trihalogenmethanů^{4,5}. Tento objev byl učiněn především díky tehdejšímu bouřlivému rozvoji plynové chromatografie a s ní souvisejících prekoncentračních technik. Od té doby se právě díky chromatografickým technikám dosáhlo významného pokroku v oblasti identifikace nových vedlejších produktů dezinfekce vody.

Snad je na tomto místě také vhodné zdůraznit, že dezinfekce pitné vody je jedním z nejdůležitějších kroků její úpravy. Odstranění patogenních mikroorganismů z upravené vody je jedním z nejzákladnějších úkolů a nemělo by nikdy být kompromisem.

2. Dezinfekční činidla a jejich vedlejší produkty

Většina vedlejších dezinfekčních produktů je spjata s používáním chloru a jeho sloučenin. Je to pochopitelné, protože výzkum vedlejších produktů chlorace je nejvíce rozpracován. Chlor a jeho sloučeniny jsou nejen v ČR, ale i ve světě používány pro dezinfekci pitné vody daleko nejčastěji.

2.1. Chlor a jeho sloučeniny

2.1.1. Chlor, chlornan sodný, anorganické chloraminy

Z hydrochemického hlediska je celkem lhostejné, dávkujeme-li do vody chlor (chlorovou vodu) nebo chlornan sodný. Chlor reaguje s vodou za vzniku kyseliny chlorné. Ve vodě je pak v obou případech aktivní chlor přítomen jako směs nedisociované kyseliny chlorné a chlornanového aniontu. Poměr těchto dvou forem výskytu závisí již jen na pH vody (pK kyseliny chlorné činí 7,4). Elementární chlor rozpuštěný ve

* Současná adresa: Ústav silniční a městské dopravy DEKRA a.s., Jánkův vršek 11, 118 20 Praha 1

vodě se vyskytuje až v oblastech extrémně nízkých hodnot pH, které v technologii vody nepřicházejí v úvahu⁷. Přesto se běžně hovoří o „chlору ve vodě“. Chlor se ve vodě postupně spotřebovává na oxidaci jak anorganických, tak na oxidaci a chloraci organických látek. Některé z těchto reakcí (například reakce chlóru s huminovými látkami) mají velmi pomalý průběh a dostávají se do ustáleného stavu až po několika dnech. Tomu odpovídá i rychlost poklesu koncentrace chlóru ve vodě. Chlor nemá na člověka významný toxikologický vliv ani v koncentracích několika mg.l⁻¹.

Nejznámějšími vedlejšími produkty chlorace vody jsou trihalogenmethany (haloformy), jejichž objev spadá do první poloviny sedmdesátých let^{4,6}. Vedle trichlormethanu byly v pitných vodách nacházeny i dibromchlormethan, dibromchlormethan a tribrommethan. Bromované haloformy vznikají díky přítomnosti bytí i stopového množství bromidů ve vodách. Bromidy jsou nejprve oxidovány chlorem na brom, který má k haloformové reakci vyšší afinitu než chlor. Hlavními prekurzory haloformů jsou přirozené makromolekulární organické látky přítomné především v povrchových vodách. Jedná se hlavně o huminové látky^{8,9}, avšak i řasy a jejich metabolické produkty mohou po chloraci haloformy poskytnout¹⁰. Haloformy vznikají pravděpodobně chlorací seskupení dvou hydroxylových skupin v poloze 1,3 na benzenovém jádře¹¹. Rychlost haloformové reakce je velmi nízká, a proto největší podíl koncentrace haloformů v pitné vodě vzniká až ve vodovodní síti. Koncentraci vznikajících haloformů ovlivňuje samozřejmě teplota vody a dávka chlóru, ale i další faktory, jako např. pH. Směrem k vyšším hodnotám těchto veličin roste i výtěžek haloformů¹². V osmdesátých letech byly v českých zemích provedeny první studie týkající se obsahu haloformů v našich pitných vodách¹³. Bylo zjištěno, že není z tohoto hlediska nikterak tristní. Dnes je analýza haloformů v pitných vodách standardní součástí kontroly kvality pitné vody. To, zda vyhovuje koncentrace haloformů v pitné vodě v konkrétním případě, doporučuje WHO vypočítat podle následujícího vzorce:

$$\frac{p_{\text{bromoform}}}{GV_{\text{bromoform}}} + \frac{p_{\text{bromdichlormethan}}}{GV_{\text{bromdichlormethan}}} + \frac{p_{\text{dibromchlormethan}}}{GV_{\text{dibromchlormethan}}} + \frac{p_{\text{chloroform}}}{GV_{\text{chloroform}}} \leq 1$$

kde p jsou aktuální koncentrace a GV směrnice hodnoty WHO³ (100 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro tribrommethan, 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro dibromchlormethan, 60 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro bromdichlormethan a 200 $\mu\text{g.l}^{-1}$ pro trichlormethan). Navrhovaná nejvyšší mezní hodnota pro koncentraci haloformů v distribuční síti se v ČR pro jednoduchost předpokládá² 150 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Další významnou skupinou sloučenin vznikajících při chloraci vody jsou haloctové kyseliny¹⁴⁻¹⁸. Jedná se především o kyseliny di- a trichloroctovou, jejichž koncentrace v pitné vodě může dosahovat až 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Koncentrace kyseliny chloroctové bývá na úrovni maximálně několik jednotek $\mu\text{g.l}^{-1}$. Doporučené limitní hodnoty jsou podle WHO³ pro kyselinu dichloroctovou 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a pro kyselinu trichloroctovou 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$. V některých státech již byl provedena screeningová měření

a zjišťována frekvence výskytu těchto vedlejších produktů chlorace v pitných vodách sloužících k zásobování obyvatelstva¹⁹⁻²¹. Dále jsou v chlorovaných vodních vodách, nebo při modelových pokusech s chlorací vodných roztoků humátů, nacházeny další nižší alifatické chlorované kyseliny²², bromované haloctové kyseliny²³, chlorovaný a bromovaný acetonitril²⁴, chlorované aldehydy a ketony²⁵, zvláště pak chlorovaný acetaldehyd²⁶, popřípadě do různého stupně bromovaný acetaldehyd²⁷ a chlorkyan²⁸ (ten se tvoří především za přítomnosti vyšších koncentrací amonných iontů, resp. chloraminů). Doporučené limitní koncentrace v pitné vodě pro některé z těchto látek podle WHO³ jsou uvedeny v tabulce I.

Tabulka I

Limitní koncentrace některých vedlejších produktů chlorace vody³

Látka	Limitní koncentrace [mg.l^{-1}]
Chloralhydrát	10
Dichloroacetonitril	90
Dibromoacetonitril	100
Trichloroacetonitril	1
Chlorkyan	70 ^a

^a Suma všech kyanosloučenin (včetně kyanidů)

Další skupinou látek, které patří mezi vedlejší produkty chlorace vody a okolo kterých je situace dnes již poměrně dobře zmapována, jsou chlorfenoly. Fenolické látky se i ve velmi nízkých koncentracích ve vodě snadno chlorují za vzniku silně páchnoucích a chuťově postižitelných chlorfenolů. Prekurzory chlorfenolů mohou být v tomto případě i přirozeného původu. Chlorfenoly vykazují zpravidla tak silný zápach, že koncentrační limit pro pitnou vodu se odvíjí od senzorickeých hledisek a nikoli toxikologických. Například mezní hodnota referenčního rizika pro 2,4,6-trichlorfenol činí 200 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Prahová koncentrace chuti má hodnotu již 2 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (obdobný práh pro 2-chlorfenol a 2,4-dichlorfenol je na koncentračních úrovních 0,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$, resp. 0,3 $\mu\text{g.l}^{-1}$) (cit.³). Je tedy zřejmé, že pokud voda nemá zjevnou chuť např. po 2,4,6-trichlorfenolu, nepředstavuje pro spotřebitele žádné zdravotní nebezpečí.

Mezi vedlejší produkty chlorace vody můžeme zařadit i anorganické chloraminy. Tyto látky vznikají reakcí chlóru s amonnými ionty přítomnými ve vodě. Amonné ionty jsou běžnou složkou vod (limitní koncentrace pro pitnou vodu¹ má hodnotu 0,5 mg.l^{-1}). Při nízkých koncentracích není vliv amonných iontů na kvalitu dezinfekce pitné vody chlorem nijak výrazný, zvláště je-li dávka chlóru vyšší, než odpovídá stechiometrii reakce s amonnými ionty. Při vyšších koncentracích amonných iontů však jejich přítomnost ovlivňuje průběh dezinfekce poměrně výrazně. Amonné ionty reagují s chlorem za vzniku mono- a dichloraminu. Trichloramin může vznikat až při poměrně vysokých dávkách chlóru a vyšších hodnotách pH. Kromě toho může chlor oxidovat složitým a dosud ne zcela probádaným komplexem reakcí amonné ionty na elementární dusík, oxid dusný a dokonce až na dusičnany⁷. Reakci amonných iontů s chlorem lze technologicky využít dvěma způsoby. Buď pro odstraňování amonných iontů z vody, kdy jsou vyšší dávkou chlóru (až za tzv. bod zlomu) oxidovány

na výše uvedené produkty a nadbytek chloru je pak z vody odstraněn filtrací přes granulované aktivní uhlí, nebo pro tzv. chloraminaci vody. Anorganické chloraminy jsou dezinfekčním činidlem, i když poněkud slabším než chlor. Na druhou stranu, jejich rozklad ve vodě je pomalejší než u chloru. To lze využít tam, kde má voda poměrně dobrou mikrobiologickou kvalitu a kde je dlouhá doba zdržení mezi úpravnou vodou a spotřebitelem. Pro tyto účely jsou amonné ionty do vody dávkovány ve formě síranu amonného a dávka chloru je dávce amonných iontů přizpůsobena. Výhodou chloraminace je také to, že reakcí anorganických chloraminů s přirozenými organickými látkami ve vodě téměř nevznikají látky typu haloformů, jako při reakci s volným chlorem. Využití chloraminace pro dezinfekci vody se však ukázalo v posledních letech v ČR problematičké. Souvisí to s tím, že poklesla potřeba pitné vody v důsledku útlumu hospodářství a cenového narovnání. Doby zdržení pitné vody v sítích se prodloužily a v rozvodech probíhají procesy, na které jsme nebyli zvyklí. Jedním z nich je i neúplná biologická nitrifikace amonných iontů na dusitan²⁹, které způsobují methemoglobinemii. Biologická nitrifikace může probíhat i za přítomnosti chloraminů a existují indicie, že nitrifikující mikroorganismy je dokáží využívat jako substrát. V budoucnu bude spíše nutné amonné ionty z vody při její úpravě odstraňovat, než je využívat pro chloraminaci. Nadějným způsobem odstraňování amonných iontů z pitné vody jsou právě biologické metody³⁰.

2.1.2. Oxid chloričitý

Oxid chloričitý na rozdíl od chloru nereaguje s přirozenými organickými látkami ve vodě chloračně, ale atakuje je pouze oxidačně. Nevznikají tedy vedlejší produkty dezinfekce typu haloformů nebo halooctových kyselin.

Oxid chloričitý je však explozivní plyn a není jej možno skladovat v čistém stavu. Proto se připravuje přímo na úpravách vody reakcí chloritanu sodného s chlorem nebo kyselinou chlorovodíkovou. Vzniklý koncentrovaný roztok oxidu chloričitého je pak dávkován do pitné vody. Při použití oxidu chloričitého není podle současných (a zatím velmi kusých) toxikologických údajů o jeho vlastnostech ani tak problém se samotným ClO₂, jako spíše s nezreagovaným chloritanem (který způsobuje methemoglobinemii) a sloučeninami chloru ve vyšším oxidačním stupni, než v chloritanu. Směrníková hodnota pro koncentraci chloritanu v pitné vodě³ je 200 µg.l⁻¹. Obdobná hodnota bude zřejmě uvedena i v připravované vyhlášce MZ ČR².

2.2. Ozon

Ozon je nejsilnějším dezinfekčním činidlem, které je ve vodárenské praxi používáno. Koncentrace ozonu v pitné vodě nemá být vyšší² než 0,05 mg.l⁻¹. Ozon je po absorpci ve vodě subjektem řady komplexních následných a bočných reakcí, při nichž vznikají hydroxylové radikály, které jsou považovány za nejrazantnější složku oxidační směsi. Ozon sám o sobě samozřejmě neposkytuje vedlejší produkty dezinfekce typu haloformů a halooctových kyselin. Rozklad ozonu ve vodě je ve srovnání s redukcí chloru daleko rychlejší. Pokud má být voda zabezpečena proti rekontaminaci ve vodovodní síti, je nutné ji dochlorovat, což se běžně děje. Při vyšších dávkách chloru pak mohou vznikat i vyšší koncentrace haloformů, než

když není použita předozonizace³¹, protože ozonizačním štěpením makromolekulárních organických látek může paradoxně dojít ke tvorbě nového podílu prekurzorů haloformů.

Při použití ozonu jakožto dezinfekčního činidla byly pozitivně prokázány i některé další vedlejší produkty dezinfekce. Jedná se například o formaldehyd. O toxicitě formaldehydu bylo v posledních desetiletích řečeno mnohé, a to nejenom v souvislosti s pitnou vodou. Jedná se o dráždivou a pravděpodobně i karcinogenní látku. Směrnice^{2,3} doporučují maximální koncentraci 900 µg.l⁻¹.

Další vedlejší produkt používání ozonu jsou bromičnany³². Vznikají oxidací stopových koncentrací bromidů, které jsou běžně přítomny ve vodách. Ukazuje se, že bromičnany jsou poměrně silným karcinogenem. Mezní hodnotě referenčního rizika 10⁻⁵ odpovídá koncentrace bromičnanů v pitné vodě 3 µg.l⁻¹. Vzhledem k tomu, že pro analýzy takovýchto koncentrací jsou naše metody zpravidla omezeny vyšším detekčním limitem, je doporučována³ směrníková hodnota 25 µg.l⁻¹. Referenční riziko se potom zvyšuje na 7.10⁻⁵. Naše národní směrnice² bude respektovat tuto hodnotu.

3. Závěr

Je zřejmé, že výčet vedlejších produktů dezinfekce pitné vody je poměrně široký. Ani v budoucnu se však nedá předpokládat, že se tato paleta zúží. Důvody byly naznačeny v úvodu tohoto článku: jednak se stále ještě bude rozšiřovat škála používaných dezinfekčních činidel, jednak budou vyvinuty nové a citlivější analytické postupy pro stanovení těchto látek ve vodě. Navíc jsou naše znalosti o toxicitě vedlejších produktů dezinfekce vody často kusé a nespolehlivé, což se projevuje například tím, že směrníková hodnota je mnohdy definována jako provizorní (tedy hodnota vycházející z nedostatku jednoznačných údajů – o vlivu xenobiotik na lidský organismus viz např. nedávný článek Knejzlíka a Rumla³³). Nejistota v požadovaných limitech pro pitnou vodu však má silný vliv na ekonomiku provozu úpraven pitné vody. Je možné, že někdy jsou aplikovány drahé technologie zbytečně, protože by stačila aplikace méně náročných a levnějších postupů. Mnohdy se v zavedení nových a nákladnějších technologií odrážejí komerční zájmy, určitá módnost a jiná, co se týče kvality pitné vody, více či méně iracionální hlediska.

LITERATURA

1. ČSN 757111: *Pitná voda*.
2. *Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR, kterou se stanoví požadavky na pitnou vodu a rozsah a četnost její kontroly*, v přípravě.
3. World Health Organization: *Guidelines for Drinking Water Quality*. WHO, Geneva 1993.
4. Rook J. J.: *J. Water Treat. Exam.* 23, 234 (1974).
5. Bellar T. A., Lichtenberg J. J., Kroner R. C.: *J. Am. Water Works Assoc.* 66, 703 (1974).
6. Bellar T. A., Lichtenberg J. J.: *J. Am. Water Works Assoc.* 66, 739 (1974).
7. Pitter P.: *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha 1999.
8. Rook J. J.: *Environ. Sci. Technol.* 11, 478 (1977).
9. Babcock D. B., Singer P. C.: *J. Am. Water Works Assoc.* 71, 149 (1979).

10. Hoehn R. C.: J. Am. Water Works Assoc. 72, 344 (1980).
11. Gonzales A. C., Olson T. M., Rebenne L. M., v knize: *Water Disinfection and Natural Water Organic Matter, Characterization and Control* (Minear R. A., Amy G. L., ed.), str. 48. American Chemical Society, Washington D.C. 1996.
12. Janda V., Moucha A.: Acta Hydrochim. Hydrobiol. 11, 3 (1983).
13. Janda V., Žáček L.: *Omezení vzniku haloformů při úpravě vody*. Ministerstvo lesního a vodního hospodářství ČSR, publikace 60/526/85-1, Praha 1985.
14. Christman R. F., Nowood D. L., Millington D. S., Johnson J. D., Stevens A. A.: Environ. Sci. Technol. 17, 625 (1983).
15. Reckhow D. A., Singer P. C.: J. Am. Water Works Assoc. 82, 173 (1990).
16. Reckhow D. A., Singer P. C., Malcolm R. L.: Environ. Sci. Technol. 24, 1655 (1990).
17. Uden P. C., Miller J. W.: J. Am. Water Works Assoc. 75, 524 (1983).
18. Stevens A. A., Moore L. A., Miltner R. J.: J. Am. Water Works Assoc. 81, 54 (1989).
19. Peters R. J. B., Erkelens C., De Leer E. W. B., De Galan L.: Water Res. 25, 473 (1991).
20. Singer P. C., Obolensky A., Greiner A.: J. Am. Water Works Assoc. 87, 10, 83 (1995).
20. Arora H., LeChevallier M. W., Dixon K. L.: J. Am. Water Works Assoc. 89, 6, 60 (1997).
22. Christman R. F., Nowood D. L., Millington D. S., Johnson J. D., Stevens A. A.: Environ. Sci. Technol. 17, 625 (1983).
23. Pourmoghaddas H., Stevens A. A., Kinman R. N., Dressman R. C., Moore L. A., Ireland J. C.: J. Am. Water Works Assoc. 85, 82 (1993).
24. Reckhow D. A., Singer P. C.: J. Am. Water Works Assoc. 82, 173 (1990).
25. Reckhow D. A., Singer P. C., Malcolm R. L.: Environ. Sci. Technol. 24, 1655 (1990).
26. Uden P. C., Miller J. W.: J. Am. Water Works Assoc. 75, 524 (1983).
27. Xie Y., Reckhow D. A.: Analyst 118, 71 (1993).
28. Symons J. M., Xia R., Diehl A. C., Speitel G. E., Hwang C. J., Krasner S. W., Barrett S. E., v knize: *Water Disinfection and Natural Water Organic Matter, Characterization and Control* (Minear R. A., Amy G. L., ed.), str. 78. American Chemical Society, Washington D.C. 1996.
29. Janda V.: SOVAK 1, 5/89, 4 (1992).
30. Janda V., Rudovský J.: J. W. S. R. T. – Aqua 43, 3, 120 (1994).
31. Janda V., Strnadová J.: Vod. Hosp. B32, 13 (1982).
32. Haag W. R., Hoigne J.: Environ. Sci. Technol. 17, 261 (1983).
33. Knejzlík Z., Ruml T.: Chem. Listy 93, 607 (1999).

V. Janda and M. Švecová (*Department of Water Technology and Environment, Institute of Chemical Technology, Prague*): **By-products in Drinking Water Disinfection**

Disinfection of drinking water and formation of disinfection by-products in the water treatment process is discussed. Chlorination, the most used method for the purpose, provides a great number of by-products such as chloroamines (by the reaction of chlorine with ammonia), chlorophenols (if phenols are present), haloforms (by the reaction of chlorine with natural organic matter, e.g. humic substances), haloacetic acids (predominantly di- and trichloroacetic acids) and others like chloral hydrate, cyanogen chloride and chlorinated acetonitriles. On the other hand, there is no evidence that chlorine dioxide reacts with organic compounds to give chlorinated products. The residual chlorite, which is used for the production of chlorine dioxide in water treatment plants, is probably the most harmful by-product in this case. When ozone is used for the disinfection, there is a great probability of formation of bromates by the oxidation of bromides in raw water. Generally, formaldehyde can also occur in drinking waters if oxidation agents are used for the water treatment. Many disinfection by-products are known as potential carcinogens.

Česká společnost chemická přijme

novou výkonnou redaktorku Chemických listů

Kvalifikační předpoklady: VŠ vzdělání chemického zaměření
Předpokládaný nástup: jaro 2001, několikaměsíční zaškolení
Bližší informace: prof. B. Kratochvíl, tel. 02/3113908, 0606/870366, e-mail: kratochb@vscht.cz
 Ing. C. Jiráťová, tel. 02/21082370, e-mail: jiratova@csvts.cz
 Ing. M. Bláhová, tel. 02/22220184, e-mail: mblahova@csvts.cz

BIOINDIKÁTORY V MONITORINGU ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

ZDENĚK KAFKA a JANA PUNČOCHÁŘOVÁ

Ústav chemie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: Zdenek.Kafka@vscht.cz

Došlo dne 20.X.1999

Klíčová slova: bioindikátory, testy toxicity, biomonitoring

Obsah

1. Úvod
2. Základní pojmy
3. Legislativní opatření
4. Testy toxicity
5. Testovací organismy používané v ČR
 - 5.1. Test akutní toxicity na rybách
 - 5.2. Test akutní toxicity na perloočkách
 - 5.3. Test inhibice růstu sladkovodních řas
 - 5.4. Test inhibice růstu kořene
6. Testovací organismy používané v jiných zemích
 - 6.1. Testy podle DIN
 - 6.2. Testy podle ASTM
7. Závěr

1. Úvod

Sledování procesů znečišťování životního prostředí a účinný přístup k této problematice vyžaduje rozsáhlé znalosti o škodlivých efektech, které v životním prostředí nastávají a o škodlivých faktorech, které je zapříčiňují. Změny v přírodním prostředí způsobené antropogenními vlivy probíhají ve stále rychlejším sledu. Nahromadění ekologických problémů a jejich případné interakce ztěžují mnohdy člověku včasné rozpoznání nebezpečných situací, analýzu příčin a aplikaci vhodných protipatření. Systematický dohled na životní prostředí se proto stává nutností.

Uvedený přehledný referát se zabývá hodnocením účinků znečišťujících látek na živé organismy.

2. Základní pojmy

Ekotoxikologie je vědní odvětví zabývající se účinky chemických látek na strukturu a funkci ekologických systémů se zvláštním důrazem na ovlivnění biotické složky těchto ekosystémů¹.

Ekotoxicitou rozumíme nepříznivý účinek chemikálií na organismy daný koncentrací působící látky a dobou expozice. Tento účinek je modifikován okolními faktory prostředí, např. teplotou, hodnotou pH, spolupůsobením dalších chemických látek včetně složek potravy atd. Reakce na určitou chemickou

látku je různá pro různé druhy použitých testovacích organismů především v závislosti na jejich metabolismu.

Jako bioindikátory jsou označovány organismy nebo skupiny organismů, které odpovídají na zatížení škodlivinami změnami svých životních funkcí nebo které akumulují škodliviny. Mohou tedy poskytnout informace o dopadu xenobiotik na určitý typ organismu a přitom může být zjištěn výsledný efekt škodlivé látky nebo může být sledován časový průběh poškozování biotiky příslušnou toxickou látkou^{2,3}.

K účelům biomonitoringu^{4,5} lze použít i dlouhodobých studií vývoje stavu druhů, druhových skupin populací vybraných druhů rostlin a živočichů a komplexů vegetace. Pomocí biomonitoringu je možné sledovat rozdílné cíle, např. analýzu stavu daných organismů nebo abiotických médií, analýzu zatížení biotických a abiotických složek, změny ekologických podmínek, prostorové a časové porovnávání negativního dopadu toxických látek na živé organismy, kontrolu kvality různých přírodních procesů, stanovení mezních a prahových hodnot koncentrace škodlivých látek atd.

Inhibice vyjadřuje toxické působení kontaminovaného prostředí, které se u organismu neprojevuje smrtícím účinkem, nýbrž jen zpomalením enzymatických reakcí, růstu, rozmnožování, respirace, metabolismu atd.

Ekologické experimenty se provádějí s ohledem na délku expozice toxické látky a podle ní lze sledovat akutní nebo chronické toxické účinky daného xenobiotika⁶.

Akutní účinek bývá charakteristický co nejkratší a jednorázovou aplikací toxikantu a poměrně krátkodobým sledováním intoxikovaného modelu. Akutní toxicita v hydroekotologii se vyjadřuje jako LC_{50} v $mg \cdot l^{-1}$ vody. Tato veličina vypovídá o tom, zda je nebo není sledovaná látka vůči živým organismům použitým pro příslušný biotest škodlivá.

Chronické účinky jsou charakterizovány opakovaným podáváním toxické látky, podle něhož se dělí na testy subakutní (14–28 dní), subchronické (90 dní) a chronické (až 2/3 délky života použitých bioindikátorů). Sledování účinků je dlouhodobě úměrně délce aplikace.

3. Legislativní opatření

Ekotoxikologické testy a metody pro zjišťování nebezpečných vlastností chemických látek a chemických přípravků jsou součástí řady vyhlášek a nařízení, týkajících se problematiky ochrany životního prostředí. Mezi nejdůležitější patří:

- Vyhláška č.339/1997 Sb. MŽP o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů,
- Vyhláška č.251/1998 Sb., kterou se stanoví metody pro zjišťování toxicity chemických látek a chemických přípravků,
- Vyhláška č.299/1998 Sb., kterou se stanoví metody pro zjišťování fyzikálně chemických a chemických vlastností chemických látek a chemických přípravků a vlastností chemických látek a chemických přípravků nebezpečných pro životní prostředí,
- Nařízení vlády č.25/1999, kterým se stanoví postup hodnocení nebezpečnosti chemických látek a chemických pří-

pravků, způsob jejich klasifikace a označování a vydává Seznam dosud klasifikovaných nebezpečných chemických látek.

4. Testy toxicity

Existuje velké množství testů toxicity⁷ lišících se buď použitými bioindikátory nebo sledováním různých reakcí, aspektů, nebo faktorů pro určitý testovací organismus. Výběr biologické metody závisí na rozšíření a vazbě daného organismu na sledovaný ekosystém. Voleny jsou zpravidla takové organismy, které se v hodnocené složce ekosystému přirozeně vyskytují a podstatnou měrou ji ovlivňují (mají např. vliv na komplexnost biologické komunity v daném biotopu). Důležitá je i délka testu⁸, kterou je nutné volit s ohledem na délku života a vývoj organismu.

Akutní testy toxicity se týkají pouze relativně krátkého úseku v životě organismu. V případě použití ryb, dafnií, potkanů a ptáků jako bioindikátorů je volena doba pokusu obvykle 24–48 hodin. Řasy jsou schopné dělit se do 24 hodin a bakterie se v řadě případů dělí na dceřinné buňky za dobu kratší než 1 hod. S ohledem na tyto skutečnosti je třeba upravit délku biotestu s bioindikačními řasami a bakteriemi.

Chronické a subchronické testy trvají značnou část života testovacího organismu. Jedná se např. o reprodukční testy, při kterých se sleduje reprodukční schopnost organismu, nebo růstové testy sledující růst biomasy.

Nejobtížnější a ekonomicky velmi náročné jsou terénní studie probíhající v přírodních podmínkách reálných ekosystémů. Trvají často měsíce až roky a získané výsledky je nutné sladit s daty získanými při měření v laboratoři.

Použitím rostlin jako bioindikátorů se zabývá fytoekotoxikologie. V pracích Federa a Manninga^{9,10} je uveden detailní popis použití rostlin ke zjišťování přítomnosti a množství řady chemických škodlivin, např. oxidu siřičitého, fluorovodíku, těžkých kovů, ethylenu, prachových částic atd. Byly měřeny koncentrace těchto škodlivin v rostlinách nebo byly hodnoceny fyziologické reakce rostlin či jejich biologické změny v souvislosti s působením těchto xenobiotik. V rámci terénní studie pak byla sledována skladba rostlinného porostu v kontaminované lokalitě.

5. Testovací organismy používané v ČR

V naší legislativě je pozornost věnována především hydroekotoxikologii a to zejména posuzování odpadních vod a různých vodních výluhů. Pro ekotoxikologické testování a hodnocení vodních výluhů jsou používány čtyři druhy testovacích organismů reprezentujících různé trofické úrovně¹¹:

- zástupci obratlovců – ryby,
- zástupci zooplanktonu – dafnie (perloočka),
- zástupci fytoplanktonu – řasy,
- semena kulturní rostliny.

Jako součást základních zkušebních baterií testů se využívá rovněž test na bakteriích (např. test inhibice dýchání aktivovaného kalu).

Výběr organismů se provádí na základě odlišné citlivosti jednotlivých zástupců k chemickým látkám ve vodném výluhu. Přitom je nutné vzít v úvahu skutečnost, že laboratorní

podmínky, za nichž se testy provádějí, se mohou výrazně lišit od souhrnu podmínek, při kterých chemikálie v životním prostředí působí. Testovací organismy by měly být přesně definované a snadno dostupné v dostatečném množství s možností laboratorní přípravy vlastních „chovů“. Měla by být známá historie jejich vývoje a pokud možno dokonale prozkoumána jejich anatomie a fyziologie. Při jejich aplikaci se rovněž předpokládá dostatečná citlivost na dané xenobiotikum.

K ověření ekotoxicity jako nebezpečné vlastnosti odpadů se používají čtyři testy akutní toxicity na následujících organismech:

5.1. Test akutní toxicity na rybách

Základním testem v hydroekotoxikologii je určení letální dávky pro ryby po 96 hodinové expozici¹². Kvalitní chov testovacích ryb je stejně náročný jako chov teplotokrevných pokusných laboratorních zvířat. V případě ryb přibývá navíc problém přesné definice jejich životního prostředí, tj. vody. Je nutné znát koncentraci vodíkových iontů, iontovou sílu, obsah kyslíku, obsah anorganických látek, obsah mikroorganismů atd. Vlastní test spočívá ve sledování chování a přežívání akvarijních ryb v různých koncentracích toxikantu ve vodném výluhu za definovaných podmínek testu. Nejčastěji se používají akvarijní ryby *Poecilia reticulata* Peters s českým názvem živorodka duhová, méně často pak ryby *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchan s českým názvem danio pruhované. Vedle akvarijních typů se využívají i větší druhy ryb jako jsou kapr, karas nebo pstruh. Testovací organismy jsou vybírány ze zdravých chovů v přirozeném poměru pohlaví (nejčastěji 1:1) a test je prováděn za přesně definovaných podmínek (teplota, délka expozice, počet jedinců, množství testovaného roztoku na jeden testovací organismus). Zároveň je realizován kontrolní pokus (paralelní test) prováděný za stejných podmínek s příslušnými testovacími organismy, kde místo testovaného vodného výluhu je sledována ředící voda. V kontrolních nádobách nesmí být během testu zjištěna mortalita ani výrazné změny v chování ryb. Výsledkem testu je zjištění letální koncentrace LC, tj. koncentrace toxikantu vyvolávajícího smrt organismu. Obvykle se stanovuje LC₅₀ znamenající usmrcení 50 % testovacích organismů za určitou dobu působení roztoku.

5.2. Test akutní toxicity na perloočkách

Testování spočívá ve sledování chování a přežívání planktonních koryšů perlooček, které figurují v potravním řetězci ryb (jsou základní potravní složkou ryb) v různých koncentracích toxikantu ve vodném výluhu za definovaných podmínek testu. Nejčastěji používanými organismy jsou perloočka *Daphnia magna* Straus. Podobně jako v předchozím případě musí testovací organismy, jejichž stáří se pohybuje v rozmezí 6–24 hodin, pocházet ze zdravých chovů získaných acyklickou partogenezí (samobřezostí) za přesně definovaných podmínek testu (teplota, délka expozice, počet a stáří jedinců, množství testovaného roztoku na jeden testovací organismus). V kontrolním pokusu nesmí být zjištěna imobilizace nebo mortalita organismů vyšší než 10 %. Výsledkem testu je zjištění imobilizace perlooček spočívající v makroskopicky pozorovatelné neschopnosti samostatného prostorového pohybu. Důvodem zjišťování imobilizace je skutečnost, že je velmi obtížné určit přesný okamžik usmrcení testovacího organismu. Výsledky se vyjadřují hodnotou EC₅₀, což je koncentrace vodného výluhu,

kteřá způsobí imobilizaci 50 % testovacích perlooček za určitou dobu působení testovaného vodného výluhu. V environmentální legislativě je dafnie obecně považována za základní testovací organismus pro ekologické testy.

5.3. Test inhibice růstu sladkovodních řas

Testování spočívá ve sledování vlivu vodou vyluhovatelných toxikantů z odpadů na růst nejjednodušších autotrofních organismů – řas. K tomu se používají planktonní sladkovodní řasy *Scenedesmus subspicatus* Chodat a *Selenastrum capricornutum* Printz. Jednodruhové řasové kmeny se po několik generací kultivují v definovaném médiu připraveném smícháním odpovídajících objemů zásobních roztoků živin, vody, příslušné koncentrace vodného výluhu toxikantu a inokula – tj. exponenciálně rostoucích řasových buněk. Roztoky se inkubují za přesně definovaných podmínek minimálně 72 hodin a vždy po 24 hodinách od počátku testu se zjišťuje hustota buněk. Předepsané podmínky testu (teplota, osvětlení, délka expozice, typ kultivačního média, celkový objem kultivovaných roztoků, hustota buněk na počátku testu) je nutné dodržet. Hodnota pH se může během zkoušky změnit maximálně o 1,5 jednotky. Výsledkem testu je zjištění inhibice růstu měřená jako snížení růstu nebo růstové rychlosti ve vztahu k růstu kontrolních kultur. Vyjadřuje se hodnotou IC_{50} , což je koncentrace vodného výluhu obohaceného živinami, která způsobí padesátiprocentní redukci růstu nebo růstové rychlosti řasové kultury v určitém časovém intervalu ve srovnání s kontrolním vzorkem. Metody, které využívají řasy jako testovací organismy, jsou ze skupiny tzv. fyziologických metod, jejichž principem je zjistit reakci použitých organismů na toxickou látku¹³. Jako testovací organismy mohou být použity druhově čisté nebo smíšené kultury získané buď ze Sbírek organismů nebo izolací z přírodního prostředí. Výběr vhodné testovací kultury je složitý. Někteří autoři dávají přednost použití smíšených kultur jako modelu, který je bližší skutečným přírodním poměrům. Nevýhodou této volby je ale zhoršená reprodukovatelnost oproti čistým kulturám. Citlivost různých kmenů řas na různé toxikanty může být velmi rozdílná; neexistuje totiž kmen s univerzální reakcí na všechny toxikanty. Při pokusu je možno hodnotit vliv xenobiotika na rozmnožování řas metodou růstových křivek nebo množství nárůstu biomasy po uplynutí zvolené testovací doby např. počítáním buněk pomocí celloskopu, stanovením úrovně chlorofylu nebo ovlivnění kyslíkového režimu ve vodním objemu atd.

5.4. Test inhibice růstu kořene

Testování spočívá ve sledování vlivu vodou vyluhovatelných látek z odpadu na růst kořene v počátečních stádiích vývoje semen kulturní vyšší rostliny. K pokusům se používají semena hořčice bílé (*Sinapis alba*) s minimální klíčovostí 90 %. Test spočívá v kultivaci semen na Petriho miskách se skleněnou nebo silonovou tkaninou nasycenou vodnými výluhy v příslušných koncentracích. Opět je nutné dodržet předepsané podmínky testu, jako je teplota, velikost misek, počet semen v misce, objem testovaného roztoku a délka expozice. V kontrolním pokusu se kultivují semena na podložce nasycené ředící vodou. Výsledkem testu je zjištění průměrné délky kořene v neředěném výluhu nebo jeho ředěních ve srovnání s průměrnou délkou kořene v kontrolním pokusu. Výsledky se

vyjadřují hodnotou IC_{50} , což je koncentrace vodného výluhu, která způsobí padesátiprocentní inhibici růstu kořene ve srovnání s kontrolním vzorkem v určitém časovém intervalu, obvykle 72 hodin.

6. Testovací organismy používané v zahraničí

Z testů používaných v zahraničí se v ČR nejčastěji setkáváme s metodami stanovení biologické toxicity zahrnutými do německé státní normy DIN 38412 (Deutsches Institut für Normung) a do normy ASTM D 4229-84, E 1193-87 (American Society for Testing and Materials) případně US.EPA 600/4-78/012 (Environmental Protection Agency), platnými v USA.

6.1. Norma DIN

(Deutsches Institut für Normung)

Podle této normy jsou stanoveny následující soubory testů pro výluhy:

- 2 testy s použitím bakterií *Pseudomonas putida* a *Photobacterium phosphoreum*,
- test s použitím producentů – řasa *Selenastrum quadricauda*,
- test s použitím primárních konzumentů – koryš *Daphnia magna*,
- test s použitím sekundárních konzumentů – ryba *Leuciscus idus* (Goldenorfe).

Měří se dva typy vzorků – náhodně odebrané reprezentativní vzorky a smíšené vzorky (dvouhodinový průměrný vzorek). Výsledkem testu pro akutní toxicitu pro jednotlivé organismy je růstová inhibice pro bakterie a řasy, inhibice luminiscence pro luminiscenční bakterie, imobilita pro dafnie a mortalita pro ryby. V případě průsakových vzorků (sewage samples) je nutné ředění vodou, aby se zjistila koncentrace, při které organismy přežívají. Jako konečné určení toxicity se obvykle nepoužívá průměrná odezva, ale výsledek získaný na nejcitlivějším organismu.

6.2. Norma ASTM (American Society for Testing and Materials)

Test na akutní toxicitu – 48 hodin, dafnie

Tento test patří mezi nejběžnější při posuzování kvality kontaminovaných vod. Jako testovací organismy se pro dobrou dostupnost a snadnou kultivovatelnost používají dafnie – *Daphnia magna* pro tvrdou vodu a *Daphnia pulex* pro měkkou vodu. Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím zdraví a prosperitu jedinců daného druhu je kvalita vody při kultivaci. Pro *Daphnia magna* je např. doporučena tvrdost vody daná obsahem $CaCO_3$ 80–100 $mg \cdot l^{-1}$.

Průběh testu: 10 jedinců dafnií mladších než 24 hodin je umístěno do kádinky o obsahu 125 ml, obsahující 100 ml testovaného roztoku. Současně se měří 5 koncentrací a kontrolní pokus. Test se provádí celkem třikrát. Protože okamžik smrti lze obtížně určit, je za konečný výstup považována imobilizace organismu. Organismus je považován za imobilní, jestliže se nezačne pohybovat (plavat) ani po doteku pipetou nebo skleněným vláknem. Měření se provádí ve 24 hodinových intervalech a organismy nejsou během pokusu kr-

meny. Tento test je obvyklým testem toxicity pro jednoduché sloučeniny a směsi xenobiotik ve vodných roztocích a pro výluhy. Výhodou testu na dafniích je krátký čas měření, malé množství vzorku, nízká cena a citlivost vůči toxikantům, která je ve srovnání s obratlovcí v řadě případů vyšší. Nevýhodou je citlivost ke kvalitě vody (dafnie je obecně mnohem citlivější k přítomnosti těžkých kovů v měkké vodě než ve vodě tvrdé se zvýšeným obsahem CaCO_3) a časově náročná příprava vhodných kultur těchto bioindikátorů.

Test na akutní toxicitu – 96 hodin, řasy

Jde o měření toxicity xenobiotika ve vodném prostředí vůči sladkovodním a mořským řasám. Ve vodních ekosystémech jsou řasy odpovědné za velké procento primární produkce biomasy. Poškození těchto jednobuněčných fotosyntetizujících organismů by mělo dlouhodobý negativní dopad na celou biotiku. Ze sladkovodních řas se používají zelené řasy *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus subspicatus* a *Chlorella vulgaris* a modrozelené řasy *Microcystus aeruginosa* a *Anabena flos-aque*, z mořských řas pak nejčastěji *Skeletonema costatum*, *Thalassiorisa pseudonana* a *Dunaliella tertiolecta*. Ve zvláštních případech pak mohou být využity další druhy řas, např. se zvýšenou citlivostí na měřené xenobiotikum. Výhodou těchto používaných organismů je jejich snadná adaptovatelnost.

Postup měření: k inokulaci média v testovací nádobce je použito 2×10^4 – 5×10^4 řasových buněk a jejich hustota je po dobu trvání testu denně kontrolována. Počítání buněk se provádí pomocí hemocytometru nebo elektronického částicového počítáče. Hladina chlorofylu se stanovuje spektrofotometricky nebo se měří fluorometricky. Při nízké koncentraci testovacích organismů je fluorometrické měření přesnější. Teplota, světelná intenzita a hodnota pH jsou zaznamenávány průběžně. Další možností měření je zjišťování obsahu DNA, ATP nebo ^{14}C asimilace. Důležitým požadavkem metody je zajištění mikrobiologické sterilizační techniky, aby se snížila na minimum kontaminace jinými řasami a bakteriemi. Tato kontaminace by se mohla projevit např. jako degradace toxikantu zejména bakteriemi a následně poklesem toxicity vodného roztoku. V některých případech může dojít dokonce k eliminaci toxikantu z média. Dalším zajímavým aspektem je zvýšení růstu řas při nízkých koncentracích toxikantu. Důvodem může být např. spontánní hydrolyza nebo jiný rozklad testované sloučeniny, při kterém vzniknou nutriční látky pro testované řasy.

7. Závěr

Pro vypracování jakéhokoliv ekologického projektu je nezbytné důkladné ekotoxikologické posouzení dané situace.

Přítomnost a koncentrace jednotlivých xenobiotik v prostředí však nevypovídá o biologickém riziku, které vyplývá např. ze synergických nebo antagonistických efektů současně působících kontaminantů. Pro účinné zlepšení a ochranu životního prostředí je možno volit v zásadě dva typy strategie monitoringu. Buď se jedná o monitoring škodlivých látek v životním prostředí sledující jejich přítomnost a množství v dané lokalitě (tzv. factor monitoring) nebo se hodnotí dopad těchto škodlivin v určitém místě (tzv. target monitoring). V tom případě se zjišťuje především vliv toxikantů na biotiku, která je navíc ovlivněna i širokým souborem přírodních faktorů. Začlenění biologických metod do celkového hodnocení kontaminačních efektů se proto stává stále významnějším.

LITERATURA

1. Landis W. G., Ming-Ho Yu: *Introduction to Environmental Toxicology: Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems*. Lewis Publishers, Boca Raton 1995.
2. Stöhr M.: *Landschaft Stadt 21*, 121 (1989).
3. Kafka Z., Punčochářová J.: *Chem. Listy 10*, 604 (1999).
4. Connel D. W., Miller G. J.: *Chemistry and Ecotoxicology of Pollution*. Wiley, New York 1984.
5. Richardson M.: *Ecotoxicology Monitoring*. Verlagsgesellschaft, Weinheim 1993.
6. Matrka M., Rusek V.: *Planeta 11*, 26 (1993).
7. Cockerham L. G., Shane B. S.: *Basic Environmental Toxicology*. CRC Press, Boca Raton 1994.
8. Pitter P., Grünwald A., Sládeček V., Koller J.: *Základy hydrochemie, technologie vody a hydrobiologie*. ČVUT, Praha 1984.
9. Feder W. A.: *Environ. Health Perspect.* 27, 139 (1978).
10. Manning W. J., Feder W. A.: *Biomonitoring Air Pollutants with Plants*. Applied Science Publishers, London 1980.
11. Olivková E.: *Odběr vzorků odpadů a postup hodnocení nebezpečných vlastností odpadů*. Česká společnost pro jakost, Praha 1998.
12. Matrka M., Rusek V., Bajer T.: *Eko 2*, 12 (1997)
13. Kolektiv autorů: *Nové poznatky z technické hydrobiologie*. Nakladatelství VŠCHT, Praha 1972.

Z. Kafka and J. Punčochářová (*Department of Environmental Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Bioindicators in the Environment Monitoring**

A survey of bioindicators utilized in monitoring of the environment is given. Attention is aimed at the tests used in the Czech Republic: tests of acute toxicity on fish and waterfleas, of growth inhibition in fresh-water algae and of root growth inhibition. The test organisms used abroad are also discussed.

MECHANISMUS VSTUPU XENOBIOTIK DO ORGANISMU A JEJICH DETOXIKACE

ZDENĚK KNEJZLÍK, JAN KÁŠ a TOMÁŠ RUML

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 11.XI.1999

Klíčová slova: detoxikace, cytochrom P450, konjugace, eliminace xenobiotik

Obsah

1. Xenobiotika
2. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu
 - 2.1. Vstup látek do krevního řečiště
 - 2.2. Transport xenobiotik do cílových buněk
3. Biotransformace a eliminace xenobiotik
 - 3.1. I. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.1.1. Enzymové systémy I. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.1.1.1. Cytochrom P450
 - 3.1.1.2. Ostatní detoxikační enzymy
 - 3.2. II. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.2.1. Vznik glukosiduronátů
 - 3.2.2. Konjugace se sacharidy
 - 3.2.3. Sulfatační, acetylační a methylační reakce
 - 3.2.4. Peptidová konjugace
 - 3.2.5. Glutathionový systém detoxikace
4. Exkrece xenobiotik a jejich metabolitů z organismu
 - 4.1. Toxikokinetika
5. Závěr

1. Xenobiotika

Jako xenobiotika (*xenos* – cizí) se označují látky, které se v organismu normálně nevyskytují a nejsou nutné pro jeho zdravý vývoj a ani pro něj neslouží jako zdroj energie. V mikrobiologicky orientovaných publikacích, které pojednávají o degradaci xenobiotik, se většinou za xenobiotikum považuje látka, se kterou se veškeré organismy žijící na zemi v průběhu evoluce nesetkaly. Naopak polutanty jsou látky, které jsou v přírodě normálně přítomné, a to buď ve stopách nebo v bodových zdrojích ve vysokých koncentracích (ropa, těžké kovy). Činností člověka se z těchto zdrojů dostávají okolního prostředí a znečišťují ho.

Xenobiotika lze v současné době zařadit do většiny známých tříd látek. Způsob jejich použití a rozšíření lze použít jako vodítko pro jedno z mnoha dělení (tabulka I). Primárním zdrojem xenobiotik je téměř vždy chemický průmysl, zatímco jako sekundární zdroj xenobiotik se označují ty oblasti lidské činnosti, kde jsou tyto produkty chemického průmyslu používány.

Zařazení sloučeniny do těchto skupin látek nesouvisí pou-

ze s jejími toxikologickými vlastnostmi. Je nutné si uvědomit, že riziko poškození organismu je závislé kromě toxicity látky, i na její koncentraci a době působení.

Tabulka I
Některé sekundární zdroje xenobiotik

Sekundární zdroj xenobiotik	Příklad skupiny látek
Zemědělství	pesticidy, herbicidy
Lékařství	syntetické léky – chemoterapeutika, psychotropní látky
Potravinářství	potravinářská aditiva – ochucovačla, barviva,
Energetický průmysl	CO ₂ , SO ₂ , popílek
Doprava	NO _x , olovo, CO ₂
Spotřební průmysl	plasty, barviva, nátěrové hmoty

2. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu

Vstup xenobiotik do organismu probíhá v několika fázích¹. Většinou se látka nejprve dostává do krevního řečiště, kde může interagovat s plazmatickými proteiny, které mohou sloužit jako její transportéry (např. albumin). Po té dochází k jejímu vstupu do jednotlivých tělních buněk.

2.1. Vstup látek do krevního řečiště

Do krve se látky dostávají třemi hlavními způsoby: trávicím ústrojím (žaludek, střeva), respiračním systémem (plíce, průdušky, nosní sliznice) a pokožkou.

Bariéry mezi krví a tkáněmi jsou tvořeny epitelem, jejichž buňky obsahují značné množství lipidů a fosfolipidů. Například při resorpci ve střevě (enterální resorpce), musí látka překonat fosfolipidovou membránu jednovrstevného střevního epitelu². Podobná situace je i v řasinkovém epitelu dýchacích cest a kožního epitelu, jehož buněčné stěny obsahují značné množství fosfolipidů. Společným znakem těchto tkání je jejich velký povrch, z toho plyne jejich vysoká resorpční schopnost. Způsob, jakým toxická látka do organismu vstupuje, závisí na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech a na zdroji, ve kterém se vyskytuje. Ve vztahu k člověku jsou důležité tyto zdroje xenobiotik: potrava, voda a vzduch. Z fyzikálně-chemických vlastností jsou pro možnost poškození organismu význačné: rozpustnost ve vodě a organických rozpouštědlech, těkavost (u kapalin), reaktivita (vypovídá o možné míře poškození). U značně reaktivních látek dochází k poškození sliznice a to vede ke zvýšení průchodu toxických látek do organismu. Z uvedené skutečnosti, že epitel obsahuje velmi vysoké množství lipidů, je patrné, že lipofilní látky budou mít značně usnadněn vstup do organismu. Některá

analog, tj. látky které se v organismu nevyskytují, ale mají značnou podobnost k jeho sloučeninám plnicí v něm fyziologické funkce, mohou do krve vstupovat pomocí kanálů (přenašečů) umístěných na povrchu jednotlivých buněk. Asi nejvíce se této schopnosti látek využívá ve farmacii, kde část molekuly léku je analogická fyziologicky aktivní látce. Je tedy žádoucí využít jejich schopnost resorpce ve střevě, které obsahuje přenašeče pro rozličné látky v celé jeho délce.

2.2. Transport xenobiotik do cílových buněk

Je-li již xenobiotikum obsaženo v krvi, dochází k druhé fázi transportu. Jedná se o distribuci toxické látky do orgánů, tkání a cílových buněk. Největší resorpční plocha a nejdéší doba zadržetí krve (vysoký resorpční čas) je v krevních kapilárách, které vytvářejí bariéru mezi tkáněmi a krví. Jejich stěnu tvoří jedna vrstva spojených endotelových buněk, které jsou obklopeny bazální membránou. Tato bariéra je značně odlišná v různých částech těla, což se projevuje i mírou poškození jednotlivých orgánů škodlivými látkami. Kapilární síť srdečního svalu se vyznačuje přítomností endoteliálních buněk s tzv. transcytotickou aktivitou zabezpečující transport tekutin do intersticia. Při tomto transportu nejsou důležité fyzikálně-chemické vlastnosti látky. Látky se tedy do srdečního svalu dostávají bez jakékoli selekce endocytosou krve. Z tohoto důvodu patří srdce k nejnáchylnějším orgánům k působení xenobiotik. Nejběžnější uspořádání, které se vyskytuje například v pankreatu, je síť krevních kapilár, jejichž buněčné stěny jsou propustné pouze pro látky s nízkou molekulovou hmotností. Značnou překážku pro průchod látek představuje hemoencefalitická bariéra, která neobsahuje žádné póry. Při prostupu touto bariérou musí toxická látka projít endotelovou buňkou (tzn. projít luminální a bazální membránou). Naopak volná výměna látek probíhá mezi játry a krví, kde mají stěny krevních kapilár podobu sítě kterou mohou procházet i makromolekulární látky. Z tohoto důvodu jsou játra nejvíce zasažena při chronických otravách.

Transport látek do buněk může probíhat:

- volnou difuzí, to je významné u lipofilních látek. Rychlost tohoto transportu je závislá na koncentračním gradientu látky v intra- a extracelulárním prostředí a na jejím rozdělovacím koeficientu,
- zprostředkovanou difuzí, jak již bylo zmíněno výše u analog, kdy jsou látky transportovány pomocí přenašečů. Rychlost tohoto transportu je závislá na koncentračním gradientu látky a množství přirozené transportované látky, protože xenobiotikum s ní soutěží o přenašeč (kompetice),
- aktivním transportem, pro který je potřeba energie a to buď ve formě ATP (primární aktivní transport) nebo elektrochemického gradientu iontů, většinou vodíkových (sekundární aktivní transport),
- endocytosou, při které se látka dostává do buňky ve formě roztoku obaleného částí cytoplazmatické membrány. Jako příklad tohoto transportu jsme uvedli vstup látek do buněk srdečního svalu.

Prvá fáze, tj. transport xenobiotik do krve, je vynechána při distribuci xenobiotik do buněk epitelů (žaludek, plíce, kůže), které jsou vystaveny na povrchu organismu. Tyto tkáně jsou proto vystaveny přímému působení xenobiotik, což se projevuje zvýšenou četností jejich onemocnění.

3. Biotransformace a eliminace xenobiotik

V předchozí kapitole byl uveden způsob jak, se xenobiotika dostávají do organismu a cílových buněk v nichž dochází k interakci cizorodé látky s jednotlivými buněčnými komponentami (cytoplazmatická membrána, DNA, proteiny)³. Během evoluce se u jednotlivých organismů vyvinulo mnoho detoxikačních mechanismů. Tyto procesy probíhají ve všech živých systémech a jsou důležité pro zachování jedince, protože při velmi vysoké koncentraci nebo dlouhé době působení toxické látky dochází k irevizibilnímu poškození organismu a tím i k jeho zániku. Způsob detoxikace a exkrece cizorodých látek v živých systémech je závislý na jejich uspořádání a okolním prostředí. U eukaryotických organismů se rozlišují dvě hlavní fáze eliminace xenobiotik.

3.1. I. fáze detoxikace xenobiotik

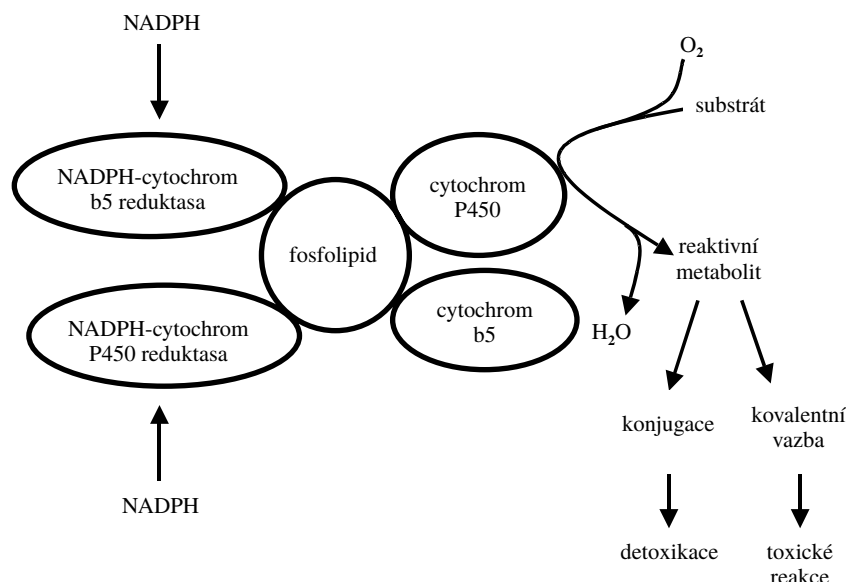
První fáze biotransformace xenobiotik zahrnuje tyto chemické pochody: oxidaci postranního řetězce, hydroxylaci aromatických, deaminaci, tvorbu epoxidů, sulfooxidaci, *N*-hydroxylaci, redukci a hydrolytické reakce. Tyto reakce tedy modifikují molekulu cizorodé látky tak, aby byla schopna konjugace s aminy, kyselinami a alkoholy (II. fáze detoxikace). Produkty těchto reakcí jsou látky mnohem lépe rozpustné ve vodě než původní xenobiotikum, takže nedochází k jejich akumulaci v tělních buňkách, ale jsou vyloučeny z těla ven.

3.1.1. Enzymové systémy I. fáze detoxikace xenobiotik

Většina endogenních látek v organismu je metabolisována enzymy s vysokou specifitou k substrátu. Avšak schopnost biotransformovat xenobiotika vyžaduje jistou „nespecifičnost“ k molekulární struktuře detoxikačních enzymů. Většina organismů takovými enzymy disponuje. V lidském organismu hrají podstatnou roli: cytochrom P450, mono- a dioxygenasy, peroxidasa, fosfatasa a jiné další hydrolasy.

3.1.1.1. Cytochrom P450

Substrátem pro cytochrom P450 (CYP450) jsou jak endogenní metabolity (steroidy, vyšší mastné kyseliny, prostaglandiny), tak i exogenní látky (léky, potravinová aditiva, průmyslové exhaláty), dostávající se do těla potravou, kůží a plícemi. Jedná se o hemoprotein, který má ve své molekule nekovalentně navázan protoporfyrin IX. Po navázání CO absorbuje v pásmu vlnových délek okolo 450 nm (cit.⁴). Přestože tento hemoprotein je přítomen téměř ve všech živých organismech⁵ byl objeven teprve před třiceti léty. Byl nalezen u rostlin^{6,7}, savců⁸, bakterií⁹ a plísňů. U savců je obsažen ve všech typech tkání, kromě svalových buněk a kromě erythrocytů. Nejvíce je zastoupen v jaterní tkáni¹⁰, ve které probíhá největší část detoxikačních pochodů¹¹. Později bylo zjištěno, že jde o celou skupinu proteinů, které jsou evolučně velmi staré, z nichž některé skupiny vznikly genovou duplikací¹², takže některé izoenzymy vykazují vysoký stupeň homologie. Dnes je známo více než 150 izoforem¹³, které se vyskytují hlavně jako membránové proteiny v endoplazmatickém retikulu a peroxisomech. Z enzymologického hlediska můžeme CYP450 zařadit do skupiny NADPH-O₂ dependentních monoxygenas, katalyzujících hydroxylační reakce. Donorem elektronů



Obr. 1. Schematické zobrazení jednotlivých komponent komplexu cytochromu P450

pro monooxygenasový systém cytochromu P450 je NADPH, z něhož jsou elektrony přenášeny flavinovou cytochrom P450 reduktasou na terminální hemoprotein P450, který zároveň váže kyslík a zabudovává jej do molekuly substrátu⁹. Jednotlivé CYP450 se dělí do tříd a podtříd. Každá třída je indukována určitou skupinou látek¹⁴. Každá izoforma CYP450 má rozdílnou K_m pro jednotlivé substráty. Z hlediska detoxikace xenobiotik lze CYP450 rozdělit do čtyř základních tříd¹⁵, které jsou indukovány rozdílnými skupinami látek. Syntéza cytochromů P450 z první třídy je indukována polyaromatickými uhlovodíky skrze tzv. Ah receptor¹⁶. Fenobarbital a látky fenobarbitalového typu indukují tvorbu CYP450 druhé třídy, ale receptor pro tyto látky nebyl doposud nalezen. Glukokortikoid deoxamethason vyvolává zvýšenou tvorbu CYP450 třetí třídy, zatímco peroxisomové proliferátory (velmi různorodá skupina látek) indukují syntézu CYP450 čtvrté třídy¹⁷. Existují ještě další třídy CYP450 mající více členů¹⁸. Isoformy spadající do těchto tříd mají i důležité fyziologické funkce a jejich mutace může vést k velmi závažnému poškození organismu.

3.1.1.2. Ostatní detoxikační enzymy

Mezi další detoxikační enzymy, které katalyzují oxidačně-redukční reakce lze zařadit flavinové monooxygenasy, monoaminoxidasy, alkoholdehydrogenasu, aldehyddehydrogenasy, aldehydoxidasy a xanthinoxidasu¹⁹. Flavinové monooxygenasy²⁰ mohou přeměňovat stejný typ substrátu jako některé izoformy P450. V játrech a placentě se na biotransformaci podílí peroxidasa²¹, která je známa svou širokou paletou substrátů. Hydrolyzu látek, které obsahují esterovou nebo amidovou vazbu, katalyzuje karboxyl esterasa²². Je indukována lipofilními látkami²³, a její nejvyšší obsah je v jaterních buňkách.

3.2. II. fáze detoxikace xenobiotik

Úkolem druhé fáze biotransformace jsou konjugace. Konjugace reakce byly objeveny jako první, protože metabolity toxických látek vzniklé těmito reakcemi jsou při-

tomné v krvi a séru. Můžeme je charakterizovat jako skupinu syntetických metabolických reakcí při kterých xenobiotikum reaguje s endogenní sloučeninou nebo funkční skupinou za vzniku konjugátu, který je obvykle rozpustnější ve vodě než původní látka takto nepozměněná. Sloučenina, která vstupuje do konjugace reakce musí mít ve své molekule skupinu, vhodnou pro reakci s konjugacním činidlem za vzniku stabilního produktu. Tato skupina je buď v xenobiotiku obsažena nebo se vytvoří v první fázi biotransformace. Většina konjugacních reakcí je katalyzována enzymy ze třídy transferas, které jsou dosti málo specifické vůči endogenní konjugacní sloučenině.

3.2.1. Vznik glukosiduronátů

Konjugace s kyselinou glukuronovou patří mezi nejdůležitější konjugace reakce²⁴, protože v ní vystupuje nejvyšší počet xenobiotik, se kterými se vytváří konjugáty. Reakci katalyzuje UDP-glukonosyltransferasa (UDP-GT) a donorem glukuronátu je UDP-glukuronová kyselina. UDP-GT představuje skupinu izoenzymů, které jsou většinou součástí membrán endoplazmatického retikula. Podobně jako u CYP450 jsou jednotlivé izoformy UDP-GT indukovány jednotlivými skupinami látek²⁵. Nejvyšší aktivity UDP-GT byly zjištěny v játrech, v menší míře potom v plicích, kůži a tenkém střevě.

3.2.2. Konjugace se sacharidy

Nejčastější sacharid vystupující v konjugacních reakcích je glukosa. Do reakce vstupuje ve formě UDP-glukosy za vzniku β -glukosidu. Přesná tkáňová lokalizace reakce není doposud známa. Některé dusíkaté látky jsou konjugovány s hydroxylovou skupinou ribosy za vzniku *N*-ribosidů.

3.2.3. Sulfatační, acetylační a methylační reakce

Při sulfátové konjugaci dochází k esterifikaci hydroxylovaných sloučenin kyselinou sírovou²⁶. Do reakce vstupují hlav-

Tabulka II
Klasifikace hlavních typů konjugačních reakcí

Typ reakce	Konjugační činidlo	Reaktivní skupina v xenobiotiku
<i>Reakce s aktivovaným konjugačním činidlem</i>		
Glukuronidace	UDP-glukuronová kys.	-OH, -COOH, -NH ₂ , -NR ₂ ,
Konjugace se sacharidy	UDP-glukosa UDP-xylosa UDP-ribosa	-OH, -COOH, -SH
Sulfatace	PAPS ^a	-OH, NH ₂ , -SH
Methylace	S-adenosylmethionin	-OH, -NH ₂
Acetylace	acetyl	-CoA -OH, -NH ₂
Detoxikace kyanidů	sulfátová síra	-CN
<i>Reakce s aktivovaným xenobiotikem</i>		
Konjugace s glutathionem	glutathion	arenoxidy, epoxidy, alkyl-
Konjugace s aminokyselinou	glycin taurin glutamová kys.	a arylhalogeny -COOH

^a Fosfoadenosylfosfosulfát

ně fenoly, alkoholy, katecholy a hydroxylaminy. Vstupují cí sulfát v aktivované formě 3-fosfoadenosin-5-fosfosulfátu. Z hepatocytů byly izolovány čtyři sulfotransferasy, které nejsou indukovány xenobiotiky. Tato reakce je částečnou alternativou ke glukuronizaci.

Acetylace představuje důležitou metabolickou cestu pro látky obsahující aminoskupinu. reakci katalyzuje *N*-acetyltransferasa²⁷, která se vyskytuje v cytoplazmě ve dvou různých formách, které podléhají odlišné regulaci.

Nejmenší význam pro biotransformaci xenobiotik má methylace. Rozlišujeme *N*- a *O*-methylaci. Methyltransferasy přenášejí methyl z *S*-adenosylmethioninu na vhodný substrát. Všechny methylační reakce probíhají v cytosolu hepatocytů a buňkách nervového vlákna.

3.2.4. Peptidová konjugace

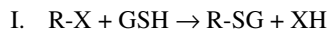
Cyklické a aromatické kyseliny nejsou odbourávány procesem β -oxidace. Většina látek tohoto typu má však velmi nízkou disociační konstantu. Konjugační reakce s aminokyselinami vede ke zvýšení rozpustnosti těchto látek. Pro savce je nejčastější konjugace s glycinem za vzniku hippurových kyselin. Tyto reakce probíhají v matrix mitochondrií, kde jsou aromatické kyseliny aktivované pomocí Acyl-CoA-synthetas²⁸ na Acyl-CoA.

3.2.5. Glutathionový systém detoxikace

Hlavní sloučeninou vystupující v těchto reakcích je tripeptid γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycin, který se vyskytuje ve dvou formách. V redukované formě jako thiol (GSH) a oxidovaná formě jako disulfid (GSSG). Je přítomný ve všech buňkách těla. Kromě důležitých přirozených fyziologických funkcí se též účastní detoxikace xenobiotik.

Konjugaci glutathionu s elektrofilními sloučeninami katalyzuje glutathion-*S*-transferasa²⁹ (GST), což má za následek

urychlení exkrece toxických látek ledvinami. GST byla nalezena v cytosolu a mikrosomech jaterních buněk. Největší význam má membránově vázaná GST, poněvadž se vyskytuje v blízkosti monooxygenasového systému CYP450, takže látky které prošly touto reakcí a jsou relativně hydrofobní a mají tendenci akumulovat se v membránách endoplazmatického retikula a mohou být přeměněny v monooxygenasovým systémem CYP450. Takto vzniklá štafeta, kde xenobiotikum může vstoupit do následných reakcí, umožňuje poměrně vysokou rychlost jeho detoxikace. GST katalyzuje dva druhy reakcí.

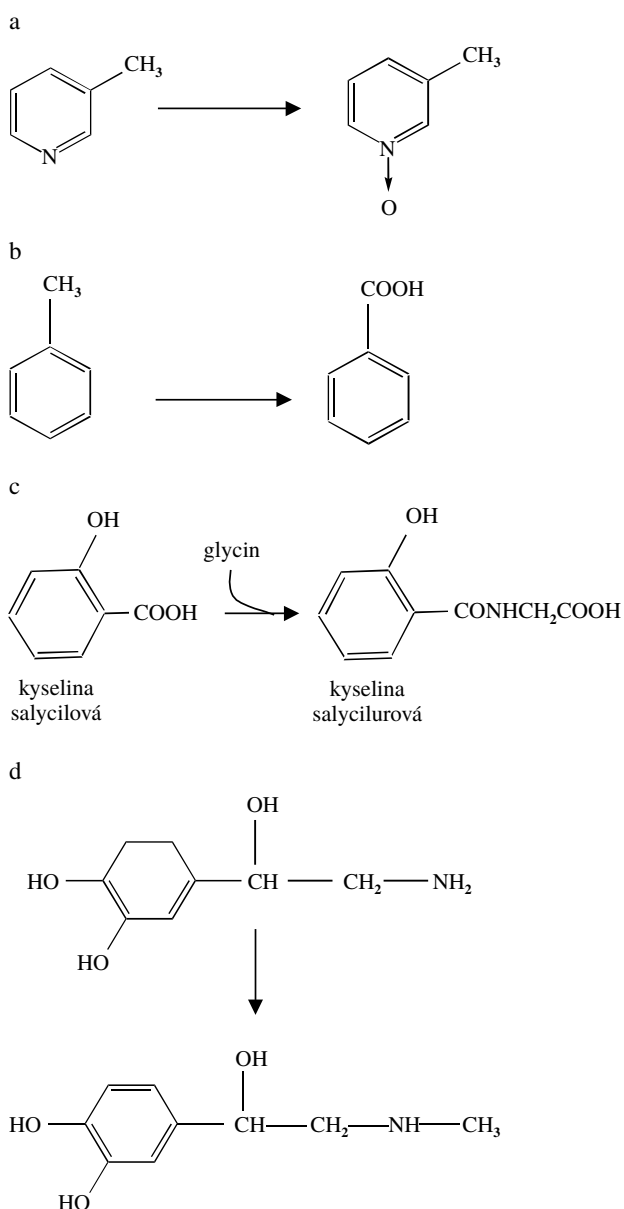


V reakcích prvního typu, do níž vstupují epoxidy, alkyl- a arylhalogenidy, vzniká stabilní konjugát. Ve druhém typu reakce vzniká nestabilní konjugát, který potom samovolně reaguje s další molekulou glutathionu. Toto je typická reakce pro organické hydroperoxydy.

4. Exkrece xenobiotik a jejich metabolitů z organismu

Přeměněné xenobiotikum se z buněk dostává do krve a následně se z organismu vylučuje ve stolici, moči, potu a vydechaném vzduchu. Některé látky, které byly biotransformovány v játrech se mohou dostat do žluči a následně do střeva. Část hydrofilních látek se nemůže ve střevě zpět resorbovat. Někdy ovšem může dojít vlivem bakteriální hydrolyzy konjugátu ke zpětné resorpci toxické látky a vytváří se tak enterohepatální oběh (obdoba u žlučových kyselin) při němž je metabolit udržován v organismu jako v pasti.

Poslední dobou jsou předmětem vysokého zájmu *P*-glykoproteiny, zodpovědné za tzv. multidrug resistance system³⁰.



Obr. 2. Některé typy detoxikačních reakcí – *N*-oxidace (a), oxidace alkylového zbytku CYP450 (b), vznik hippurových kyselin (c), *N*-methylace (d)

Bylo zjištěno, že plní úlohu ochrany živých organismů před vlivy toxických látek v jejich organismu. Jedná se o ATP – dependentní membránové přenašeče organických iontů³¹. Jsou schopné transportovat organické látky z buněčné cytoplazmy do extracelulárního prostředí³². Tak se buňky chrání před vznikem vysoké koncentrace xenobiotika v cytoplazmě. Jeho koncentrace v krvi stoupá a tím se zvyšuje jeho rychlost eliminace ledvinami. Jejich nejčastější výskyt je v endoteliálních buňkách trávicího systému. Inaktivace genů kódujících tyto přenašeče vede ke snížení schopnosti bránit se vlivu toxických látek³⁰.

Za nejdůležitější exkrecní orgán jsou považovány ledvi-

ny³³. Při procesu glomerulární filtrace jsou xenobiotika vylučována v moči s ostatními endogenními metabolity. Při postupné filtraci primární moči se utváří značný koncentrační gradient mezi krví a močí, proto jsou-li látky hydrofilní, mohou se zpět resorbovat, a tím dochází k podobné situaci jako v případě enterohepatálního oběhu. Pro zpětnou resorpci látky v ledvinách má též význam pH moči, které značně určuje množství disociované látky a tím velikost eliminace. Pro plynné metabolity má též význam vydýchání plícemi.

4.1. Toxikokinetika

V předchozích kapitolách byl osvětlen vstup a eliminace xenobiotik v lidském organismu. Tento proces lze za jistých zjednodušujících podmínek popsat jednoduchými rovnicemi. Procesy, jako resorpce nebo eliminace xenobiotika, probíhají exponenciálně, což lze vysvětlit skutečností, že množství látky které projde za časovou jednotku membránou, závisí na koncentračním gradientu mezi dvěma prostory (Fickův zákon). Při renální eliminaci závisí na glomerulární filtraci, která určuje množství látky v primární moči. Jakmile začne klesat koncentrace toxické látky v krvi, bude se příslušně snižovat i její obsah v primární moči.

Exponenciální závislost znamená to, že časový průběh, který je nutný ke snížení koncentrace na polovinu, je konstantní a nezávisí tedy na počáteční koncentraci látky. Tento časový úsek se nazývá poločas ($t_{1/2}$) a je v těsném vztahu k rychlostní konstantě k , která vystupuje ve vztahu $t_{1/2} = \ln 2/k$. Tato vlastnost eliminačních a resorpčních procesů umožňuje v případě eliminace udávat plazmatický objem, který by se za časovou jednotku očistil od látky, kdyby se zbývající látka zase nerozdělovala v celém prostoru. Množství plazmy formálně zbavené toxické látky se označuje jako clearance³⁴. V závislosti na tom zda příčinou poklesu koncentrace látky v krvi je vylučování nebo chemická přeměna, se hovoří o renální nebo jaterní clearanci. Velmi častý je případ kdy se část toxické látky resorbované do krve částečně detoxikuje v játrech a zbylá část je vyloučena ledvinami bez chemické přeměny. Potom je nutné jednotlivé clearance sčítat a tak dostaneme celkovou clearanci (cl_{tot}), která znázorňuje výkonnost eliminačních procesů. Vztah mezi poločasem vyloučené látky a totální clearancí je vyjádřen rovnicí: $t_{1/2} = \ln 2 \cdot V_{ap}/cl_{tot}$ kde V_{ap} je zdánlivý distribuční objem, který je definován jako poměr mezi dávkou toxické látky a objemem plazmy³³.

Při jaterní eliminaci většinou klesá plazmatická hladina látky s časem exponenciálně, neboť metabolisující enzymy působí v rozsahu své aktivační křivky. Proto se s klesající koncentrací snižuje i množství metabolisované látky za časovou jednotku.

Je-li lidský organismus vystaven periodicky vlivu toxic- kých látek, lze pozorovat jejich charakteristický fázovitý koncentrační průběh v plazmě. Hodnoty koncentrací látky v plazmě v různých časech lze popsat pomocí Batematovy funkce. Je nutné podotknout, že průběh této funkce je značně závislý na cestě xenobiotika do organismu.

Po delší době expozice může dojít k akumulaci látky, jejíž velikost lze zjistit z kombinací výše uvedených rovnic. Po jisté době se vytvoří rovnovážný akumulační stav při kterém je rozdíl mezi vstupem a výstupem toxické látky nulový, jedná se tedy o stacionární stav. Výška hladiny kumulační rovnováhy (c_{ss}) závisí na množství látky, která vstupuje do krve, a lze

ji určit z rovnice: $c_{ss} = D/(t \cdot cl)$. Rychlost, jíž je dosaženo kumulační rovnováhy, odpovídá rychlosti eliminace toxické látky. Na závěr je nutné ještě jednou upozornit, že takto odvozené vztahy vychází ze zjednodušujících předpokladů. Přesto se však i s tímto náhledem se lze dostat k poměrně přesným a reprodukovatelným výsledkům.

5. Závěr

V tomto přehledovém článku jsme v krátkosti čtenáři pootevřeli okénko jak se organismus vyrovnává s nežádoucími látkami z okolí. Tato vlastnost je pro organismus bytostně důležitou záležitostí. V současnosti na živý organismus pohlížíme jako na dynamický systém, pro nějž je charakteristická snaha o udržení stacionárního stavu. Vysoké odchylky od stacionárního stavu vedou k nevratnému poškození organismu a následně ke smrti. Takový stav může nastat po expozici organismu škodlivé látky, z tohoto pohledu je schopnost detoxikace jistě zajímavou vlastností, která má své postavení v evolučním procesu organismů. Detoxikační mechanismy mohou však být dvousečnou zbraní. Některá xenobiotika jsou transformována na látky, které jsou pro organismus toxické. Proto je například při onemocnění jater snaha inhibovat jejich cytochromoxidázový systém detoxikace léčiv.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu č. 94009 Československo-americké grantové agentury, grantu č. 96074 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a grantu č. 203/99/1447 GA ČR.

LITERATURA

- Lullmann H., Mohr K., Ziegler A.: *Atlas of Pharmacology*, str. 22. Thieme, Stuttgart 1993.
- Hunt S. M., Groff J. L.: *The Digestive System: Mechanism for Nourishing the Body*, str. 39. Wadsworth, New York 1990.
- Pumford N. R., Halmes N. C.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37, 91 (1997)
- Russel D. W.: *J. Biol. Chem.* 246, 3870 (1971).
- Chapple C.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 311 (1998).
- Bolwell G. P., Bozak K., Zimmerlin A.: *Phytochemistry* 37, 1492 (1989).
- Schuler M. A.: *Crit. Rev. Plant Sci.* 15, 235 (1996).
- Gebthart R.: *Pharmacol. Ther.* 52, 275 (1994).
- Pulos T. L., Cupp J. V., Li H.: *Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry*, sv. 2. Case Bound, New York 1995.
- Jungerman K., Katz N.: *Physiol. Rev.* 69, 708 (1989).
- Oinonen T., Lindros K. O.: *Biochem. J.* 329, 17 (1998).
- Dogra S. C., Whitelaw M. L., May B. K.: *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 25, 1 (1998).
- Sagakuchy M., Mihara K., Sato R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 3361 (1984).
- Honkakoski P., Moore R., Washburn K. A., Negishi M.: *Mol. Pharmacol.* 53, 597 (1998).
- Masters C. J.: *Biochem. Pharm.* 56, 667 (1998).
- Schmidt J. V., Bradfield C. A.: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12, 89 (1996).
- van de Bosh H., Shutgens R. B. H., Wanders R. J. A.: *Annu. Rev. Biochem.* 61, 157 (1992).
- Stiborová M., Hudeček J., Hodek P., Frei E.: *Chem. Listy* 93, 229 (1999).
- Beedham C.: *Pharm. World Sci.* 19, 255 (1997).
- Chung W. G., Park C. S., Roh H. K., Cha Y. N.: *Mol. Cells* 7, 738 (1997).
- Barnea E. R., Sorkin M., Barnea J. D.: *Early Pregnancy* 1, 141 (1995).
- Satoh T., Hiosokava M.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 257 (1998).
- Hosokava M., Maki T., Satoh T.: *Mol. Pharmacol.* 31, 579 (1987).
- Chat M., Suleman G., Roux F., Minn A.: *Life Sci.* 62, 151 (1998).
- Schrenk D.: *Biochem. Pharmacol.* 55, 1155 (1998).
- Beckmann J. D., Henry T., Lee P., Ulphany J.: *Chem. Biol. Interact.* 109, 372 (1998).
- Lyakhovich V. V., Vavilin V. A., Gutkina N. I., Laktonova I. P., Makarova S. I., Mitrofanov D. V., Ostashevsky V. A., Chasovnikova O. B.: *Vopr. Med. Khim.* 43, 330 (1997).
- Terriere L. C.: *Annu. Rev. Entomol.* 29, 71 (1984).
- Rea P. A., Li Z. S., Lu Y. P., Drozdowicz Y. M.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 727 (1998).
- Shinkel A. H.: *Semin. Cancer Biol.* 8, 161 (1997).
- Zhang L., Brett C. M., Biacommini K. M., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 431 (1998).
- Bain L. J., McLachlan J. B., LeBlanc G. A.: *Environ. Health Perspect.* 105, 812 (1997).
- Ito K., Iwatsubo T., Knamitsu S., Nakajima Y., Sugiyama Y.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 461 (1998).
- Houston J. B.: *Biochem. Pharmacol.* 47, 1469 (1997).

Z. Knejzlík, J. Káš, and T. Ruml (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Mechanism of Xenobiotics Entry into the Organism and Their Detoxication**

This review is focused on mechanisms of entry, detoxication and excretion of toxic compounds in mammals. The entry into blood stream and subsequent transport into target cells is discussed. Biotransformation in cells generally proceeds in two major phases, enzymatic and chemical modifications of toxic compounds. The major enzyme system involved in the biotransformation of xenobiotics is the group of cytochromes P450. Formation of new functional groups, which is important for conjugation reactions, is catalyzed by the enzymes. The mechanisms of excretion of toxic compounds from the organism is discussed.

RESPONSIBLE CARE – ODPOVĚDNÉ PODNIKÁNÍ V CHEMII (OD PROGRAMU A KODEXU CHOVÁNÍ KE STRATEGII A KULTUŘE PODNIKÁNÍ A JEDNÁNÍ SVĚTOVÉ CHEMIE)

IVAN ZÍKA

Svaz chemického průmyslu ČR, Kodaňská 46, 100 10 Praha 10

*„Nevíš-li, kam jdeš, nezáleží na tom, kterou cestu zvolíš...“
L. Carroll – Alenka v říši divů*

Došlo dne 2.III.2000

Klíčová slova: chemický průmysl, udržitelný rozvoj, strategie chování

1. Udržitelné podnikání – welfare

Průmyslové i zemědělské podnikání zvyšuje svými hospodářskými výsledky životní úroveň občanů planety, bohužel však nerovnoměrně a často jedněch na úkor druhých. Při svém podnikání se lidstvo jako celek nedokáže vyvarovat poškozování přírody; jde o míru škod. Pokud je pravda, že člověk má v genech práci spojenou s přetvářením hmoty, nesmí její důsledky ohrozit podstatu genetiky – reprodukci flóry a fauny, včetně člověka. V posledních několika desetiletích jsme svědky i účastníky pokusů překonat ambivalentní vztah lidí k důsledkům podnikání. Vzorovým modelem chování se stalo paradigma udržitelného rozvoje. Mnohými kritizované pro svoji všeobsažnost staví proti pouhému ekonomickému růstu další hodnoty – uchování rozmanitostí přírody, prodloužení věku i volného času lidí, šetření neobnovitelnými zdroji, ohled na příští generace. Nutnými, nikoli postačujícími podmínkami úspěšné snahy přispět k prospěchu přírody a lidí jsou 1) znalost důsledků podnikání pro zdraví lidí a životního prostředí, včetně jejich kvantifikace, a připravenost nahradit postupy evidentně nebo potenciálně nebezpečné únosnými, a 2) důvěra většiny, že podnikatelé jsou svědomití při vyhledávání limitů svých činností a sebelákaavějších záměrů, a že přijímají závazky podrobit se jim na úkor části svého zisku. Model udržitelného rozvoje svým úsilím přispět k prospěchu přírody a lidí je stejně špatný jako model demokracie – v obou případech nebyl vynalezen lepší.

2. Důvěryhodnost chemického průmyslu – podmínka udržitelného rozvoje

Chemický průmysl je příkladným odvětvím podnikání, kde se nezdolná invence lidí, od vědců po operátory výroben, podílela na růstu životní úrovně lidstva v uplynulých 150 letech. Hodnocení výsledků by nebylo objektivní, pokud by nezahrmo i důsledky omylů, chybných úvah a neopatrností, k nimž během prudkého vývoje chemického průmyslu došlo. Jejich někdy právem, jindy uměle zveličený dosah snížil hodnotu přínosů chemického průmyslu v očích lidí natolik, že ohrožily důvěryhodnost odvětví. Některé výzkumné objevy

převedené do výrobní praxe a finálních výrobků byly zneužity, důsledky použití některých výrobků, např. léčiv a rostlinolékařských přípravků, se projeví až s odstupem desítek let. Použití některých výrobků bylo proto dodatečně omezeno nebo zakázáno; proto chemický průmysl ve spolupráci s vědecko-výzkumnými pracovišti cílevědomě vzniku takových výrobků brání. Prosazuje, aby snahu zvyšovat účinnost výrobních postupů vyvažovala přiměřená opatření pro snížení rizika vzniku závažných poruch a havárií a jejich důsledků. Vztah veřejnosti k chemickému průmyslu je rozporný. Lidé, kteří se naučili žít s dobrovolně podstupovaným rizikem při jízdě svým autem nebo na sjezdových lyžařských tratích, trvají na tom, aby chemický průmysl kvantifikoval riziko výskytu a následků poruch výroben a přepravy výrobků. Světový chemický průmysl si uvědomil, že takovým požadavkům musí vyhovět, už proto, že byly velmi často oprávněné.

Poznatky z přípravy podkladů pro notifikaci tzv. nových chemických látek v rámci seznamu ELINCS (Evropský seznam chemických látek uváděných na trh a běžně obchodovaných) vyvolaly v Evropské komisi a národních úřadech podezření, zda mezi tzv. „starými“ látkami seznamu EINECS nejsou některé, jejichž rizikovost je nedokonale prozkoumána. Opatrnost vede od roku 1967 Evropskou komisi k rozsáhlé právní regulaci uvádění chemických látek a přípravků na trh a k požadavku doložit míru nebezpečnosti pro látky dlouho běžně používané. Ani úvahy o zřízení „Evropské chemické agentury“ pronesené novou komisařkou EK paní Walströmovou nesvědčí o přemíře důvěry v chemický průmysl...

Odborné i laické veřejnosti známé výjimečné, zato tragické příklady málo odpovědného podnikání považuje světový chemický průmysl od poloviny 70. let za vážnou hrozbu pro svoji další klidnou existenci. Je si vědom toho, že pokles důvěry v účelnost chemických výrobků a výrobních postupů zpochybňuje chod a rozvoj výrobních jednotek, práci ve výzkumných laboratořích a projekčních kancelářích, přípravu nových generací chemiků ve školách, uvádění nových chemických látek a přípravků na trh, obchod s nimi a jejich bezpečné užití konečnými spotřebiteli a zneškodnění jejich zbytků–odpadů. Současnost dává za pravdu těm, kteří považují důvěryhodnost za stejnou hodnotu jako konkurenceschopnost. Celý světový chemický průmysl dobře ví, že v době bleskového šíření zpráv každá nehoda s vážnějšími následky kdekoli poškozují všechny prohlubováním nedůvěry veřejnosti a vyvolává další zpřísnění omezujících právních předpisů a rostoucí ekonomickou regulaci, včetně vyšších nepřímých daní a pojistného.

Státem řízené podniky chemického průmyslu ČR se od 50. let vyvíjely k nadměrné nezávislosti – spolupráce s okolním regionem nebyla příliš citlivá. Přes nízký počet nehod a případů chybného použití výrobků se podniky českého chemického průmyslu setkaly po roce 1989 téměř s chemofobií. S názorem, že cokoli bylo realizováno v období socialismu, bylo chybné, se střetla i jiná odvětví. Snad měly být velké nehody a havárie v zahraničních podnicích předmětem odborného výkladu zaměřeného pro širokou veřejnost. Nelze se divit, že současný chemický průmysl ČR již opět spjatý s regiony díky vyčleněným službám, poskytovaným zaměstna-

neckým místům a radikálně snížené zátěži životního prostředí, nedůvěru občanů, úřadů i zákonodárského sboru překonává obtížně. Bude ještě nějaký čas trvat, než se mu podaří výsledky své cílevědomé práce přesvědčit, že není méně odpovědný v podnikání, než jeho partneři v rozvinutých zemích EU.

Občané ČR jsou tradičně podezíraví vůči úspěšným podnikatelům. Kvalitu a cenu výrobků srovnatelné se zahraničními vítají, pokud je konkurenceschopnost provázena důvěryhodností. Bez toho nelze o omezení právní regulace uvažovat.

3. Selfcontrol – Responsible Care – Odpovědné podnikání v chemii

První programový krok učinil ke své „sebezáchraně“ chemický průmysl v Kanadě před více než 12 lety. Princip dobrovolného omezování podnikatelských aktivit rozvedli v osmi zásadách programu, který nazvali Responsible Care (R.C.), a o výsledky postupného plnění úkolů začali opírat cílevědomé získávání důvěry partnerů – veřejnosti, úřadů, sdělovacích prostředků, nevládních ekologických skupin i investorů. Úspěch programu na severoamerickém kontinentu způsobil, že se program stal během necelých šesti let kodexem odpovědného jednání světového chemického průmyslu, za který se postavili představitelé kontinentálních rad, včetně CEFIC (Evropská rada svazu chemického průmyslu), a světové ICCA (Mezinárodní rada svazu chemického průmyslu). Principy kodexu se staly pro většinu národních svazů chemického průmyslu a pro jejich prozíravé členské společnosti návodem pro zprvu obranné, postupem doby pro ofenzivní jednání vně i uvnitř organizací chemického průmyslu. O výsledky programu opírá světový chemický průmysl své přesvědčení o dosažitelnosti udržitelného rozvoje. S vědomím, že vykazování výsledků vyžaduje sjednotit kritéria a že důvěryhodnost vykazovaných výsledků je přímo úměrná míře nezávislosti, s jakou jsou posuzovány, probíhá na kontinentálních úrovních dobrovolná unifikace ukazatelů plnění dílčích záměrů programu a způsobu nezávislého ověřování jeho výsledků.

Výhrady k programu R.C. se opírají hlavně o jeho nedůsledný vliv na výkonné pracovníky, dělníky a mistry podniků, o převažující subjektivitu hodnocení výsledků, o jeho výjimečnost, která jakoby soupeřila se standardy EMS/EMAS (Systém environmentálně orientovaného řízení/Systém řízení podniku a auditu z hlediska ochrany životního prostředí). Vývoj uplynulých let prokázal, že právě chemickému průmyslu jen standardy řízení nestačí.

Názorným příkladem souboru obranné a ofenzivní činnosti světové a evropské rady chemického průmyslu a jejich národních členských svazů a společností v rámci R.C. je sdružení mimořádných finančních prostředků především nadnárodních společností a výzkumné práce na dlouhodobých projektech HPV (High Production Volume substances) a LRI (Long Range Research Initiative). Projekty vzájemně navazující jsou reakcí na publikovaná alarmující zjištění skupiny vědců (Environmental Defence Fund, U.S.A., 1997, zpráva Toxicity Ignorance), nakolik neúplně jsou ukončeny dávno slíbené vědecko-technické průzkumy rizikovitosti 1000 velkoobjemově vyráběných a běžně používaných chemických látek.

Svaz chemického průmyslu ČR (SCHP) se stal necelé 4 roky od svého založení v roce 1990 asociovaným členem CEFIC na přelomu let 1993–1994. CEFIC nevyžadoval, aby

SCHP v krátké době podřídil spolu s členskými společnostmi své chování zásadám programu R.C.; se znalostí českých výhrad k povinnostem pověřil čelného představitele, aby na setkání manažerů v dubnu 1994 podrobně vysvětlil Program jako výzvu společnostem a svazům chemického průmyslu hledajícím prostor pro další podnikání a ochotným přijmout omezující závazky. Představenstvo SCHP svým rozhodnutím z jara 1994 přistoupilo na výzvu CEFIC stanovit národní svazový kodex R.C. a získat pro něj členské společnosti. S vědomím úkolů vyplývajících z restrukturalizace byl přijat název „Odpovědné podnikání v chemii“. Na říjnovém zahájení mezinárodního veletrhu CHEMTEC '94 sdělil prezident Svazu ministři průmyslu a obchodu, že se k Programu podpisem zavazujícího prohlášení svých generálních ředitelů připojilo prvních 45 společností. O rok později předal prezident SCHP zástupci vlády svazový program a založil tradici každoročního bilancování výsledků členských společností v oblasti ochrany zdraví, životního prostředí a bezpečnosti.

Program R.C. – Odpovědné podnikání v chemii určil osm principů chování:

- 1 – vstřícnost,
- 2 – ochrana zdraví, bezpečnost,
- 3 – komplexní ochrana životního prostředí,
- 4 – zmírnění důsledků ekologických závad,
- 5 – protihavarijní připravenost,
- 6 – environmentálně orientované řízení,
- 7 – výchova a výcvik,
- 8 – informační otevřenost.

Jimi spoluurčil novou strategii chemického průmyslu ČR. Principy nebylo dodnes nutné měnit, jen čas a vývoj názorů dal některým principům širší rozměr, který se odráží ve vývoji kritérií svazové Příručky R.C. pro zavádění a hodnocení programu Responsible Care.

Od roku 1995 umožňuje členství zástupce SCHP ve stálém pracovním výboru R.C. při CEFIC přebírat zkušenosti z praxe národních svazů a společností chemického průmyslu zemí EU a předávat je členským společnostem, podněcovat jejich dobrovolné činnosti a závazky, zprostředkovávat zahraniční pomoc při zavádění standardů EMS/EMAS, konfrontovat dosažené výsledky a získávat argumenty pro oponování předkládaných návrhů chemické a environmentální legislativy. Spolupráce s dalšími evropskými národními svazy dovoluje posoudit, nakolik se daří chemickému průmyslu zvyšovat důvěryhodnost i na mezinárodní úrovni, a oponovat výtkám na adresu ekologického dampingu chemického průmyslu v ČR.

4. R.C. – integrální strategie činností a kultura chování chemického průmyslu – EU/ČR

Výhradám veřejnosti a kritice nepříznivých důsledků podnikatelských aktivit světového chemického průmyslu ze strany odborníků nedokáží čelit samy ani nejlépe technicky vybavené a organizačně rozsáhlé podnikové útvary, kterým je svěřena ochrana zdraví, životního prostředí a provozní a pracovní bezpečnost. Zaujetí, s nímž formulovaly před více než 5 lety podnikové programy R.C. a prosazovaly jejich plnění, už nestačí – nové pojetí R.C. jako strategie vyžaduje celopodnikovou týmovou práci řízenou vrcholovým vedením. K tomu dospěly nadnárodní společnosti i malé podniky ve 2. polovině 90. let. V ČR dlouho zakořeněnou představu o přednostech

organizačního uspořádání založeného na výhodách specializace podnikových útvarů („... na ekologii, kvalitu, rizikový management... máme lidi...“) narušily již dříve zaváděné standardy řízení kvality, vyžadující systémovou souhrn všech útvarů, od výroby po logistiku, marketing a servis zákazníkům. Stejně vysoké uvědomění a jednotný postup všech podnikových útvarů jsou základní podmínkou zavedení standardů environmentálně orientovaného řízení EMS/EMAS. Vyhovět jim vyžaduje stanovit na úrovni vedení podniku cíle, věcně a časově určené kroky k jejich splnění a stále ověřovat míru souladu záměrů a skutečnosti – vedení společnosti odpovídá za znalost a plnění záměrů všemi útvary, protože vedení určilo hlavní cíle – vizi a strategii společnosti. Útvary životního prostředí nemohou být víc než iniciátorem, koordinátorem během přípravy a důležitou informační spojkou pro vrcholové vedení po zavedení standardu. Je dobře, že se vrcholová vedení mnoha společností ujala rozhodující role při zavádění standardů a při prosazování souběžných změn kultury chování jimi řízených podniků. Není dobře, že se zatím český chemický průmysl s jen 6 certifikovanými podniky v rámci zavádění EMS neřadí na žádoucí čelné místo mezi odvětvími českého průmyslu. Proto SCHP vítá zahraniční nabídky podporující přípravu a vlastní zavedení standardů EMS/EMAS. Respektuje tak rozhodnutí představitelů světového chemického průmyslu, kteří dospěli k závěru, že je nezbytné v zájmu důvěryhodnosti, aby bez ohledu na ostré konkurenční vztahy výrobců a obchodníků s chemickými látkami a přípravky převážil zájem realizovat vizi – udržitelný rozvoj odvětví, a přijmout strategii činností – tou se stal ve světovém měřítku „rozšířený a nově chápaný“ Responsible Care. Bez správného pochopení posunu hodnot chování všemi pracovníky a bez soustavného řízení realizace cílevědomě připravených strategických opatření zlepšujících vliv podniku na zdraví a životní prostředí vrcholovým vedením by se osvědčení R. C. stala spolu s certifikáty standardů EMS a s audity EMAS připomínkou neúčelně vynaloženého úsilí a prostředků.

Mimořádnou výkonnost administrativy kontinentální centrály CEFIC, národních svazů zemí EU a jejich členských společností při dobrovolné realizaci jednotné strategie ve jménu udržitelného rozvoje poznali zástupci SCHP a s nimi i dalších svazů chemického průmyslu střední a východní Evropy během tříleté spolupráce zaměřené na přípravu na členství v EU. Podávání zpráv písemnou i ústní formou na předem připravených pracovních jednáních a přenos výsledků do vyšších rozhodovacích úrovní, včetně direktoriátu CEFIC, důsledné plnění dobrovolně přijatých úkolů, respekt vůči národním zvláštnostem a úsilí dosáhnout kompromisem jednoty se osvědčují při postupném rozšiřování působnosti R.C. Strategii R.C. nebude možné realizovat ani v podnicích chemického průmyslu asociovaných zemí bez trvalého dialogu vedení a zaměstnanců – ty považuje R.C. za hlavní zástupce podniků při jejich stycích s občany v okolí. Úzké kontakty hospodářského vedení se zástupci zaměstnanců dovolují získávat od řadových pracovníků aktuální upozornění a podněty podložené praxí. Většina podniků poznala v uplynulých letech cenu dobrých, tj. otevřených a pravidelných vztahů s občany okolí, se samosprávou a s jinými podniky. Splácíme daň čtyřicetiletému vývoji – učíme se zastupovat své zájmy a lobovat pro ně. Hledáme jednotící strategii pro jednání s nezávislými ekologickými organizacemi. Máme mnoho společných problémů s akademickou obcí a jejich řešení může pracovní sblížit obě

strany způsobem, který chemickému průmyslu zemí EU závidíme. Nedostatek času nebo nadměrná opatrnost způsobují, že zapojení do mezinárodních programů vědy a techniky v oblasti chemického průmyslu zaostává za dravými a finančně silnějšími. Pracovní kontakt českých a zahraničních výzkumných pracovišť může jen odborně prospět a zvýšit prestiž české chemii. Je dobře, že si tuzemské banky a pojišťovací ústavy podniků českého chemického průmyslu dosud spíše vážily; povinné pojistné smlouvy předepsané novým zákonem o prevenci závažných havárií snad spolupráci podniků a pojišťoven zvýrazní. Zato nevíšimavost zahraničního kapitálu pocítila většina podniků. Snad je jedním z důvodů zatím krátká doba vstřícnosti, s níž podniky podřizují své chování společnému zájmu o vysokou důvěryhodnost. Získat a udržet ji odpovědným podnikáním v očích všech partnerů, od vlastních zaměstnanců a občanů v okolí po úřady, investory a akcionáře, a vyrovnat se zatím alespoň tak chemickému průmyslu zemí EU je důležitou podmínkou dalšího rozvoje chemie v ČR. Nelze očekávat, že stát by ještě jednou ve velkém měřítku podpořil důvěryhodnost českých podniků podobným způsobem, kterým převzal sanační závazky vyplývající z tzv. starých ekologických škod.

Stále širší dosah strategie R.C. odráží postavení a záměry chemického průmyslu v 1. polovině 21. století. Před chemický průmysl v Evropě a tedy i v ČR, a to ať společnost je nebo není členem SCHP, staví soubor úkolů. Jejich plnění společnostmi bude spouštěcí výkonnost odvětví v době, kdy se globalizace a ekologizace budou doplňovat.

- Neustálé snižování emisí a odpadů nepříznivě ovlivňujících zdraví, životní prostředí, v dílčích případech nad rozsah právních předpisů v rámci vstřícných závazků a dohod s úřady,
- zvyšování spolehlivosti výrobního zařízení a navazujících objektů a činností, včetně logistiky, zejména přepravy nebezpečných látek a přípravků,
- snižování expozice vlastních i externích zaměstnanců nepříznivým provozním vlivům na pracovištích a mimo ně, snižování úrazovosti a preventivní lékařský dohled,
- soustavná výchova a výcvik zaměstnanců k bezpečnému jednání při práci, občanů v okolí ke správnému vědomí, jak jednat v případě ohlášení poruchy s možnými důsledky pro třetí osoby a jejich majetek,
- podpora zavádění standardů EMS/EMAS jako mezinárodně uznaných nástrojů objektivního hodnocení výsledků práce podniků v jedné z důležitých oblastí podřízených strategii R.C., tj. při ochraně životního prostředí,
- Product Stewardship – zvyšování bezpečnosti výrobku na celé jeho dráze od suroviny po zánik, včetně jeho zneškodnění nebo druhotného využití, vstřícné dohody s úřady snižující požadavky právní regulace chemickou legislativou,
- omezování nepříznivých důsledků dopravních nehod při přepravě nebezpečných chemických látek a přípravků provozem dobrovolných informačních systémů národních svazů poskytujících odbornou pomoc zásahovým útvarům (německý TUIS, český TRINS, britský CHEMSAFE), vstřícným převzetím směrnice 96/35/EEC o bezpečnostním porádci a Kodexu odpovědného dopravce do podnikové organizace a smluvních vztahů,
- VEEP (Voluntary Energy Efficiency Programme) – snižování spotřeby paliv a energie, šetření neobnovitelných zdrojů, zvyšování účinnosti energetické přeměny,

- evidence, průzkum vlastností a následků nebezpečných chemických látek, jejich hodnocení a následně omezení jejich nepříznivých vlivů, jejich vyloučení a náhrada příznivějšími pro lidské zdraví a životní prostředí v rámci dlouhodobého LRI (Long Range Research Initiative),
- hodnocení environmentální a ekonomické úrovně provozovaných a vývojových výrobních postupů srovnáním s referenčními dokumenty nejlepších dostupných technik a podřizování rozvojových záměrů do národního práva převedené směrnice 96/61/EC (IPPC),
- podávání objektivních zpráv veřejnosti o emisích vybraných nebezpečných chemických látek do prostředí v rámci připravovaného jednotného evropského registru (EPER),
- podpora výchovy mladé generace chemiků každoroční soutěží evropských středních škol, pořádáním postgraduálních stáží pro výkonné a řídicí pracovníky,
- spolupráce s navazujícími výrobními odvětvími a podniky ochotnými v rámci tzv. Partnership přistoupit na kodex R.C.,
- podpora správné transpozice právních předpisů regulujících v zemích EU chemický průmysl do národního práva asociovaných zemí,
- přesvědčivé, tj. objektivní nezávislé hodnocení výsledků práce společností, mj. za široké účasti zástupců zaměstnanců a občanů regionu.

V takovém rozsahu stanovil CEFIC priority odvětvové strategie pro nejbližší 3 až 4 roky. Jsou výsledkem více než dvouleté přípravy; na jejím konci byly organizační změny struktury CEFIC a uspokojivé závěry výročního mezinárodního semináře v Drážďanech (květen 1999), kde právě zástupci různých externích partnerů („stakeholders“) potvrdili důvěryhodnost chemického průmyslu jako určující podmínku pro jeho další vývoj, v hustě zalidněné Evropě především. Responsible Care není jen odvětvovou strategií, je současně kulturním mostem mezi přírodou a technikou a vědou. Bez vysoké úrovně kultury chování chemického průmyslu v souladu se zásadami R.C. vůči partnerům by jeho důvěryhodnost měla pomíjívat hodnotu.

5. R.C. – Odpovědné podnikání v chemii před vstupem ČR do EU

Málokdo na počátku 90. let věřil, že právě chemický průmysl ČR bude odvětvím, které se relativně rychle přizpůsobí nové struktuře trhu a odbytu při exportu, a že bude odolávat mimořádně ostré zahraniční konkurenci na domácím trhu. Příprava na výhledové připojení ČR k EU bude pro něj další zkouškou, v níž sehraje vedle kvality výrobků a rentability důležitou roli důvěryhodnost jeho podnikání. Musí o ní přesvědčit veřejnost, úřady i investiční kapitál a obchodní partnery v ekonomicky vyspělých zemích.

Do začátku roku 2000 podepsali generální ředitelé 58 členských společností SCHP, tj. většiny výrobních podniků, závazek podřídit podnikání a chování společnosti a jejich zaměstnanců zásadám R.C. Více než polovina společností zveřejňuje údaje o svém vlivu na životní prostředí, jsou v pravidelném kontaktu s představiteli občanů v okolí, předcházejí možným důsledkům nehod vydáváním brožur a letáků a výchovou a cvičeními pro zaměstnance a obyvatelstvo; 13 společností tvoří od roku 1996 na základě dobrovolné dohody s Ředitelstvem hasičského záchranného sboru ČR tzv. TRINS

– nevhodový dopravní informační systém pro pomoc při zásahu v případě dopravní nehody vozidla přepravujícího nebezpečné chemické výrobky. Víceletý projekt Udržitelný rozvoj chemického průmyslu podporovaný 40 společnostmi a MZP nahrazuje chybějící odvětvové výkaznictví emisí a řeší úkoly odvětví související s environmentální a chemickou legislativou ČR a EU. Hodnocení výsledků záměrů R.C. se řídí systémem kritérií a bodů za jejich plnění podle příručky vydané SCHP. Osvědčení R.C. a právo užívat logo na dobu 2 let dosud obdrželo z rukou prezidenta SCHP a předsedy OSCH (Odborný svaz zaměstnanců v chemickém průmyslu) 18 úspěšných členských společností; 9 společností obstálo s úspěchem při obhajobě; současné zastoupení nezávislých členů v hodnotitelské skupině R.C. z řad akademické obce, předsednictva OSCH a ekologických organizací odpovídá názorům CEFIC na postupně zvyšovanou nezávislost ověřování výsledků. Novela příručky s novými 36 kritérii schválená představenstvem a platná od ledna 2000 předpokládá, že hodnocení výsledků činností v rámci R.C. bude od roku 2002 ověřeno v tom regionu, v němž podnik působí za účasti zástupců občanů a úřadů.

Věříme, že chemickému průmyslu v ČR zbývá do doby členství v EU snad ne víc než pět let. Již od roku 2002 dojde ke zcela volnému pohybu zboží přes hranice s EU. Konkurence na trzích a právní a ekonomická regulace budou narůstat v rámci vyrovnávání podmínek podnikání v ČR s EU. Každá regulace, právní nebo ekonomická, jdoucí nad rámec regulace v zemích EU, by působila jako komparativní nevýhoda v době, kdy zbylé komparativní výhody právě chemický průmysl tradičně náročný na vysokou kvalifikaci pracovníků a na vstupy energie a surovin ztratí. Přesvědčit širokou veřejnost, úřady a parlament o své ceně pro národní hospodářství a o šetrném právním prostředí, především pro malé a středně velké podniky, mohou podniky chemického průmyslu a jejich zájmový svaz ekonomickými výsledky, vstřícností závazků a vysokou mírou sebekontroly. Ekonomické výsledky ovlivní morální nátlak EU na modernizaci současných výrobních jednotek do úrovně nejlepších dostupných technik. Těživá hospodářská situace podniků ztěžuje rozhodnutí přijímat např. ekologické závazky nad právní rámec – před tímto dilematem budou stát managementy i v době plné prosperity, protože prostředků je vždy nedostatek. Dobré společnosti uváží možnost zpracování vlastních i cizích odpadů, snížení znečištění vypouštěného do městských kanalizací, vstřícné zpracování pasportů výrobních jednotek pro následné srovnání s BATBREF (Best Available Technique – nejlepší dostupná technika) dokumenty, dobrovolné registry svých emitovaných nebezpečných látek, zvýšení protihavarijní spolehlivosti zařízení, racionalizaci spotřeb paliv a energie, a jistě další technická opatření. Vedení podniků nebudou úspěšná v době pokračující restrukturalizace a redukce zaměstnanecích míst bez těsnější spolupráce se zástupci jejich zaměstnanců. Povede k úmluvám o snižování úrazovosti a rizikovosti pracovišť, o bezpečnostním výcviku zaměstnanců, o jejich důkladné informovanosti o podniku a jeho reprezentaci, o soustavné kvalifikační přípravě a o re-kvalifikaci pracovníků rušených míst. Důvěryhodnost chemického průmyslu „změří“ mladá generace svým zájmem o zaměstnání v jeho podnicích. Přejme jí, aby už pracovala v prostředí velké důvěry veřejnosti v její odpovědnost a trvalé spolupráce jdoucí napříč celým odvětvím

Ani všechny společnosti chemického průmyslu ekonomicky vyspělých zemí EU nevěčnily do své rozvojové strategie

strategii R.C. Tím spíše budou podniky chemického průmyslu ČR řešit pro ně aktuální otázku, zda je nutné nejdříve přežít období restrukturalizace a „odpovědně podnikat“ poté, nebo zda není právě strategie R.C. pro současné kritické období chemického průmyslu prioritou. Managementy se budou ptát „proč postupovat vstřícně nad rámec práva“, „budou tím vyvolané náklady nadbytečné nebo jen dříve vynaložené“, „přinesou mi měřitelnou výhodu“, „je vůbec důvěryhodnost podnikání měřitelná“, „nevýdělá na mé vstřícnosti konkurence“, „umí ocenit moji vstřícnost občané v okolí a úřady“ a „dokážu ji vysvětlit představenstvu, akcionářům, zaměstnancům“? Odpovědět na některé umožní příklady úspěšných společností v ČR; ne všechny bude možné odpovědět v krátkém čase; tázat se a hledat odpovědi je a bude v tomto případě znakem podnikatelské odpovědnosti.

Responsible Care dokázal zprostředkovat dialog i ostře si konkurujících nadnárodních společností chemického průmyslu. Podniky chemického průmyslu ČR budované jako vzájemně propojený komplex mají o důvod víc, aby spolupracovaly nejen jako obchodní partneři. Spoluprací mohou dosáhnout v kratší době, než trvalo podnikům v zemích EU, žádoucího sloučení provozní kázně a kulturou chování – to je, vedle konkurenceschopnosti výrobků, účel, který odpovídá cíli – udržitelně rozvíjet odvětví. Věcný a časový plán činnosti na cestě k pohyblivému cíli stanoví strategie, která by bez Responsible Care nebyla důvěryhodná.

LITERATURA

- Chemicals Management: a CEFIC initiative „Confidence in Chemicals“, CEFIC, březen 1999.
- Wallström, Margot: *Towards a New Strategy for Chemicals*, projev komisařky pro životní prostředí Evr. komise na jednání představitelů evropského chemického průmyslu s externími partnery, Brusel, 6. prosince 1999.
- Odpovědné podnikání v chemii – ochrana zdraví a životního prostředí, bezpečnost – program SCHP ČR – Praha, červen 1995.
- Výroční zpráva SCHP ČR 1996, 1997, 1998.
- Zíka I.: *Druhá etapa programu Responsible Care začala*, Chem. Prum. 6, 27 (1997).
- Příručka pro přípravu, plnění a hodnocení výsledků programu členských společností SCHP ČR – srpen 1996, novela příručky – prosinec 1999.
- Responsible Care Status Report – ICCA, CEFIC 1998.
- Responsible Care Health, Safety and Environmental Reporting guidelines – CEFIC, listopad 1998.
- CEFIC Annual Report 1998.
- CEFIC Responsible Care Report 1998.
- The Relationship of Responsible Care with EMAS and ISO 14001 – CEFIC, duben 1997.
- Facts & Figures – The European chemical industry in a world-wide perspective – CEFIC, listopad 1999.
- VEEP – Voluntary Energy Efficiency Programme 2005 – Monitoring and Methodology – CEFIC, srpen 1997.
- Energetika českého chemického průmyslu, závěrečná zpráva. TECHEM, s.r.o., květen 1998.

Voluntary Initiatives Affecting Training and Education on Safety, Health and Environment in the Chemical Industries – ILO – Ženeva, leden 1999.

CEFIC – PHARE Project on Approximation of Chemical Legislation in Ten CEE Countries – Final Report, leden 1998.

Projekt Udržitelný rozvoj českého chemického průmyslu – závěrečné zprávy 1997, 1998, 1999, TECHEM, s.r.o.

Zíka I.: *Environmental Policy of the Czech Chemical Industry*. Czech Business and Trade 1999, 11.

Silent Revolution – Min. regionálního plánování, územního rozvoje a živ. prostředí Nizoz. království, 1998.

Signals of Change – Business Progress towards Sustainable Development – World Business Council for Sustainable Development (Schmidheiny, S., Chase, R., DeSimone, L.) – Ženeva 1998.

Životní prostředí v Evropské Unii na přelomu století, souhrn – EEA Kodaň, 1999, překlad MŽP, listopad 1999.

Poznámka: polemický tón některých částí svého článku zvolil pisatel záměrně ve snaze povzbudit svědomitého čtenáře k nesouhlasu, k námitkám, připomínkám a podnětům, včetně takových, které s tématem článku souvisejí jen okrajově; děkuje za ně předem a vítá jakýkoli způsob výměny názorů o nich.

I. Zíka (Union of Chemical Industry, Prague): **Responsible Care in Chemistry**

Chemical industry through its products facilitates the human life. Its achievements, conditioned by scientific progress and research, predominate over the damages caused by chemical production and products. The consequences of the damages lead in the general public to reservation and mistrust in chemical industry. The unclear hazard in using some common substances and fear of further development lead the European Commission and national administrations to extraordinary legal and economic regulations of marketing chemical substances and preparations. The low trust in chemical industry in the globalization period has no frontiers. The chemical industry of the Czech Republic encountered its consequences in preparation and fulfilling of regulations of new chemical legislation. The world chemical industry unites its power and financial means, and demonstrates its self-control by accepting and fulfilling obligations in the frame of the programme Responsible Care and by purposeful research of hazard associated with most frequently used substances. The credibility of enterprisintog being of primary importance must be proved. Therefore chemical industry expends substantial financial means and requires that the principle of preventive safety be used in making decisions only exceptionally, in the cases where convincing arguments are still missing. The chemical industry in the Czech Republic, which strives for continuous sustainable development, has no alternative to following the partners – competitors in developed countries. The approach leads to “total” cooperation within the plant and to openness to stimuli from without. Such strategy is a challenge both for top managers of plants and those intellectuals who care about the fate of chemical industry in the Czech Republic.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

GC-MS STANOVENÍ NITROVANÝCH POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ V OVZDUŠÍ

MILAN SEKYRA^a, JAN LENÍČEK^a,
KATEŘINA BEDNÁRKOVÁ^a
a IVAN BENEŠ^b

^aKrajská hygienická stanice, Moskevská 15, 400 78 Ústí nad Labem, ^bOkresní hygienická stanice, Wolkerova 4, 416 65 Teplice

Došlo dne 1.XI.1999

Klíčová slova: GS-MS, nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky, ovzduší

Úvod

Významnou skupinou organických kontaminantů venkovního ovzduší jsou nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky (dále N-PAH). Jejich zdrojem jsou především spalovací procesy. Jsou nacházeny ve výfukových plynech benzinových a diesellových motorů¹⁻³, ve spalinách stacionárních zdrojů i v dalších složkách životního prostředí⁴. Kromě toho vznikají také radikálově iniciovanými reakcemi v atmosféře z mateřských uhlovodíků⁵⁻⁹. Údaje některých autorů o vzniku N-PAH při odběru vzorku však nebyly potvrzeny¹⁰⁻¹². Většina mononitroderivátů a dinitroderivátů jsou silné kancerogeny a mutageny, které působí přímo bez metabolické aktivace^{4,13,14}.

V ovzduší se běžně vyskytují v koncentracích 10^{-2} – 10^0 ng·m⁻³, tj. o několik řádů nižších než mateřské uhlovodíky^{13,15-17}.

Přehled nejužívanějších analytických metod stanovení N-PAH uvádí Barek⁴. Metody stanovení N-PAH ve venkovním ovzduší vycházejí z obecných zásad stanovení semivolatilních látek. Vzorek ovzduší se prosává přes kombinaci filtrů. Předřazený filtr ze skleněných nebo křemenných vláken slouží k zachycení prachových částic se sorbovanými netěkavými N-PAH, v sérii zařazený filtr z polyuretanové pěny (PUF) nebo polymerní sorbent (např. XAD-2) zachycuje těkavější N-PAHs, které jsou ve formě par. Exponované filtry se extrahují v Soxhletově extraktoru nebo v ultrazvukové lázni vhodnými rozpouštědly, extrakt se čistí sloupcovou nebo gelovou chromatografií, případně pomocí HPLC. Přečištěný extrakt se analyzuje nejčastěji pomocí GC-MS nebo HPLC s fluorescenční detekcí, řidčeji pomocí GC s termoionizačním detektorem či detektorem elektronového záhytu^{2,3,11-15,18-29}.

V předkládané práci je popsána metoda odběru a stanovení mononitrovaných polycyklických aromatických uhlovodíků

ve venkovním ovzduší, která spočívá v odběru vzorku na kombinaci křemenného filtru a polyuretanové pěny, extrakci analytů v Soxhletově extraktoru, čištění sloupcovou a HPLC chromatografií s GC-MS analytickou koncovkou.

Experimentální část

Chemikálie

Toluen, hexan, isooktan, cyklohexan, dichlormethan, methanol, diethylether (Merck, BRD) kvality p.a., všechna rozpouštědla před použitím čištěná rektifikací.

Bezvodý síran sodný p.a., Merck, SRN žíhaný 4 hod při 400 °C.

Silikagel 0,063–0,100 mm, Merck, SRN, aktivovaný 5 hodin při 180 °C, po vychladnutí v exsikátoru deaktivovaný přidávkem 5 % vody, homogenizovaný třepáním jednu hodinu na laboratorní třepačce.

Skelná vata Akuver (Vertex Litomyšl) čištěná extrakcí roztokem kyseliny chlorovodíkové 1:1 po dobu 24 hodin a promytá vodou do neutrální reakce, po promytí sušená při teplotě 50 °C po dobu 10–15 hodin.

Standardy

Standardní roztok nitrovaných polyaromatických uhlovodíků PAH Mix 40 (1-nitronaftalen, 2-nitronaftalen, 2-nitrofluoren, 3-nitrofluoranthren, 1-nitropyren, 6-nitrobenzo[a]pyren), koncentrace 10 µg·ml⁻¹ v acetonitrilu, dodavatel Dr. Ehrenstorfer, SRN.

Standardní roztok N-PAH (1-nitronaftalen, 2-nitronaftalen, 9-nitroanthracen, 3-nitrofluoranthren, 1-nitropyren, 7-nitrobenzo[a]anthracen, 6-nitrochrysen) byl připraven z čistých látek (AccuStandards, USA), koncentrace 10 µg·ml⁻¹ v toluenu.

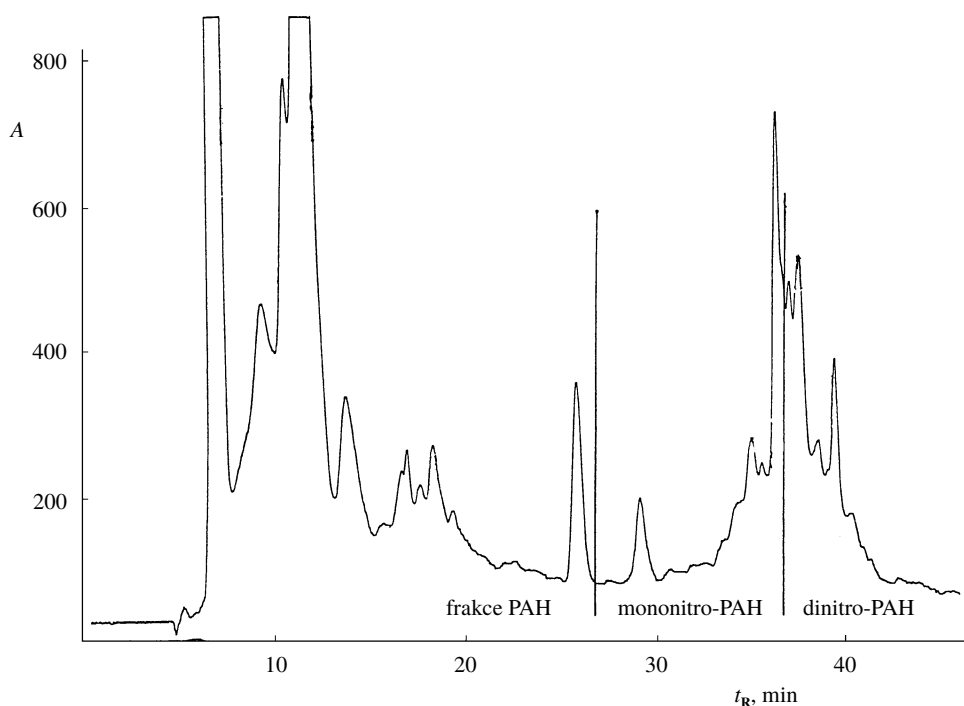
Pracovní roztoky N-PAH o koncentraci 0,1 µg·ml⁻¹, 0,2 µg·ml⁻¹, 0,5 µg·ml⁻¹ a 5 µg·ml⁻¹ byly připravené ředěním obou standardních roztoků toluenem.

Standardní referenční materiál NIST SRM 1650 (USA) s certifikovanými koncentracemi N-PAH (cit.³⁰): 1-nitropyren (19±2 µg·g⁻¹), 9-nitroanthracen (10,0 µg·g⁻¹), 7-nitrobenzo[a]anthracen (2,8 µg·g⁻¹), 6-nitrobenzo[a]pyren (1,6 µg·g⁻¹), 2-nitrofluoren (0,27 µg·g⁻¹).

Odběrová média

Filtry z křemenných vláken (Q filtry) – Quartz Microfibre Filter, průměr 10 cm, Whatman.

Polyuretanová pěna, výška 5 cm, průměr 5 cm, byla čištěna extrakcí v Soxhletově extraktoru po dobu 8 hodin acetonem a následně dvakrát po 4 hodinách 10 % etherem v hexanu. Vyčištěné PUF byly vloženy do exsikátoru a páry rozpouštědla byly odsáty vodní vývěvou. Suché PUF byly zabaleny



Obr. 1. HPLC frakcionace vzorků ovzduší (podmínky analýzy viz text); frakce 27–37 minut obsahuje mononitroderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků

jednotlivě do hliníkové fólie a uloženy v plechové krabici do mrazicího boxu při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Přístroje a pomocná zařízení

Odběrové zařízení Polyuretane Foam Cartridge Sampler, fa Wedding, USA.

HPLC sestava Spectra Physics, USA, pumpa SP 8700, UV detektor SP 8440, integrátor SP 4200, dvoucestný vakuový odplynovač Waters, USA. Dávkovací ventil Rheodyne 7125 se smyčkou 500 μl . Kolona Separon SGX CN 10 μm (250 \times 8 mm) a předkolona SGX CN 7 μm (30 \times 3,3 mm), Tessek, ČR.

Gradientová eluce směsí hexan-dichlormethan. Izokraticky hexanem po dobu 5 minut, gradient do 10 % dichlormethanu v hexanu v průběhu 19 minut, gradient do 100 % dichlormethanu v průběhu dalších 26 minut, izokraticky dichlormethanem po dobu 10 minut. Průtok mobilní fáze 1,5 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$, UV detekce při vlnové délce 254 nm.

Plynový chromatograf HP 5890 II s hmotnostním detektorem MSD 5971, Hewlett Packard, USA.

- kolona HP-5 MS, 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm s křemennou kapilárou 3 m \times 0,53 mm (retention gap), Hewlett-Packard, USA
- nosný plyn He 5.5, průtok 1,2 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$), lineární rychlost 28,8 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
- kolona CP-Sil 13 CB, 25 m \times 0,25 mm \times 0,20 μm s křemennou kapilárou 3 m \times 0,53 mm (retention gap), Chrompack USA
- nosný plyn He 5.5, průtok 1,4 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$), lineární rychlost 35,1 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
- pro obě kolony shodný teplotní program $70\text{ }^{\circ}\text{C} - 2\text{ min} - 10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1} - 300\text{ }^{\circ}\text{C} - 5\text{ min}$

- oplach septa 3,5 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
- přímé dávkování na kolonu, 1 μl
- detektor MSD 280 $^{\circ}\text{C}$, režim SIM

Čas (min)	<i>m/z</i>
7,00	127–173
16,00	165–211–223–176
21,00	227–201–217–247
23,80	226–273–215
26,00	267–297–250

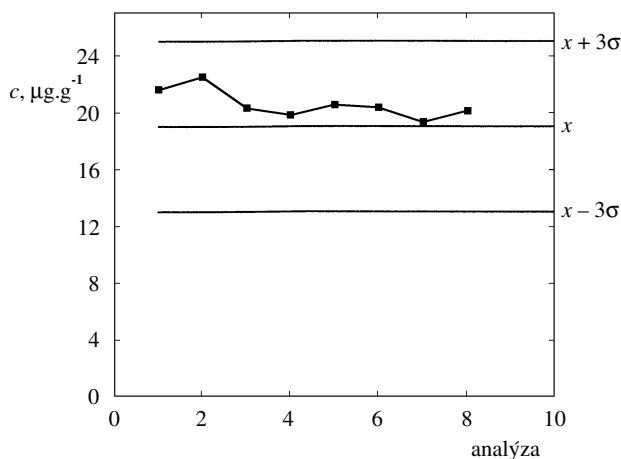
Pracovní postup

Odběr

Pro odběr ovzduší byly použity filtry z křemenných vláken v kombinaci s polyuretanovou pěnou na odběrovém zařízení PFC Sampler firmy Wedding. Vzorky byly odebírány po dobu 24 hodin od 8.00 hod do 8.00 následujícího dne, množství odebraného vzduchu se pohybovalo od 300 do 500 m^3 . Exponované filtry byly do analýzy uloženy zabalené v hliníkové fólii v mrazicím boxu při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, maximálně 3 měsíce.

Extrakce

PUF byl extrahován směsí 10 % diethyletheru a 90 % hexanu v Soxhletově aparatuře 14 hodin při 6 cyklech za



Obr. 2. Regulační diagram – obsah 1-nitropyrenu v NIST SRM 1650; všechny naměřené hodnoty leží v intervalu $\pm 3\sigma$ od deklarované hodnoty x

hodinu. Q filtry byly extrahovány v Soxhletově extraktoru 24 hodin 1 % roztokem methanolu v dichlormethanu. Oba extrakty byly spojeny, po přidavku 25 ml isooktanu odpařeny na rotační vakuové odparce na malý objem cca 1–2 ml.

Čištění extraktu

Skleněná kolona délky 30 cm a průměr 1 cm byla naplněna suspenzí 5 g deaktivovaného silikagelu v hexanu, sloupec silikagelu byl převrstven 1 cm bezvodého síranu sodného. Na tuto kolonu byl kvantitativně převeden zakoncentrovaný extrakt a kolona byla promyta 25 ml hexanu. Jímána byla další frakce 70 ml dichlormethanu v hexanu (1:1) do kulaté baňky a po přidavku 2 ml isooktanu odpařena na rotační vakuové odparce na malý objem. Zahuštěný extrakt byl kvantitativně převeden a doplněn na 1 ml do kalibrované vialky cyklohexanem.

Pomocí dávkovacího ventilu Rheodyne bylo pro HPLC

čištění dávkováno 0,5 ml vzorku a jednotlivé frakce byly jímány do baňky s kulatým dnem. Frakce, obsahující PAH, eluovala mezi 10 a 27 minutou. K analýze N-PAH byla brána frakce, která eluovala od 27 do 37 minut (obr. 1). K tomuto podílu bylo přidáno 0,5 ml toluenu a obsah byl nejprve zahuštěn na rotační vakuové odparce na objem cca 0,5 ml a po odpaření téměř k suchu pod proudem dusíku převeden kvantitativně do 1 ml vialky toluenem.

GC-MS stanovení

Vlastní stanovení N-PAH bylo provedeno pomocí GC-MS za podmínek uvedených v 2.4. Obsah jednotlivých analytů byl stanoven metodou vnější kalibrace a vyjádřen v $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$.

Zabezpečení a kontrola kvality (QA-QC)

Vzhledem k tomu, že N-PAH se vyskytují ve vzorcích ve velmi nízkých koncentracích, některé z nich jsou nestabilní jak při působení slunečního záření, tak při zvýšené nebo dokonce při laboratorní teplotě, byla věnována celému analytickému postupu velká pozornost.

Průměrné hodnoty slepého stanovení pro neexponovaný Q filtr a PUF byly nižší než 5 ng/ vzorek (tj. pod $0,01 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$). Výtěžnost byla stanovena nanesením 250 ng jednotlivých N-PAH na čistý PUF, který byl zpracován stejným způsobem jako vzorek.

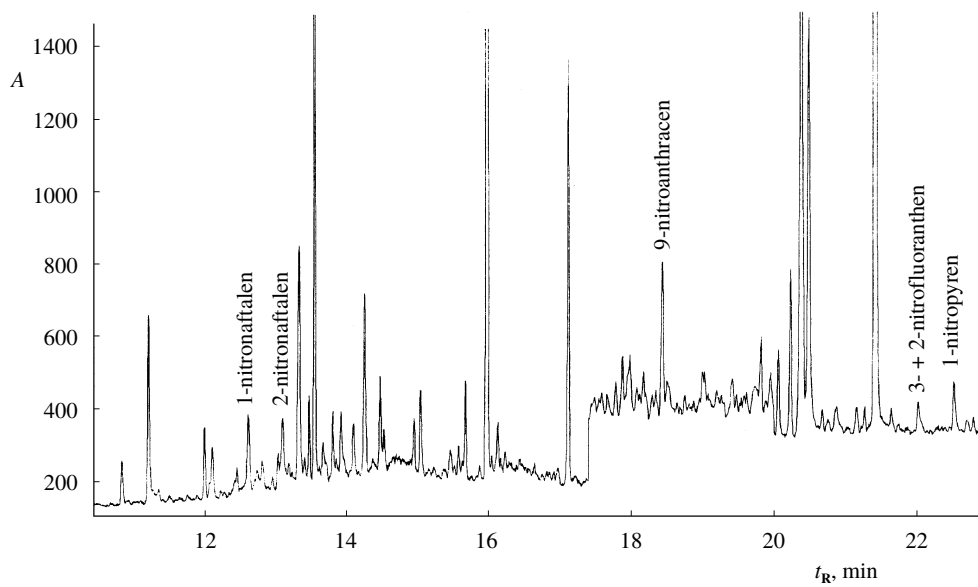
V tabulce I jsou uvedeny výtěžnosti jednotlivých analytů a meze stanovitelnosti metody v pg na nástrík a v $\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$ (při předpokládaném odběru 400 m^3 vzorku).

Správnost analytického postupu byla kontrolována analýzou standardního referenčního materiálu SRM 1650 Diesel Particulate Matter (NIST). Navážka referenčního materiálu byla vložena do extrakční patry a utěsněna skelnou vatou a analyzována stejně jako vzorek. Nalezené obsahy, 2-nitrofluoren – $0,25 \pm 0,058 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 9-nitroanthracen – $11,9 \pm 1,57 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 1-nitropyren – $20,5 \pm 1,03 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 7-nitrobenzo[*a*]anthracen $1,4 \pm 0,082 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($n = 8$), byly v dobré shodě s certifikovanými hodnotami. Regulační diagram pro 1-nitropyren je na obr. 2.

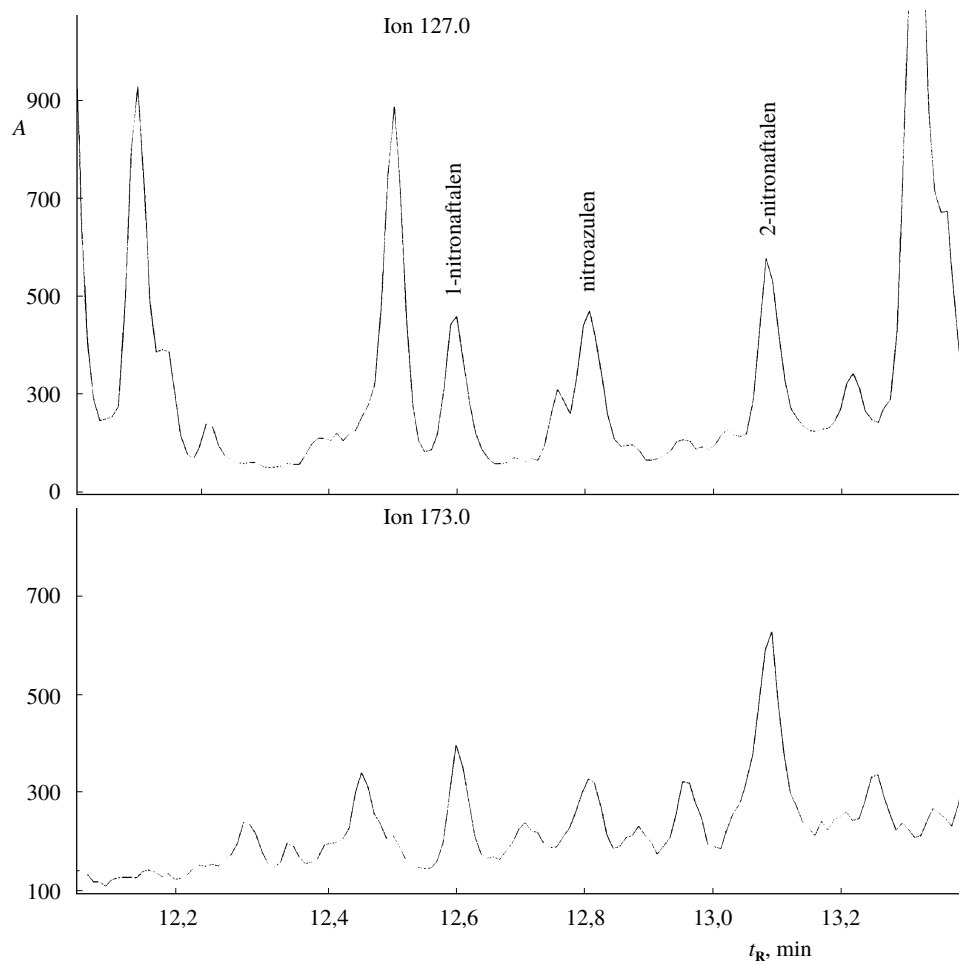
Tabulka I
Výtěžnosti N-PAH

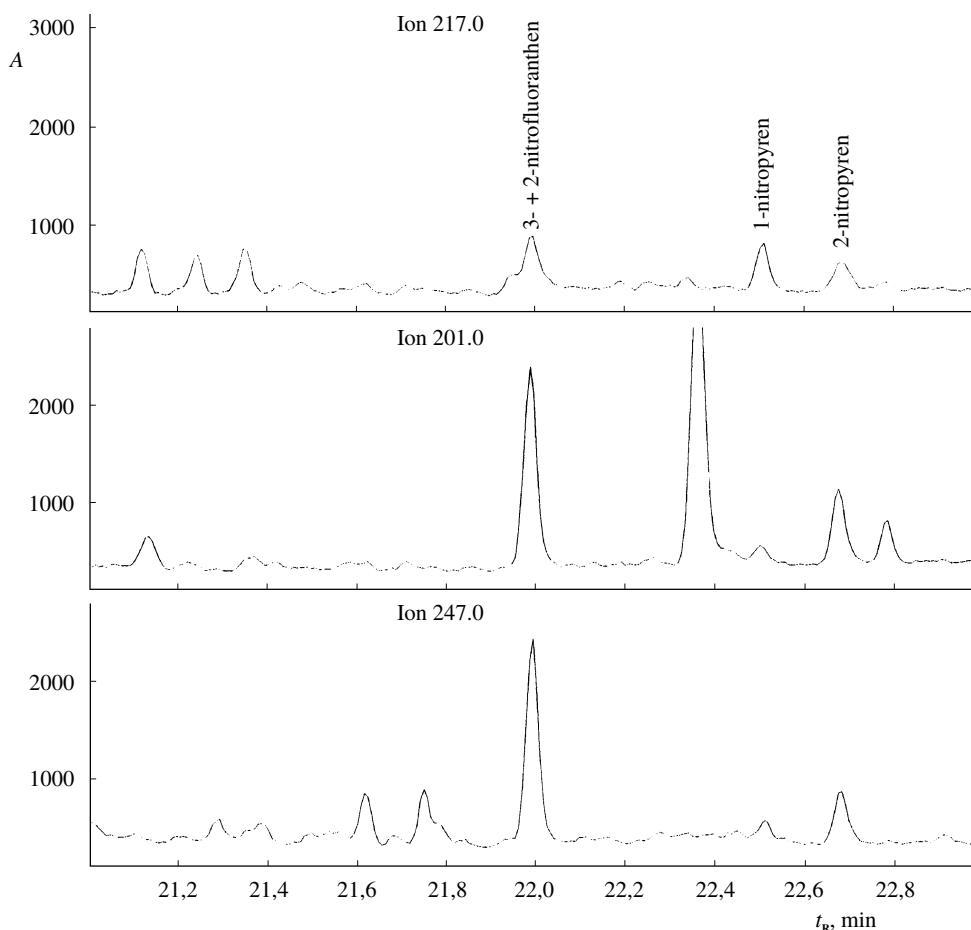
Látka	t_R [min]	Výtěžnost [%]	s^a [%]	Mez stanovitelnosti	
				[pg/nástrík]	[$\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$] ^c
1-Nitronaftalen	12,63	79,9	10,7	5	0,01
2-Nitronaftalen	13,12	86,5	17,8	5	0,01
2-Nitrofluoren	18,13	92,8	22,6	5	0,01
9-Nitroanthracen	18,45	91,0	22,4	5	0,01
3-Nitrofluoranthren	22,07	67,0	^b	10	0,02
1-Nitropyren	22,53	90,0	12,7	5	0,01
7-Nitrobenzo[<i>a</i>]anthracen	24,08	60,0	^b	10	0,02
6-Nitrochrysen	24,73	91,6	17,4	10	0,02
6-Nitrobenzo[<i>a</i>]pyren	27,49	68,5	^b	20	0,05

^a Směrodatná odchylka počítaná z 10 stanovení, ^b provedena pouze 3 stanovení, ^c při předpokládaném odběru 400 m^3 vzorku



Obr. 3. GC-MS chromatogram venkovního ovzduší, Teplice 05.01.1998; kolona HP-5MS, režim detektoru SIM

Obr. 4. Iontový chromatogram vzorku ovzduší, Teplice 17.12.1996; kolona HP-5MS, režim detektoru SIM, monitorované ionty m/z 127 a 173 jsou charakteristické pro 1-nitronaftalen (t_R 12,63) a 2-nitronaftalen (t_R 13,12), látka s t_R 12,78 je pradápodobně nitroazulen



Obr. 5. **Ionový chromatogram vzorku ovzduší**, Teplice 22.2.1998; kolona HP-5MS, režim detektoru SIM, monitorované ionty m/z 217, 201, 247 jsou charakteristické pro mononitrované deriváty fluoranthenu a pyrenu

Výrobce neuvádí expirační dobu standardního roztoku $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ v acetonitrilu. U pracovních standardních roztoků N-PAHs, které byly uchovávány v lednici a ve tmě, byla pozorována nestabilita, zejména u 9-nitroanthracenu. Pokles odezvy detektoru u tohoto analytu činil kolem 10 % měsíčně. Pracovní roztoky byly proto čerstvě připravovány vždy při každé sérii vzorků. Přechištěné vzorky byly analyzovány nejpozději 3 dny po izolaci a čištění.

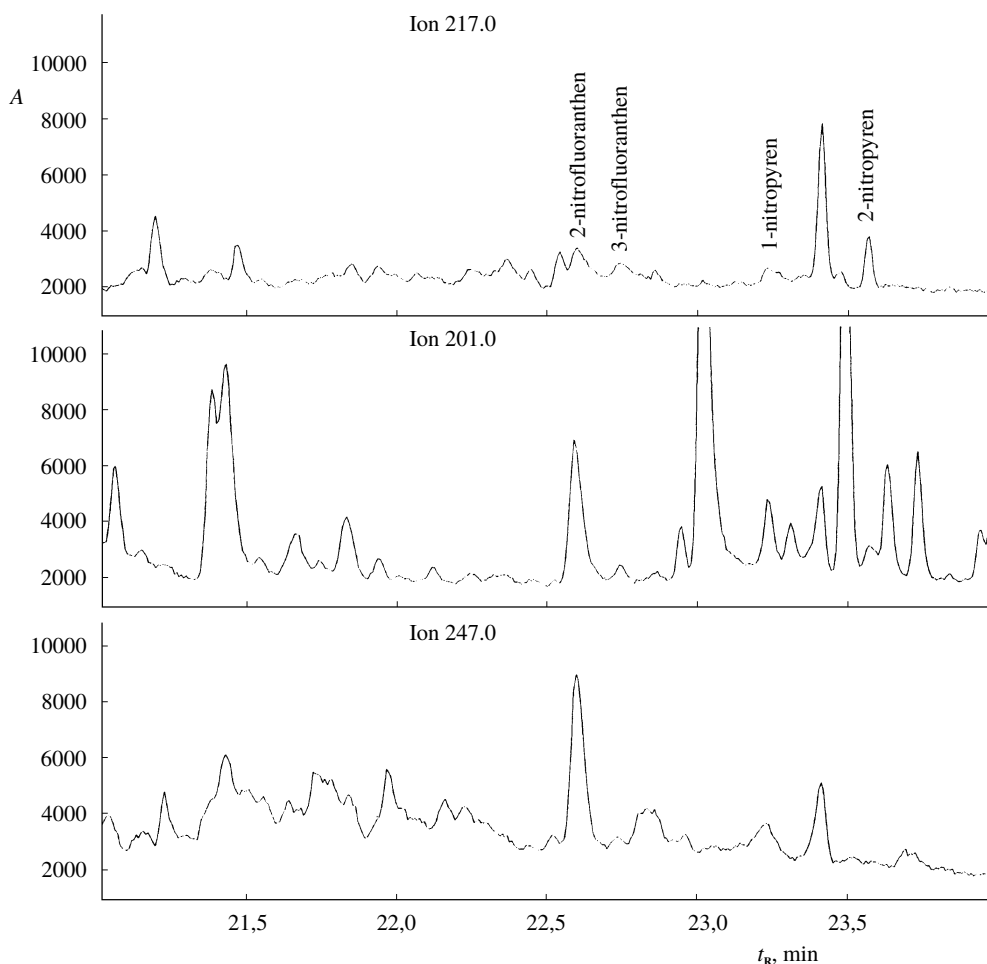
Diskuse

Při analýze směsi standardů N-PAH vykazovaly některé analyty, především 1-nitropyren, nižší termostabilitu. Při použití klasického split/splitless dávkovače, vyhřátého na 250°C , docházelo k částečné degradaci tohoto analytu. Tyto ztráty byly vyšší při analýze reálných vzorků ovzduší, kdy docházelo ke kontaminaci stěn křemenné vložky injektoru. Proto byl v další práci používán přímý nástřik vzorku na kolonu (cool on column injector) a před analytickou kolonu byla předřazena ochranná předkolona, která byla pravidelně po několika analýzách zkracována. Navíc byla aktivní centra vysycena opakovaným dávkováním standardu N-PAH o koncentraci $5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Po této úpravě byla kalibrační závislost lineární v dostatečném rozsahu (R^2 v rozmezí 0,90 až 0,99 pro všechny analyty při dávkovaném množství 100–500 pg).

Zásadní problémy nastaly při analýze reálných vzorků ovzduší. Při izolaci bylo extrahováno velké množství látek, které nebyly odstraněny sloupcovou chromatografií a které interferovaly se stanovovanými analyty. Použití EC detektoru nebo NP detektoru bylo zcela vyloučeno, řešení nepřineslo ani použití MS detektoru, jehož selektivita se ukázala být nedostatečná. Koextrakty se podařilo z větší části odstranit teprve vřazením dalšího čistícího kroku, HPLC chromatografie s normálními fázemi. Osvědčila se kolona s vázaným kyanopropylem, která je dostatečně polární a kvantitativně oddělí N-PAH od polycyklických aromatických uhlovodíků. N-PAH navíc eluují v relativně úzké frakci, lze také oddělit mononitro- od dinitroderivátů (obr. 1). Důležitá je volba rozpouštědla pro dávkování na HPLC kolonu. Optimální se ukázalo použití cyklohexanu, který velice dobře rozpouští N-PAH, nemění však polaritu mobilní fáze. Po této úpravě zůstala metoda dostatečně robustní, bylo dosahováno vyhovujících výtěžností v rozmezí 60–93 % (tab. I). Typický chromatogram vzorku ovzduší je na obr. 3.

Při analýze některých vzorků, především ze zimního období, bylo nutno z chromatogramu extrahovat charakteristické



Obr. 6. **Iontový chromatogram vzorku ovzduší**, Teplice 24.01.1999; středně polární kolona CP-Sil 13 BD, režim detektoru SIM, monitorované ionty 217, 201, 247. Ve vzorku je vedle malého množství 1-nitropyrenu a 3-nitrofluoranthenu přítomen i 2-nitrofluoranthenu a 2-nitropyren

ionty a poměr odezvy detektoru porovnat se standardy. Takto korigované plochy, očištěné od interferencí, byly brány pro výpočet obsahu (obr. 4, 5).

V literatuře^{6,12,29,31} jsou uváděny dva mechanismy vzniku N-PAH: spalováním fosilních paliv (např. 9-nitroanthracen, 3-nitrofluoranthenu, 1-nitropyren), nebo reakcí mateřských uhlovodíků s oxidy dusíku (např. 2-nitrofluoranthenu, 2-nitropyren). Při detailním rozboru chromatografického spektra vzorků ze zimního období byla v mnoha případech vedle 1-nitropyrenu (t_R 22,50) nalezena látka s t_R 22,79 a charakteristickými ionty m/z 201, 217 a 247 (obr. 5). Na základě shody hmotnostního spektra a retenčního času s literárními údaji se domníváme, že se jedná o 2-nitropyren. Přítomnost tohoto analytu potvrzuje, že významným zdrojem N-PAH jsou také reakce v atmosféře.

Za podmínek analýzy na koloně HP-5 se nedělí 3-nitrofluoranthenu a 2-nitrofluoranthenu. Poněvadž v reálných vzorcích ovzduší se mohou vyskytovat oba izomery, byly kvantifikovány na standard 3-nitrofluoranthenu a ve výsledcích uváděna jejich suma. Extrakt z několika vzorků byl analyzován na středně polární koloně CP-Sil 13CB, na které lze oba izomery rozdělit. Iontový chromatogram potvrzuje přítomnost

3-nitrofluoranthenu (t_R 22,68) i 2-nitrofluoranthenu (t_R 22,60), viz obr. 6.

V několika případech byla při analýze reálných vzorků nalezena látka s t_R 12,80 min a charakteristickými ionty m/z 173 a 127 (obr. 4). Předpokládáme v souladu s literaturou²⁹, že se jedná o blíže nespecifikovaný izomer nitroazulenu, který pravděpodobně také vzniká reakcí v atmosféře.

Seznam použitých zkratk

N-PAH	– nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
PUF	– polyuretanová pěna
SIM	– režim monitorování vybraných iontů
t_R	– retenční čas

LITERATURA

1. Tompkins B., Brazell R., Roth M., Ostrum V.: Anal. Chem. 56, 781 (1984).
2. Schuetzle D., Riley T., Prater T., Harvey T., Hunt D.: Anal. Chem. 54, 265 (1982).

3. Tong H. Y., Sweetman J. A., Karasek F. W.: *J. Chromatogr.* 264, 231 (1983).
4. Barek J., Cvačka J., Moreira J. C., Zima J.: *Chem. Listy* 90, 805 (1996).
5. Nielsen T.: *Environ. Sci. Technol.* 18, 157 (1984).
6. Pitts J., Sweetman J., Zielinska B., Winer A., Atkinson R.: *Atmos. Environ.* 19, 1601 (1985).
7. Arey J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A., Ramdahl T., Pitts J.: *Atmos. Environ.* 20, 2239 (1986).
8. Prousek J.: *Chem. Listy* 85, 1176 (1991).
9. Jaeger J.: *J. Chromatogr.* 152, 575 (1978).
10. Arey J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A.: *Environ. Sci. Technol.* 22, 457 (1988).
11. Hartung A., Kraft J., Schulze J., Kiess H., Lies H.-L.: *Chromatographia* 16, 239 (1984).
12. Pitts J., Sweetman J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A., Harger W.: *Environ. Sci. Technol.* 19, 1115 (1985).
13. Lewtas J., Nishioka M., v knize: *Nitroarenes* (Howard P. C., ed.), str. 61. Plenum Press, New York 1990.
14. Xu B. X., Nachtman J., Jin Z. L., Wei E. T., Rappaport S.: *Anal. Chim. Acta* 136, 163 (1982).
15. Matsushita H., Iida Y.: *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 9, 708 (1986).
16. Nielsen T.: *Anal. Chem.* 55, 286 (1983).
17. Arey J., Zielinska B., Atkinson R., Winer A.: *Atmos. Environ.* 21, 1437 (1987).
18. Robbat A., Corco N., Doherty P.: *Anal. Chem.* 58, 2078 (1986).
19. Cicciooli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Liberti A.: *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 11, 306 (1988).
20. Warzecha L.: *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 19, 639 (1996).
21. Baltussen E., Sandra P., Medvedovici A., David F., Janssen H.-G., Cramers C.: *Int. Environ. Technol.* 6, 28 (1996).
22. Oehme M., Mano S., Stray H.: *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 5, 417 (1982).
23. Ramdahl T., Urdal K.: *Anal. Chem.* 54, 2256 (1982).
24. Paputa-Peck M., Marano R. S., Schuetzle D., Riley T. L., Hampton C. V., Prater T. J., Skewes L. M., Jensen T. E., Ruehle P. H., Bosch L. C., Duncan W. P.: *Anal. Chem.* 55, 1946 (1983).
25. Liberti A., Cicciooli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Di-Paolo C.: *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* 7, 389 (1984).
26. Scheepers P. T. J., Velders D. D., Martens M. H., Nordhoek J., Bos R. P.: *J. Chromatogr.* 677, 107 (1994).
27. Ramdahl T., Becher G., Bjoereth A.: *Environ. Sci. Technol.* 16, 861 (1982).
28. Campbell R., Lee M.: *Anal. Chem.* 56, 1026 (1984).
29. Nishioka M., Lewtas J.: *Atmos. Environ.* 264, 2077 (1992).
30. Standard Reference Material 1650: *Diesel Particulate Matter*. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg 1991.
31. Arey J., v knize: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Related Compounds, Chemistry* (Neilson A. J., ed.), str. 347. Springer-Verlag, Berlin 1998.

M. Sekyra^a, J. Leníček^a, K. Bednářková^a, and I. Beneš^b
 (^aRegional Hygienic Station, Ústí nad Labem, ^bDistrict Hygienic Station, Teplice): **GC-MS Determination of Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Atmosphere**

An analytical method for the determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons in air was developed. Samples were collected on a combined quartz and polyurethane foam filter, extracted and purified using column chromatography and HPLC. The nitrated hydrocarbons were analysed by gas chromatography – mass spectrometry. The detection limit is below 0.02 ng.m⁻³ of ambient air.



POSOUZENÍ SPRÁVNOSTI ÚDAJŮ KONTINUÁLNÍHO MĚŘENÍ EMISÍ

FRANTIŠEK SKÁCEL, VIKTOR TEKÁČ
a TOMÁŠ BIČÁK

Ústav plynárenství, koksochemie a ochrany ovzduší, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6,
e-mail: skacelf@vscht.cz, tekacv@vscht.cz, bicakt@vscht.cz

Došlo dne 10.I.2000

Klíčová slova: emise, kontinuální měření, správnost údajů

Obsah

1. Úvod
2. Teoretický základ
 - 2.1. Lineární regrese
 - 2.2. Parametrické a neparametrické testy
3. Ověření účinnosti statistik
 - 3.1. Výsledky měření
 - 3.2. Hodnocení správnosti
4. Závěr

1. Úvod

Poplatky za znečišťování ovzduší vybraného souboru stacionárních zdrojů znečišťování ovzduší zakotvené v zákoně¹ plní v České republice stejně jako v ostatních evropských zemích několik významných funkcí. Jsou ukazatelem ekologické náročnosti příslušné výroby, popř. ekologické zátěže plynoucí z provozování zdroje, a měly by kompenzovat ztráty a škody způsobené jejich provozem. Emise znečišťujících látek se zjišťují ve valné většině případů způsobem závislým na některých faktorech jako je velikost zdroje, ustálenost podmínek provozu zdroje apod. Již v roce 1993 byla nyní již zrušenou vyhláškou² stanovena povinnost provozovatelů velkých zdrojů znečišťování ovzduší instalovat a provozovat systémy pro kontinuální měření emisí nejpozději do 1.1.1996. Podle současně platné legislativní normy³ se kontinuální měření „použije u velkých zdrojů znečišťování v těch případech, kdy se emisního limitu dosahuje úpravou technologického řízení výrobního procesu nebo použitím zařízení k čištění odpadního plynu“. Vzhledem k tomu, že jiným způsobem nelze emisního limitu dosáhnout, týká se toto ustanovení všech velkých zdrojů.

Správnost údajů kontinuálního měření musí být ověřena oprávněnou osobou³ jednou za rok nebo vždy při významném zásahu do měřicího systému nebo technologického procesu nebo významné změně zpracovávaných surovin. Definujeme-li správnost jako těsnost shody mezi výsledkem měření a přijatou referenční hodnotou, kde pojem správnost, pokud se používá pro soubor výsledků zkoušek, zahrnuje kombinaci náhodných složek a běžné systematické chyby, znamená to především určení velikosti celkové nejistoty (chyby) zatěžu-

jící výsledky kontinuálního měření. Orgány státní správy ochrany ovzduší dosud nevydaly závazný pokyn k realizaci tohoto úkolu. Cílem tohoto příspěvku je objasnit některé teoretické a metodologické přístupy k jeho řešení a navrhnout postup ověření.

2. Teoretický základ

Teorie chyb vychází z předpokladu, že výsledek každého měření x_i se může odlišovat od skutečné hodnoty μ_0 , kterou ovšem neznáme. Ve statistické terminologii se tato odchylka nazývá chybou výsledku x_i :

$$e_i = x_i - \mu_0 \quad (1)$$

Jestliže se provede dostatečný počet měření, dosáhne se stabilní průměrné hodnoty, která je odhadem střední hodnoty μ vystihující neomezený počet měření (populaci). Absolutní rozdíl mezi hodnotou μ , reprezentovanou odhadem \bar{x} , a skutečnou hodnotou μ_0 , se nazývá systematickou chybou. Rovnice (1) pak přejde na tvar:

$$e_i = \underbrace{x_i - \mu}_{\text{náhodná chyba}} + \underbrace{\mu - \mu_0}_{\text{systematická chyba}} \quad (2)$$

Velmi přibližně řečeno, náhodné chyby ovlivňují především přesnost měření a jsou proto hodnoceny při posuzování přesnosti metody, zatímco systematické chyby ovlivňují správnost výsledků měření. Tyto závěry je však třeba vnímat jen jako orientační, protože nejsou jednoznačné, stejně jako informace, že náhodné chyby jsou charakterizovány normálním rozdělením. Obvykle se při analýze chyb nejprve hodnotí přesnost, protože systematické chyby lze určit jen tehdy, jsou-li chyby náhodné dostatečně malé a jejich velikost známá. V této souvislosti je nutné si uvědomit, jak velikost náhodných chyb závisí na koncentraci analytu. Dosažitelná přesnost vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou s_r je funkcí koncentrace analytu⁴ x :

$$s_r = 2^{(1-0,5 \log x)} \quad (3)$$

Matrice s proměnnými charakteristikami, jakou je vzorek aerosolu v případě extraktivního nebo proud emitovaného aerosolu v případě neextraktivního vzorkování a analýzy, použití této metody vylučuje. V těchto případech lze výsledky testované metody (hodnoty y_i) posoudit jen porovnáním s výsledky jiné, referenční metody (hodnoty x_i). U této referenční metody se pak předpokládá absence systematické chyby. Obecným postupem je paralelní měření sledované veličiny (proměnné) charakterizující sledovanou matici oběma metodami a získání časové řady párových hodnot. Získané výsledky lze využít několika způsoby:

- a) Nejjednodušším způsobem je vynesení závislosti $y_i = f(x_i)$. V ideálním případě jsou výsledky obou metod v dokonalé korelaci a korelační koeficient r je roven jedné. Samotný korelační koeficient však správnost vyjádřit nemůže a slouží pouze jako prostředek orientačního charakteru.
- b) Vynesením závislosti $y_i = f(x_i)$ lze v ideálním případě dosáhnout regresní přímky probíhající počátkem souřadnic se směrnici rovnou jedné. Jakýkoli posun průsečíku

mimo počátek lze pak hodnotit jako projev systematické chyby. Není-li hodnota směrnice jednotková, lze předpokládat působení proporcionální chyby. Za předpokladu, že výsledky měření hodnocené metody ovlivňují pouze náhodné chyby, lze z hodnoty rozptylu určit nejistotu koeficientů získané lineární regresní závislosti a vyvodit i závěry o správnosti hodnocené metody.

- c) Další alternativou je postup, jehož cílem je určení, zda pozorované odchylky jsou významné či nikoliv. Tento postup může vycházet z předpokladu normálního rozdělení výsledků (například *t*-test) nebo tuto charakteristiku zcela opomíjí (neparametrický test).

Opakovaným měřením referenčního materiálu během kalibrace a analýzou odchylek lze porovnat přesnost obou metod použitím *F*-testu. V další části budou jednotlivé způsoby ověřování správnosti diskutovány.

2.1. Lineární regrese

Lineární regrese je základem pro posouzení nejistot měřené terénní metodou za použití druhé, referenční metody uvedené v mezinárodní normě⁵. K této normě je třeba poznamenat, že je věnována měření znaků kvality venkovního ovzduší, kde se změny složení matrice a stavových podmínek neprojevují tak výrazně. Tento faktor tedy významně snižuje použitelnost této metody v analýze emisí, pokud ji nevylučuje vůbec. Použití této metody je založeno na několika základních předpokladech:

- mezi porovnávanými hodnotami proměnných (hodnoty x_i a y_i) existuje lineární závislost nebo jiná známá a matematicky vyjádřená závislost,
- chyba měření hodnocené metody má normální rozdělení,
- nejistota měření referenční metody je v porovnání s nejistotou metody hodnocené zanedbatelná. Pokud tomu tak není, je mylně přisouzena hodnocené metodě a tím tuto charakteristiku zvyšuje,
- vliv způsobený rozdílným složením vzorků odebraných oběma systémy je zanedbatelný ve srovnání s očekávanou nejistotou hodnocené metody. Pokud tomu tak není, je příslušná nejistota mylně přisouzena hodnocené metodě a tím tuto charakteristiku zvyšuje.

Princip použití této metody vychází ze zpracování *n* párů naměřených hodnot tvořících dvousloupcovou matici $[(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)]$, kde hodnocená metoda produkuje hodnoty y_i a referenční metoda hodnoty x_i . Předpokládá se, že mezi oběma hodnotami existuje lineární závislost vyjádřená vztahem:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x \quad (4)$$

kde \hat{y} je odhad hodnoty *y* příslušné hodnoty *x*.

Rozptyl naměřených hodnot je buď konstantní nebo roste s velikostí měřené veličiny. Závislost rozptylu na velikosti měřené hodnoty lze jednoduše zjistit graficky vynesáním absolutních hodnot reziduí $|r_i|$ proti hodnotám x_i , kde $r_i = y_i - \hat{y}_i$ a \hat{y}_i je předpokládaná hodnota určená výpočtem regresní funkce. Po vynesení této závislosti mohou nastat tři případy:

- a) hodnoty reziduí nezávisí na x_i ,
- b) hodnoty reziduí jsou přímo úměrné x_i ,
- c) hodnoty reziduí nezávisí ani nejsou přímo úměrné x_i .

V prvních dvou případech existuje exaktní řešení spočívající ve výpočtu hodnot koeficientů regresní přímky (4), smě-

rodatných odchylek těchto koeficientů (s_{b_0} a s_{b_1}) a hodnotu rozptylu na této regresní přímce. Ve třetím případě je postup výpočtu koeficientů regresní přímky, směrodatných odchylek těchto koeficientů a rozptylu na této přímce iterační.

2.1.1. Odhad nejistot měření

Koeficienty lineární regresní rovnice b_0 a b_1 v ideálním případě nabývají hodnot 0 a 1. Od těchto uvedených hodnot se tyto koeficienty začnou významně odlišovat, platí-li:

$$|b_0| - 2s_{b_0} > 0 \quad (5)$$

$$|b_1 - 1| - 2s_{b_1} > 0 \quad (6)$$

Pokud se prokáže platnost nerovnic (5) a (6), lze vypočítat velikost systematické chyby v příslušném měřicím rozsahu daném mezními hodnotami zjištěnými referenční metodou:

$$\Delta y = b_0 + (b_1 - 1)x \quad (7)$$

Nejistotu hodnocené metody *U* lze pak vyjádřit pomocí zjištěného rozptylu⁶:

$$U = 2\sqrt{s^2 + (\Delta y)^2} \quad (8)$$

Číselná hodnota nejistoty měření by v každém případě měla být doplněna údaji o podmínkách, za jakých byla dosažena.

2.2. Parametrické a neparametrické testy

2.2.1. Parametrické testy

V reálných případech je nutné předpokládat, že směrodatná odchylka referenční metody není zanedbatelná a je třeba uvažovat o působení náhodných chyb na výsledek měření touto metodou. Posouzení správnosti údajů kontinuálního měření emisí pak přechází v problém dokázat, že dva nezávislé vzorky velikostí n_1 a n_2 s průměry \bar{x}_1 a \bar{x}_2 a rozptyly s_1^2 a s_2^2 pocházejí z jediné populace s průměrem $\mu = \mu_1 = \mu_2$. Tento důkaz se provádí tak, že se zjišťuje, zda se rozdíly výsledků obou metod d_i významně liší od nuly. Pokud jsou tyto rozdíly nenulové, ukazuje to na působení náhodných chyb. K porovnání párových hodnot tvořených výsledky testované a referenční metody se používá *t*-testu nebo *z*-testu. Nejsou-li však splněny podmínky použití těchto testů, mohou produkovat chybné výsledky. V praxi k tomu dochází v následujících situacích:

- Dojde-li ke vzniku systematické chyby jen v několika málo prvcích souboru například působením rušivé látky, náhodná chyba těchto výsledků může maskovat systematickou chybu či jiná systematická chyba jednoho výsledku může přinést velkou hodnotu použitého testu, což vede k mylnému obecnému závěru o správnosti měření.

- *t*-Test nebo *z*-test platí pro konstantní systematickou chybu nebo proporcionální chybu ve velice omezeném rozsahu měřené veličiny, nikoliv však pro širší oblast sledovaného souboru výsledků. Je to dáno tím, že rozdíl mezi oběma metodami nezávisí na obsahu sledovaného analytu. Proportionální chyba na obsahu sledovaného analytu závisí a proto nelze použít

ani parametrického t -testu či z -testu, ani testů neparametrických.

Pro posouzení správnosti výsledků testované metody se zpravidla používá párových hodnot produkovaných paralelním měřením pomocí referenční (hodnoty x_i) a testované metody (hodnoty y_i).

z-Test

Pro velké soubory ($n \geq 30$) jakékoli distribuce hodnot x_i a hodnot y_i získáme soubor odchylek výsledků párových měření d_i charakterizovaný průměrem \bar{d} a rozptylem s_d^2 . Statistika z vypočtená ze vztahu:

$$z = \frac{\bar{d}}{s_d/\sqrt{n}} \quad (9)$$

představuje jednotkovou proměnnou, tzn. proměnnou s normálním rozdělením charakterizovaným průměrem 0 a rozptylem 1. Vypočtená hodnota této statistiky se porovná s tabelovanou teoretickou hodnotou pro zvolenou hladinu významnosti. Zpravidla se použitím oboustranného testu ověřuje platnost nulové hypotézy H_0 oproti alternativní hypotéze H_1 :

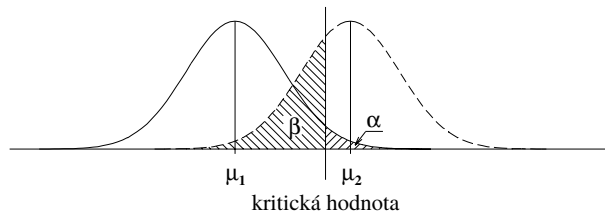
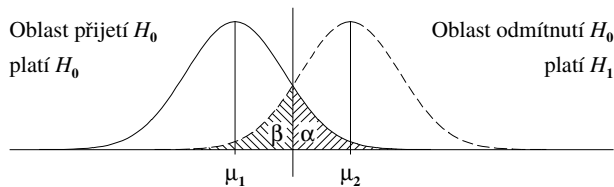
$$H_0: \mu_1 = \mu_2 \quad (10)$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

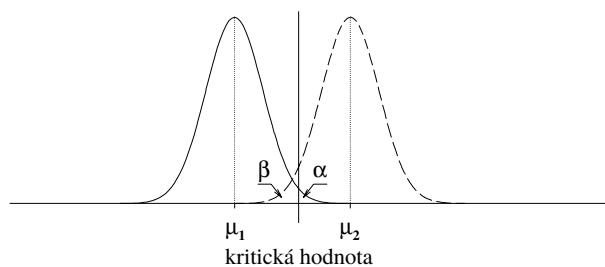
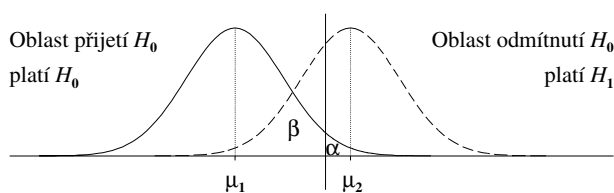
V této souvislosti je třeba zdůraznit, že jedním z nejdůležitějších úkolů při posuzování správnosti funkce posuzovaného systému je experimentální posouzení hypotéz. To vyžaduje objektivní metodu pro odmítnutí či přijetí hypotéz. Metoda musí být založena na dosažené informaci a musí počítat s rizikem, že hodnotitel je náchylný k přijetí chybných rozhodnutí. Riziko této metody tkví ve skutečnosti, že měření se provádí s omezeným výběrem – náhodným vzorkem, což vede ke vzniku nejistot. Příprava zkoušky sestává z řady následných kroků:

- 1) Jasná formulace problému, tzn. otázky, na kterou má zkouška přinést odpověď.
- 2) Volba vhodného testu. Jestliže je možné použít více druhů testů, je třeba zkoumat podmínky použití těchto různých druhů testů.
- 3) Rozhodnutí, na jaké hladině významnosti se zvolený test provede. Tato hladina označovaná jako α je definována jako pravděpodobnost odmítnutí nulové hypotézy jako neplatné přesto, že platí. Hodnota α se obvykle volí 0,05.
- 4) Formulace hypotéz. Ve statistice se uvažují dvě hypotézy. Nulová hypotéza H_0 vždy vylučuje diferenci, zatímco alternativní hypotéza H_1 tuto diferenci potvrzuje.
- 5) Výpočet příslušné statistiky, tj. např. z -testu.
- 6) Porovnání vypočtené hodnoty statistiky (testu) s teoretickou tabelovanou hodnotou pro zvolenou hladinu významnosti a počet stupňů volnosti.
- 7) Rozhodnutí, které závisí na zvoleném testu.

Ani při posuzování oprávněnosti hypotéz se přitom nevyhneme chybám. Hodnota α pak představuje tolerovatelné riziko, které je definováno jako pravděpodobnost, že hypotéza H_0 bude odmítnuta, přestože ve skutečnosti platí. Tato chyba



Obr. 1. Závislost velikosti pravděpodobnosti chyby prvního druhu (α) na velikosti pravděpodobnosti chyby druhého druhu (β)



Obr. 2. Závislost velikosti pravděpodobnosti chyby prvního druhu (α) a chyby druhého druhu (β) na velikosti souboru (n)

se nazývá chybou prvního druhu. Může však nastat i jiná situace, kdy bude nulová hypotéza přijata, přestože ve skutečnosti neplatí. Tato chyba je chybou druhého druhu a její pravděpodobnost se vyjadřuje jako β . Její hodnota se obvykle volí 0,1. Vztah mezi oběma druhy chyb vyplývá z obrázku⁶ (obr. 1), na němž je zobrazena distribuce výsledků měření dvou porovnávaných metod charakterizovaných průměry μ_1 a μ_2 . Vyplývá z něj, že snížením hodnoty α se dosáhne zvýšení hodnoty β . Jediným způsobem, jak snížit velikost obou chyb je zvýšení počtu měření n . To je zřejmé i z dalšího obrázku (obr. 2).

Jednostranným testem lze pak zjistit minimální velikost souboru, nutnou pro dosažení zvolené hodnoty α a β .

$$n = \frac{2(z_\alpha + z_\beta)^2}{D^2} \quad (11)$$

kde z_α a z_β jsou jednotkové normalizované odchylky pro dané hodnoty α a β , a výraz ve jmenovateli se vypočte ze známých hodnot rozptylů obou metod (σ_1^2 a σ_2^2) a zvolené hodnoty δ , která je určena jako významná odchylka. K výpočtu se použije vztahu:

$$D = \frac{\delta}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{2}}} \quad (12)$$

t-Test

Je-li počet párových měření menší než 30, lze při splnění následujících podmínek provést test:

- hodnoty x_i náležejí k populaci s normálním rozdělením. Tuto podmínku lze formulovat i tak, že rozdíly párových hodnot d_i náležejí k populaci s normálním rozdělením,
- rozptyly σ_x^2 a σ_y^2 obou vzorků populace jsou shodné. Tato podmínka se ověří Fisherovým-Snedecorovým F -testem, který spočívá ve výpočtu poměru rozptylů obou vzorků s_x^2 a s_y^2 a porovnání výsledné hodnoty s tabelovanou kritickou hodnotou tohoto kritéria pro zvolenou hladinu významnosti α a příslušný počet stupňů volnosti $\nu = n - 1$. Nulová hypotéza je formulována $H_0 : \sigma_x^2 = \sigma_y^2$, alternativou je hypotéza $H_1 : \sigma_x^2 \neq \sigma_y^2$. Testová statistika:

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d/\sqrt{n}} \quad (13)$$

má pak Studentovo t -rozdělení s $(n - 1)$ stupni volnosti. Testuje se opět platnost nulové hypotézy, která je potvrzena, je-li vypočtená hodnota statistiky menší než tabelovaná teoretická hodnota pro $(n - 1)$ stupňů volnosti.

2.2.2. Neparametrické testy

V reálných podmínkách je podmínka normálního rozdělení výsledků měření, nebo normálního rozdělení chyb měření kteroukoli z metod, často obtížně splnitelná. Existuje pro to několik důvodů:

- heterogenní složení vzorku (matrice),
- měření v okolí meze detekce či stanovitelnosti příslušného analyzátoru,
- zaokrouhlování výsledných hodnot,
- drift nuly či rozsahu aj.

Pokud *a priori* nepřepokládáme normální rozdělení výsledků měření, použijeme metod, které splnění této vstupní podmínky nevyžadují. Tyto metody nevyžadují výpočet parametrů \bar{x} a s , proto se nazývají neparametrické. Jejich výhodou je, že platí vždy a zpravidla se objedou bez složitějších výpočtů. Bohužel jsou méně účinné a vyžadují proto více opakovaných měření pro určitou hodnotu hladiny významnosti v porovnání s metodami parametrickými⁷. Těmto metodám je společné využití pořadí namísto diskrétních hodnot pozorovaných proměnných. Pro posouzení správnosti údajů kontinuálního měření emisí vyhovuje nejlépe Wilcoxonův dvouvýběrový znaménkový test párových hodnot⁸.

3. Ověření účinnosti statistik

Ověření účinnosti uvedených postupů a statistik lze nejlépe dokumentovat na výsledcích paralelního stanovení oxidu dusnatého v emisích reálného plynového kotle metodou nedisperzivní infračervené spektrometrie (metoda 1) a metodou chemiluminiscenční analýzy (metoda 2). Souběžně s oběma automatickými měřicími systémy (AMS) realizujícími hodnocené metody měření byl zapojen i systém, na němž byla uplatněna referenční metoda (metoda R). Princip měření této referenční metody se v tomto případě shodoval s principem měření hodnocenou metodou 2.

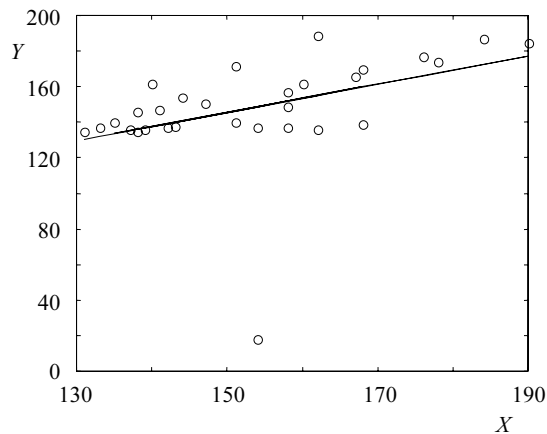
3.1. Výsledky měření

Výsledky získané v průběhu shodného časového intervalu třemi uvedenými metodami jsou uvedeny v tabulce I. Jedná se o třicetiminutové střední hodnoty hmotnostní koncentrace NO, kde každá z uvedených hodnot je aritmetickým průměrem

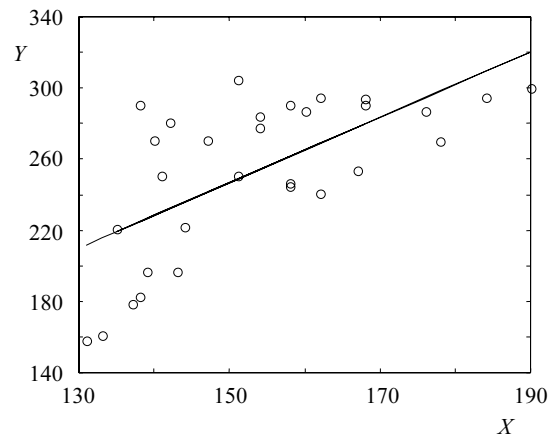
Tabulka I

Hmotnostní koncentrace NO v emisích sledovaného zdroje přepočtené na suchý plyn a normální podmínky (101,325 kPa, 0 °C)

Časový interval	<i>i</i>	Hmotnostní koncentrace NO [mg.m ⁻³] metoda		
		R	1	2
8:00–8:30	1	131	135	158
8:30–9:00	2	133	137	161
9:00–9:30	3	127	136	179
9:30–10:00	4	138	135	183
10:00–10:30	5	139	136	197
10:30–11:00	6	143	138	197
11:00–11:30	7	158	149	247
11:30–12:00	8	141	147	251
12:00–12:30	9	135	140	221
12:30–13:00	10	144	154	222
13:00–13:30	11	158	157	245
13:30–14:00	12	167	166	254
14:00–14:30	13	178	174	270
14:30–15:00	14	190	185	300
15:00–15:30	15	184	187	295
15:30–16:00	16	176	177	287
16:00–16:30	17	168	170	291
16:30–17:00	18	160	162	287
17:00–17:30	19	154	18	278
17:30–18:00	20	147	151	271
18:00–18:30	21	168	139	294
18:30–19:00	22	162	136	295
19:00–19:30	23	158	137	291
19:30–20:00	24	154	137	284
20:00–20:30	25	151	140	305
20:30–21:00	26	142	137	281
21:00–21:30	27	138	146	291
21:30–22:00	28	140	162	271
22:00–22:30	29	151	172	251
22:30–23:00	30	162	189	241



Obr. 3. Graf lineární regresní závislosti výsledků hodnocené metody 1 na výsledcích referenční metody



Obr. 4. Graf lineární regresní závislosti výsledků hodnocené metody 2 na výsledcích referenční metody

30 nezávislých naměřených hodnot hmotnostní koncentrace NO získaných v pravidelných intervalech 1 minuty (cit.⁵). Pro hodnocení byl zvolen soubor obsahující 30 nezávislých výsledků měření ($n = 30$). To je velikost náhodného výběru (vzorku populace), která je všeobecně považována za dostatečně velký vzorek⁷.

V této souvislosti je třeba se zmínit o důležité vlastnosti těchto velkých vzorků. Pro velké vzorky platí, že jejich průměry \bar{x} představují samy o sobě náhodnou proměnnou s normální distribucí kolem střední hodnoty μ a s rozptylem σ^2/n :

$$\bar{x} \approx N\left(\mu, \frac{\sigma^2}{n}\right) \quad (14)$$

přestože nemusí platit, že hodnoty x_i mají v populaci normální rozdělení. Spodní hranice velikosti vzorku je ohraničena velikostí $n = 10$ (cit.⁹).

Prvním krokem zpracování experimentálních výsledků uvedených v tabulce I v praxi často bývá určení korelačních koeficientů lineární regresní závislosti obou hodnocených metod, kde jako hodnot x bylo použito výsledků dosažených referenční metodou a jako hodnot y výsledků dosažených hodnocenou metodou 1 nebo metodou 2. Lineárně regresní závislost zjištěná pro hodnocenou metodu 1 vůči metodě referenční uvádí obrázek 3 a závislost pro hodnocenou metodu 2 vůči metodě referenční obrázek 4. Charakteristické údaje vypočtených lineárně regresních závislostí jsou uvedeny v tabulce II.

Z výsledků uvedených dále v tabulce II vyplývá, že obě hodnocené metody vykazují velmi malou hodnotu korelačního koeficientu. Pouhým porovnáním jejich velikostí lze dojít k závěru, že hodnocená metoda 2 poskytuje lepší výsledky.

3.2. Hodnocení správnosti

K hodnocení správnosti údajů kontinuálního měření lze přistoupit jen po shromáždění dostatečně velkého náhodného vzorku sledované populace. Správnost těchto údajů lze pak hodnotit pouze statisticky jako těsnost shody mezi výsledkem měření AMS a přijatou referenční metodou. K posouzení této

Tabulka II

Charakteristika hodnocených metod 1 a 2 provedená na základě lineárně regresních závislostí výsledků hodnocených metod na výsledcích referenční metody – viz rovnice (4)

Charakteristika	Značka	Metoda	
		1	2
Korelační koeficient	r	0,416 0	0,655 5
Průběžek regresní přímky	b_0	25,66	-29,02
Směrnice regresní přímky	b_1	0,799	1,838
Reziduální součet čtverců	S_0	21 879	32 194
Odhad směrodatné odchylky	s	28	33,9
Odhad rozptylu	s^2	781	1 150

shody byl použit soubor statistických metod zahrnujících metodu pro ověřování správnosti údajů měření kvality venkovního ovzduší⁵ (metoda lineární regrese), dvou parametrických testů (z -test a t -test) a konečně jednoho neparametrického testu (Wilcoxonův test). Ověření účinnosti použitých statistických metod a omezující podmínky jejich použití lze ověřit na konkrétním příkladě.

3.2.1. Lineární regrese

Předpokládáme platnost prvních dvou předpokladů uvedených v části 2.1. Pro volbu strategie výpočtu je třeba nejprve určit druh závislosti rozptylu výsledků hodnocené metody na velikosti měřené hodnoty. To lze jednoduše provést vynesením absolutních hodnot reziduí $|r_i|$ proti hodnotám x_i , kde $r_i = y_i - \hat{y}_i$.

U hodnocené metody 1 předpokládáme, že rozptyl na regresní přímce na proměnné veličině, tj. hodnotě x , nezávisí. Výpočtem lze zjistit, že nerovnice (5) a (6) ani v tomto případě, kdy hodnota rozptylu na regresní přímce na proměnné veličině nezávisí, neplatí. To znamená, že koeficienty regresní přímky se významně odlišují od ideálních hodnot. Pro každou z hodnot naměřených hodnocenou metodou 1 lze určit využitím vztahu (7) velikost systematické chyby Δy . Celková hodnota nejistoty

každého z výsledků měření se při velikosti faktoru pokrytí $k = 2$ vypočítá z rovnice (8) (cit. 6). Hodnota nejistoty kolísá pro daný soubor výsledků okolo průměrné hodnoty $57,2 \text{ mg.m}^{-3}$, s maximální hodnotou $61,3 \text{ mg.m}^{-3}$ a minimální hodnotou $55,9 \text{ mg.m}^{-3}$. Podíl nejistoty a průměrné hodnoty obsahu NO stanovené hodnocenou metodou 1, která činí $148,3 \text{ mg.m}^{-3}$, nabývá relativní hodnoty asi 39 %.

U hodnocené metody 2 předpokládáme, že rozptyl na regresní přímce obecně závisí na proměnné veličině, tj. na hodnotě x . Výpočtem lze zjistit, že nerovnice (5) v tomto případě neplatí. To znamená, že alespoň jeden z koeficientů regresní přímky se významně odlišuje od ideální hodnoty. Pro každou z hodnot naměřených hodnocenou metodou 2 lze určit využitím vztahu (7) velikost systematické chyby Δy . Celková hodnota nejistoty každého z výsledků měření se při velikosti faktoru pokrytí $k = 2$ vypočítá z rovnice (8). Hodnota nejistoty kolísá pro daný soubor výsledků kolem průměrné hodnoty $210,1 \text{ mg.m}^{-3}$ s maximální hodnotou $266,5 \text{ mg.m}^{-3}$ a minimální hodnotou $175,8 \text{ mg.m}^{-3}$. Podíl nejistoty a průměrné hodnoty obsahu NO stanovené hodnocenou metodou 1, která činí $253,3 \text{ mg.m}^{-3}$, nabývá relativní hodnoty asi 83 %.

3.2.2. Parametrické a neparametrické testy

Parametrické i neparametrické testy shodně pracují s rozdílem párových hodnot, tzn. že vycházejí z vektoru odchylek výsledků párových měření d_i charakterizovaných průměrem \bar{d} a rozptylem s_d^2 . Tyto hodnoty získané výpočtem z hodnot uvedených v tab. II jsou přehledně uvedeny v tab. III. Volba vhodného parametrického testu závisí na velikosti souboru výsledků. Vzhledem k velikosti testovaného souboru $n = 30$ lze použít jak testu pro velké soubory ($n \geq 30$), tzn. t -test, tak testu pro malé soubory ($10 < n < 30$). V této souvislosti je zajímavé zjistit, zda uvedený rozsah vyhovuje podle rovnice (11) a (12) podmínce nutné velikosti souboru pro dosažení zvolených hladin významnosti $\alpha = 0,05$ a $\beta = 0,1$.

Tabulka III

Tabulka odchylek d_i vypočtených z naměřených údajů

Pořadí i	d_i metoda		Pořadí i	d_i metoda	
	1	2		1	2
1	-4	-27	16	-1	-111
2	-4	-28	17	-2	-123
3	1	-42	18	-2	-127
4	3	-45	19	136	-124
5	3	-58	20	-4	-124
6	5	-54	21	29	-126
7	9	-89	22	26	-133
8	-6	-110	23	21	-133
9	-5	-86	24	17	-130
10	-10	-78	25	11	-154
11	1	-87	26	5	-139
12	1	-87	27	-8	-153
13	4	92	28	-22	-131
14	5	-110	29	-21	-100
15	-3	-111	30	-27	-79

Vezmeme-li jako základ pro výpočet významné odchylky δ hodnotu 12 % velikosti průměru souboru výsledků referenční metody $\bar{x} = 153,6$, která činí 18,5, lze vypočítat, že při velikosti rozptylů obou metod $\sigma_R^2 = 247,5$ a $\sigma_I^2 = 912,3$ a hodnotách jednotkové normalizované odchylky $z_\alpha = 1,645$ a $z_\beta = 1,282$ pro dané hodnoty α a β činí potřebná velikost vzorku právě $n = 30$.

z-Test

Oboustranným z -testem testujeme nulovou hypotézu $H_0 : \mu_d = 0$. Výpočtem statistiky z rovnice (9) získáme pro parametry charakterizující obě hodnocené metody výsledky uvedené v tab. IV. Vyplyvá z nich, že odchylky zjištěné paralelním měřením referenční metodou a hodnocenou metodou 1 jsou způsobeny jen náhodnými chybami. Měření hodnocenou metodou 2 je zatíženo chybami systematickými.

t-Test

Oboustranným t -testem testujeme nulovou hypotézu $H_0 : \mu_d = 0$. Výpočtem statistiky t (rovnice (13)) získáme pro parametry charakterizující obě hodnocené metody výsledky uvedené v tab. V. Vyplyvá z nich, že odchylky zjištěné paralelním měřením referenční metodou a hodnocenou metodou 1 jsou způsobeny jen náhodnými chybami. Měření hodnocenou metodou 2 je zatíženo chybami systematickými.

Tabulka IV

Výsledky z -testu získané pro obě hodnocené metody získané pro hladiny významnosti $\alpha = 0,05$ a $\beta = 0,1$

Parametr	Značka	Metoda	
		1	2
Průměr odchylek	\bar{d}	5,27	-99,7
Směrodatná odchylka	s	27,65	35,8
Počet párových měření	n	30	30
Statistika	$ z $	1,044	15,24
Teoretická hodnota statistiky z ($\alpha = 0,05, \beta = 0,1$)	z_t	1,96	1,96

Tabulka V

Výsledky t -testu získané pro obě hodnocené metody získané pro hladiny významnosti $\alpha = 0,05$ a $\beta = 0,1$

Parametr	Značka	Metoda	
		1	2
Průměr odchylek	\bar{d}	5,27	-99,7
Směrodatná odchylka	s	27,65	35,8
Počet párových měření	n	30	30
Statistika	$ t $	1,044	15,24
Počet stupňů volnosti	v	29	29
Teoretická hodnota statistiky t ($\alpha = 0,05, \beta = 0,1$)	T_t	2,045	2,045

Neparametrický test

Podobně jako parametrické testy párových proměnných i neparametrické testy vycházejí z hodnot odchylek výsledků referenční a hodnocené metody. Nejvhodnějším testem shody je Wilcoxonův dvouvýběrový znaménkový test. Tímto Wilcoxonovým T -testem testujeme nulovou hypotézu $H_0: \mu_d = 0$. Platí-li tato hypotéza, lze očekávat, že součet pořadí pozitivních odchylek (T_+) se bude blížit součtu pořadí negativních odchylek (T_-). Z rovnice:

$$T = \min(T_+, T_-) \quad (15)$$

se vypočte hodnota T kritéria a porovná s kritickou hodnotou tohoto kritéria pro danou velikost vzorku n a zvolenou hladinu významnosti α . Z vypočtených hodnot odchylek d_i uvedených v tabulce VII získáme pro obě hodnocené metody hodnoty součtu pořadí dvouvýběrového znaménkového Wilcoxonova T -testu. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tab. VI.

Tabulka VI

Hodnoty součtu pořadí dvouvýběrového znaménkového Wilcoxonova T -testu

Hodnota součtu pořadí	Metoda	
	1	2
T_+	253,75	0
T_-	206,25	465
T	206,25	0

Je-li vypočtená hodnota T kritéria rovna nebo je menší než tabelovaná kritická hodnota T_{krit} , je nulová hypotéza odmítnuta. Pro $n = 30$ a $\alpha = 0,05$ platí $T_{krit} = 137$. Z údajů uvedených v tab. VI vyplývá, že u hodnocené metody 1 je nulová hypotéza přijata, zatímco u hodnocené metody 2 je odmítnuta. Soubory výsledků referenční metody a hodnocené metody 1 tedy představují dva náhodné výběry z téže populace.

4. Závěr

Správnost údajů kontinuálního měření nelze provést na základě hodnocení velikosti korelačního koeficientu charakterizujícím závislost výsledků hodnocené i referenční metody.

Analýza regresní závislosti výsledků hodnocené metody jako funkce výsledků metody referenční vychází z předpokladů, že mezi uvedenými soubory naměřených výsledků existuje lineární nebo jiná matematicky známá závislost a chyba měření hodnocené metody má normální rozdělení. Tyto předpoklady však v daném případě nemusí platit, zvláště je-li hodnocená metoda zatížena systematickou chybou.

Poměrně jednodušší postup spočívá v použití parametrických testů. Je založen na předpokladu, že výsledky hodnocené metody jsou zatíženy pouze náhodnými chybami. Pro velké soubory párových hodnot ($n \geq 30$) mohou mít výsledky referenční metody jakékoli rozdělení. Pomocí z -testu lze ověřit platnost výchozího předpokladu o náhodném charakteru chyb

výsledků hodnocené metody. Je-li k dispozici malý soubor těchto párových hodnot, tj. $10 < n < 30$, musí být splněny další výchozí předpoklady. Výsledky referenční metody musí mít normální rozdělení a rozptýly obou souborů hodnot, tzn. výsledků hodnocené a referenční metody, musí být shodné. Platnost výchozího předpokladu o náhodném charakteru chyb výsledků hodnocené metody lze v tomto případě ověřit t -testem.

Alternativou parametrických testů jsou neparametrické testy, jejichž cílem je určení, zda pozorované odchylky výsledků hodnocené a referenční metody jsou významné či nikoliv. Nejvhodnější z nich, Wilcoxonův dvouvýběrový znaménkový test, zcela opomíjí předpoklad normálního rozdělení výsledků podobně jako parametrický z -test. Pro soubory párových hodnot v širokém rozmezí velikostí ($n > 10$) lze tímto testem ověřit platnost výchozího předpokladu o náhodném charakteru chyb výsledků hodnocené metody.

Postup ověření správnosti údajů kontinuálního měření by měl sestávat z posloupnosti několika kroků. Nejprve by měla být posouzena závislost $y_i = f(x_i)$ s cílem přibližně (kvalitativně) určit význam jednotlivých druhů chyb. Dalším nezbytným krokem musí být exaktní řešení problému. To spočívá v použití Wilcoxonova dvouvýběrového znaménkového testu. Tento neparametrický test je pro účely ověřování správnosti údajů kontinuálního měření nejvýhodnější.

Hodnocení správnosti údajů kontinuálního měření je po teoretické i praktické stránce řešitelným problémem. Otázkou zůstává realizace v praxi. Na základě našich zkušeností v této oblasti lze jednoznačně konstatovat, že pro tento úkol je třeba odborné způsobilosti nejen ve smyslu zákona¹, ale i odborné způsobilosti vycházející z teoretického a technického zázemí. Toto zázemí mohou v České republice poskytnout jen autorizované laboratoře při vědeckých institucích jako jsou vysoké školy, ústavy Akademie věd ČR nebo autorizované laboratoře, které vznikly z těchto institucí a pokračují ve výzkumu v oblasti ochrany ovzduší, tzn. mají k řešení diskutovaného problému potřebné personální předpoklady.

LITERATURA

1. Zákon č. 309 ze dne 9.7.1991 o ochraně ovzduší před znečišťujícími látkami (zákon o ovzduší). Sbírka zákonů č. 309/1991.
2. Vyhláška MŽP č. 270 ze dne 7.10.1993 o způsobu zjišťování emisí a o technických prostředcích pro jejich měření u velkých a středních zdrojů znečišťování. Sbírka zákonů č. 270/1993.
3. Vyhláška MŽP č. 117 ze dne 12.5.1997, kterou se stanovují emisní limity a další podmínky provozování stacionárních zdrojů znečišťování a ochrany ovzduší. Sbírka zákonů č. 117/1997.
4. Horwitz W., Kamps L. R., Boyer K. W.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62, 1344 (1980).
5. ISO 13 752: Air Quality – Assessment of Uncertainty of a Measurement Method under Field Conditions Using a Second Method as Reference. International Organization for Standardization, Geneve 1998.
6. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. International Organization for Standardization, Geneve 1993.

7. Massart D. L., Vandeginste B. G. M., Deming S. N., Michotte Y., Kaufman L.: *Chemometrics*. Elsevier, Amsterdam 1988.
8. Siegel S.: *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*, str. 178. McGraw-Hill, New York 1956.
9. IUPAC: *Compendium of Analytical Nomenclature*. Pergamon Press, Oxford 1978.

F. Skácel, V. Tekáč, and T. Bičák (*Department of Gas Technology, Coking Chemistry and Air Protection, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Assessment of Uncertainty of an Automated System Monitoring Emissions of a Stationary Source Using a Second Method as Reference**

The measurement uncertainties of an automated system monitoring emissions of a stationary source are evaluated in

practice using various methods. The most common is calculation of correlation coefficients for two obtained sets of results, i.e., for the evaluated and reference methods. This solution often brings erroneous findings. Another approach consists in the use of linear regression methods. It is assumed that there is a linear relation between the measured pairs resulting from the evaluated and reference methods. The uncertainty of a monitored value is derived from the regression function and the variance function. Another method should be found in the case when the assumption is not valid or when the standard deviation of the reference sample is not negligible. A procedure for large samples and for any distribution of results of the reference method is the use of parametric *z*-test or *t*-test for small samples and normally distributed results of the reference method. An alternative method is the non-parametric Wilcoxon matched-pair signed-rank test. All the mentioned procedures were tested on sets of experimental results.

Ústav anorganické chemie VŠCHT Praha

přijme

vědecko-výzkumného pracovníka

s perspektivou zapojení do výuky

Nabízíme: zajímavou vědeckou práci v oblasti chemie pevných látek nebo chemie koordinačních sloučenin, možnost zahraniční spolupráce, práce s mladými lidmi, možnost případného doktorského studia.

Požadujeme: vzdělání chemického zaměření, předpoklady pro vědeckou a pedagogickou práci

Předpokládaný nástup: konec roku 2000, začátek 2001

Bližší informace: Ústav anorganické chemie VŠCHT Praha
doc. Ing. V. Flemr, CSc., tel. 2435 4129
doc. Ing. O. Smrčková, CSc., tel. 2435 4051

MODELOVÁNÍ REDISTRIBUCE TOXICKÝCH PRVKŮ V ŘÍČNÍCH SEDIMENTECH

ZDENĚK BOROVEC

Ministerstvo životního prostředí, Vršovická 65, 100 10 Praha 10,
e-mail: borovec@env.cz

Došlo dne 15.III.2000

Klíčová slova: toxické prvky, sekvenční analýza, říční sedimenty, modelování, redistribuce

Obsah

1. Úvod
2. Odběr vzorků a jejich laboratorní úprava
3. Sekvenční analýza
4. Chemická analýza
5. Výsledky a diskuse
6. Závěr

1. Úvod

Mobilita a redistribuce toxických prvků v terestrickém a akvatickém prostředí jsou ovlivněny chemickým stavem prvků, které se dostaly do vody z přírodních nebo antropogenních zdrojů, charakterem vzájemně působících procesů (sorpcie/desorpcie, srážení, koprecipitace, tvorba anorganických a organických komplexů atd.), chemickým složením vody, intenzitou promíchávání obou fází, velikostí částic pevné fáze, dobou kontaktu, koncentrací a složením pevné fáze, změnami pH a oxidačně redukčního potenciálu^{1,2}.

Z hlediska redistribuce prvků se v akvatickém prostředí jednotlivé složky sedimentu chovají rozdílně, proto je pro posouzení ekotoxikologického rizika těchto prvků žádoucí znát nejen jejich celkový obsah v sedimentu, ale především jejich rozdělení (speciati) mezi individuálními složkami pevné fáze a charakter jejich vazby. Teoretický přístup k řešení tohoto problému není možný pro nedostatek přesných termodynamických dat.

Předmětem této práce bylo zjistit rozdělení Fe, Mn, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb a Zn mezi složkami říčního sedimentu a experimentálně osvětlit jejich možnou migraci a redistribuci při změnách přírodních podmínek vyvolaných:

- redukčním prostředím s bakteriální aktivitou po pohřbení (převrstvení) sedimentu,
- vymrazením kapaliny, vyvolané zmrznutím sedimentu mimo řeku,
- provzdušněním anoxického sedimentu po jeho resuspenzaci,
- vysušením sedimentu.

Distribuce prvků mezi složkami sedimentu byla zjištěna šestistupňovou sekvenční extrakcí řadou chemických činidel s rostoucí reaktivitou³.

2. Odběr vzorků a jejich laboratorní úprava

Anoxická bahna byla pro toto studium odebrána ze čtyř antropogenně kontaminovaných lokalit v místech jejich přirozených akumulací mimo hlavní proud řeky Labe mezi Kolínem a Nymburkem z hloubky ~50 cm. Uvedené výsledky jsou průměrnými hodnotami. Vzorky byly odebrány do tmavých polyethylenových lahví. Po odběru vzorků v terénu a po laboratorní úpravě byly probublány plynným N₂ tak, aby obsah kyslíku byl minimální. V laboratoři byla na sítěch oddělena zrnitostní frakce ≤63 μm, která byla rozdělena na čtyři dílčí vzorky:

- A, původní vzorek říčního sedimentu, odebraný v anoxickém prostředí;
- B, suspenze anoxického sedimentu byla probublávána po dobu 48 hodin filtrovaným vzduchem při laboratorní teplotě;
- C, anoxický sediment byl vymrazen do suchého stavu;
- D, anoxický sediment byl vysušen v proudě horkého vzduchu při 60 °C po dobu 24 hodin.

Takto upravené vzorky byly podrobeny šestistupňové sekvenční extrakci.

Roztoky a pevná fáze, použité pro první čtyři stupně byly před extrakcí probublávány N₂, stejně jako extrakce prvních 4 stupňů byly provedeny v atmosféře plynného N₂. Smyslem použití plynného N₂ bylo snížit na minimum transport kovů mezi jednotlivými složkami sedimentu při přípravě vzorků a tím zabránit zkreslení výsledků extrakce⁴. Veškeré operace, od odběru vzorků po sekvenční analýzu, byly provedeny v tmavě zabarvených lahvích, s výjimkou 4. a následujících extrakčních stupňů, neboť redukční účinek oxalátového tlumiče je katalyzován slunečním světlem nebo UV zářením⁵.

3. Sekvenční analýza

Po separaci zrnitostní frakce ≤63 μm a úpravě vzorků na čtyři dílčí vzorky byla pro každý vzorek provedena šestistupňová sekvenční analýza podle následujícího postupu^{3,4} (obr. 1):

- 1. stupeň: koncentrace výměnných iontů byla ve vzorcích zjištěna extrakcí pevné fáze po dobu 8 hodin roztokem CH₃COONH₄ o koncentraci 1 mol.l⁻¹ při pH 8,3 a laboratorní teplotě; poměr s/l byl 1:20;
- 2. stupeň: obsah prvků, vázaných v karbonátech nebo adsorbovaných na pevné fázi byl zjištěn extrakcí roztokem CH₃COONH₄ o koncentraci 1 mol.l⁻¹ po dobu 5 hodin při pH 4,8 a laboratorní teplotě; pH bylo upraveno kyselinou octovou; poměr s/l byl 1:20. Kersten a Förstner⁴ doporučují přidat k výluhům z 1. a 2. stupně EDTA pro zabránění srážení kovů před jejich analytickým stanovením;
- 3. stupeň: obsah prvků, vázaných ve snadno redukovatelných složkách sedimentu (např. v hydratovaných oxidech Mn) byl stanoven extrakcí po dobu 12 hodin roztokem NH₂OH.HCl o koncentraci 1 mol.l⁻¹ při pH 2,0 a laboratorní teplotě; pH bylo upraveno kyselinou octovou, poměr s/l byl 1:100. Hydroxylaminhydrochloridem byly snadno převedeny do roztoku špatně krystalované hydratované oxidy Mn, ale k rozpuštění dobře krystalického pyrolusitu (MnO₂) bylo zapotřebí delší doby (>30 min) (cit.⁶). Z amorfních hydratovaných oxidů Fe, hematitu, goethitu a magnetitu přechází do roztoku jen stopové množství Fe.

Při použití $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ o koncentraci $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v 25 % HOAc při teplotě $96\pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ za občasného míchání po dobu 6 hodin lze však společně rozpustit hydratované oxidy Fe a Mn a tím i zjistit sumární obsah kovů vázaný těmito oxidy⁷;

- 4. stupeň: koncentrace prvků, vázaných na středně redukovatelné složky sedimentu (např. v hydratovaných oxidech Fe), byla zjištěna extrakcí na světle po dobu 4 hodin $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ oxalátovým tlumičem o pH 3,0 při $80 \text{ }^\circ\text{C}$; poměr s/l byl 1:100. Extrakci bylo nutno provést na světle, neboť v tmavém prostředí nedochází k úplnému rozpuštění hematitu a goethitu⁶. Spolu s Fe z hydratovaných oxidů se do roztoku uvolnily Al a Si z amorfních hydratovaných oxidů a z jílových minerálů o špatně uspořádané struktuře⁸.
- 5. stupeň: obsah prvků, vázaných v sulfidech a v „labilní“ organické hmotě byl zjištěn extrakcí 30 % H_2O_2 při pH 2 a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 hodin; acidita byla upravena HNO_3 a poměr s/l byl 1:100. Odcentrifugovaná pevná fáze byla promyta roztokem NH_4OAc o koncentraci $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ v 6 % HNO_3 . Pro selektivní odlišení kovů, vázaných v sulfidech a v organické hmotě je nutno⁹ provést extrakci s H_2O_2 v přítomnosti kyseliny askorbové;
- 6. stupeň: obsah prvků vázaných v reziduu byl zjištěn extrakcí vzorků horkou konc. HNO_3 s 30 % H_2O_2 (2:1). Tessier at al.¹⁰ použili k tomuto účelu pro reziduum obsahující smektity nebo kaolinitové minerály směs $\text{HF}+\text{HClO}_4$ (2:1) nebo H_3PO_4 při $290 \text{ }^\circ\text{C}$.

Poslední, 6. stupeň, není ve výsledcích uváděn, neboť sloužil pouze pro kontrolu analýzy, kdy byly srovnávány sumární obsahy uvolněných prvků ze všech šesti stupňů s jejich obsahem, zjištěným kompletní elementární analýzou původního vzorku o velikosti zrn $\leq 63 \mu\text{m}$.

Ze studovaných prvků vykazovaly nejvýraznější asociaci s reziduální frakcí Fe (cca 40 % z celkového obsahu zůstává vázáno v reziduu), Cr a Ni (po 30 %); to znamená, že v předmětných sedimentech jsou tyto prvky převážně terestrického původu. Obsah ostatních prvků vázaných v reziduální frakci klesal v pořadí $\text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Cd}$, což znamená, že v této posloupnosti roste jejich antropogenní původ³.

4. Chemická analýza

Koncentrace prvků uvolněných do roztoku při extrakci byla po oddělení pevné fáze centrifugací při 5000 rpm stanovena metodou atomové absorpční spektrometrie na přístroji Varian model SpectrAA-300P; měření bylo provedeno s korekcí neselektivní absorpce pomocí deuteriového kontinua. Koncentrace prvků pod hranicí detekce plamenové techniky byla zjištěna za použití spektrometru firmy Varian model SpectrAA-300Z a grafitového atomizéru v argonové atmosféře. Vyhodnocení výsledků měření bylo provedeno metodou kalibrační křivky, kde složení roztoků se co nejvíce blížilo analyzovaným vzorkům. Pro ověření metody byly změřeny vždy 3–4 vzorky v každé sadě metodou standardního přídatku.

5. Výsledky a diskuse

A. Ve studovaných anoxických sedimentech bylo v průměru 60 % Mn a 35 % Fe vázáno v karbonátech nebo adsorbováno

na zrnech pevné fáze, zbytek byl výměnný amonium acetátem (téměř 20 % Mn a 15 % Fe) nebo tvořil samostatnou fázi amorfních hydratovaných oxidů manganu (10 %) a železa (30 % Fe). To je konzistentní s řadou jiných studií^{11,12}, podle nichž je v redukčním prostředí sedimentů více než 1/3 Fe ve formě volných částic amorfního hydratovaného oxidu Fe(III), který může koexistovat se sulfidy. Na rozdíl od ostatních prvků bylo organickou hmotou nebo též v sulfidech vázáno nejmenší množství obou kovů (2 % Mn a 10 % Fe); jejich obsah se jen nepatrně zvýšil po vymrazení anoxických sedimentů, po probublání anoxické suspenze vzduchem i po vysušení sedimentů na vzduchu. V přírodních vzorcích z oxické zóny (označ. E) bylo vázáno v organické hmotě/sulfidech pouze 14 % Mn a 16 % Fe.

Byla zjištěna dominantní úloha organických substrátů pro vazbu Cu (94 %), Cd (91 %) a Pb (72 %) (obr. 1), která je zvláště významná pro přenos těchto prvků do biologického systému. Rozdíl ve vazbě těchto prvků organickou hmotou jsou vysvětlovány z hlediska koncepce tzv. „vysokoenergetických“ a „nízkoenergetických“ prvků^{13,14}. Měď a Pb reagují přednostně s „vysokoenergetickým“ typem ligandů organické hmoty říčních sedimentů obsahující atomy O, F nebo N, zatímco Cd preferuje „nízkoenergetický“ typ ligandů obsahující S^{2-} , SH^- , CN^- , Cl^- nebo I^- (cit.¹³). Přestože Cu a Pb preferují stejný typ ligandů, rozdíl mezi množstvím organickou hmotou vázaného Cu a Pb je patrně ovlivněn schopností Cu tvořit komplexy o větší stabilitě s organickými ligandy než Pb (cit.¹⁵).

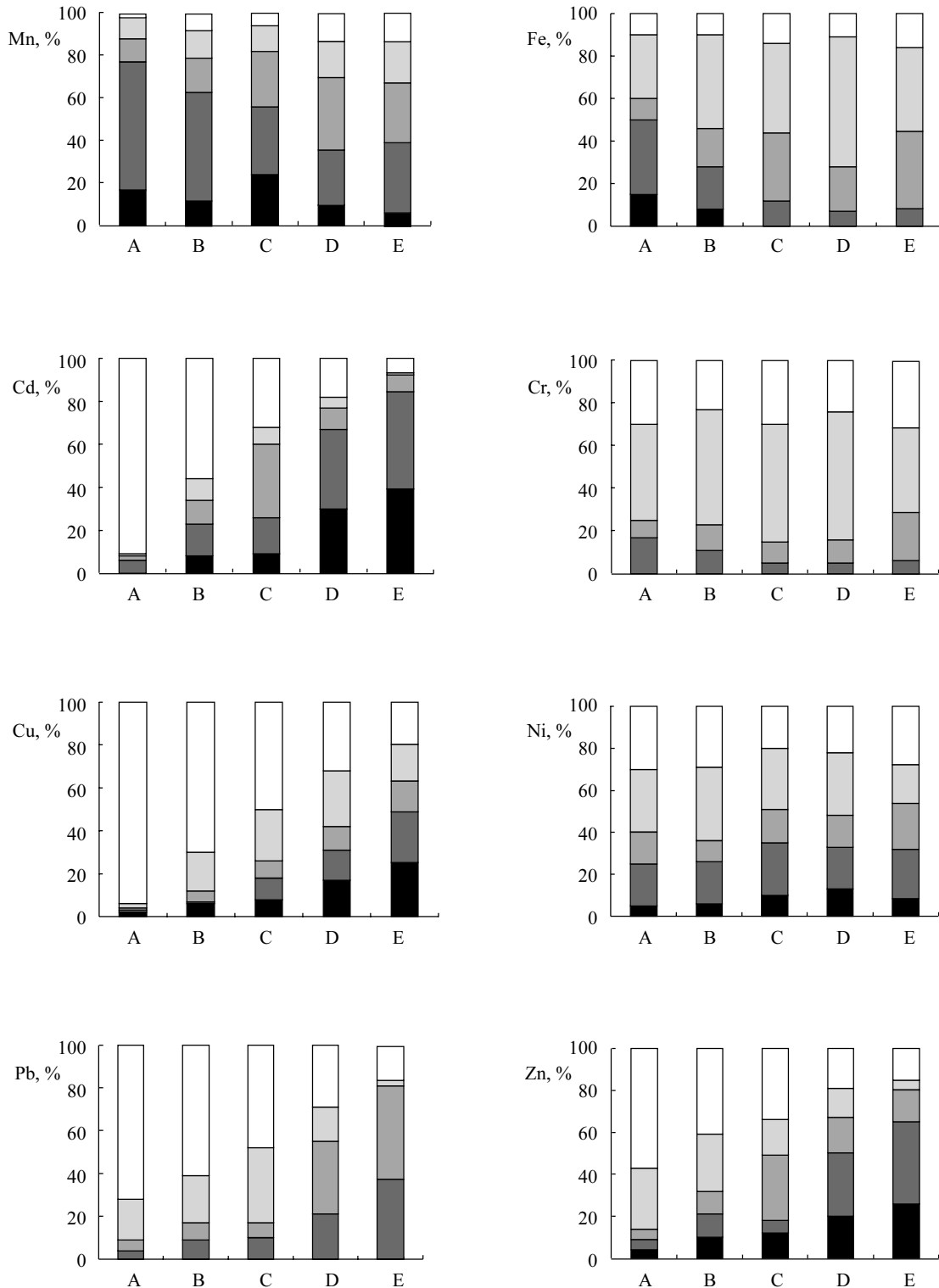
Z ostatních prvků bylo v anoxickém prostředí vázáno téměř 60 % Zn, 30 % Cr a Ni organickou hmotou nebo v sulfidické složce. Zbytek byl hlavně v hydratovaných oxidech Fe (45 % Cr, 30 % Ni a 20 % Zn) a jen malé množství bylo v karbonátové složce (téměř 20 % Cr a Ni). Z těchto prvků bylo pouze 15 % niklu vázáno ještě na hydratovaných oxidech Mn. Žádný ze sledovaných prvků, s výjimkou Mn a Fe (téměř 20 %), se neuvolňuje do intersticiálního roztoku iontovou výměnnou reakcí.

Z výsledků sekvenční analýzy (obr. 1) je patrné, že v anoxickém prostředí byly těžké kovy, s výjimkou Mn a Fe, převážně vázány na organickou hmotu/sulfidy ($\text{Cu} > \text{Cd} > \text{Pb} > \text{Zn}$), pouze část na amorfní hydratované oxidy Mn a Fe ($\text{Cr} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Pb}$) a v karbonátové složce ($\text{Mn} > \text{Fe} > \text{Ni} > \text{Cr}$). Je to dáno tím, že v přírodním prostředí došlo po pohřbení sedimentů ke zvýšení redukčního prostředí a následně k rozpouštění hydratovaných oxidů Fe(III) a Mn(IV) za vzniku Fe(II) a Mn(II) a za současného uvolnění toxických prvků vázaných těmito oxidy. K rozpouštění došlo působením redukčních látek, jako jsou organické a anorganické redukanty, kovy v redukčním stavu v kombinaci s organickými ligandy, nebo kombinace organických reductantů a ligandů (obr. 2).

V anoxickém sedimentu jsou hydratované oxidy Mn obvykle redukovány Fe(II) nebo S(-II) a hydratované oxidy Fe(III) jsou redukovány S(-II). V sedimentech jsou však další sloučeniny obsahující karbonyly alkoholů, karboxyly, fenolové skupiny nebo thiole schopné redukovat hydratované oxidy Mn (cit.¹⁶). Nejvýznamnějším reductantem v říčních sedimentech jsou však metabolické produkty bakterií. Fermentační organismy převádějí organické látky na alifatické kyseliny, aldehydy, alkoholy a další produkty (např. oxalát a pyrohroznan), které jsou velmi účinnými reductanty hydratovaných

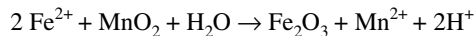
oxidů Mn. Rychlost redukce roste s koncentrací reduktantu a H_3O^+ . Účinným akceptorem elektronů jsou sulfáty, které

přecházejí na nerozpustné sulfidy těžkých kovů. Hydratované oxidy Mn(IV) rovněž oxidují stabilní a pro životní prostředí



Obr. 1. Výsledky sekvenční extrakce sedimentů z řeky Labe (v % celkově extrahovatelného Mn, Fe, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb a Zn). A – anoxické (O_2 prosté prostředí) říční sedimenty zmlotostní frakce $\leq 63 \mu\text{m}$, B – anoxické sedimenty po odstranění kapaliny vymrazením, C – po probublání suspenze anoxických sedimentů vzduchem, D – po vysušení anoxických sedimentů při 60°C , E – přírodní oxické sedimenty; stupeň ■ 1., ■ 2., ■ 3., ■ 4., □ 5.

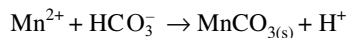
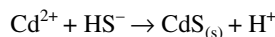
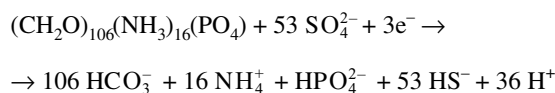
neškodný Cr(III) na mobilní a 10^4 až 10^6 násobně toxičtější Cr(VI). Naopak při redukcí Cr(VI) vznikající přechodné stavy Cr(V) a Cr(IV) jsou ve vodných roztocích nestálé a snadno disproportionují na Cr(III) a Cr(VI). Oxidací hydratovaných oxidů Mn (IV) přechází As(III) na méně toxický As(V), nebo mohou tyto oxidy v říčním sedimentu katalyzovat oxidaci Co, Cu, Ni a Pb. Fe(II) může redukovat Mn(III, IV) vázaný v hydratovaných oxidech na Mn^{2+} :



V přítomnosti humátů dochází zpočátku k tvorbě povrchového komplexu. Nízké pH zvyšuje rychlost rozpouštění a následné uvolnění Mn(II) a Fe(II) do roztoku, neboť vazby O-Fe(II) jsou slabší než vazby O-Fe(III). Rozpuštění je inhibováno Al inkorporovaném ve struktuře hydratovaných oxidů Fe a Mn nebo na povrchu adsorbovanými ionty Ca^{2+} a HPO_4^{2-} . V důsledku negativního náboje povrchu humátů jsou rovněž těmito složkami adsorbovány různé divalentní ionty, např. Mg, Ca, Mn, Cu, Pb, Ni aj.

Redox rozhraní je v akvatických sedimentech relativně ostré, v klidných partiích není širší než 1 cm.

Nejvýznamnějším reduktantem v říčních sedimentech jsou metabolické produkty bakterií. Po uložení sedimentu a odčerpání kyslíku dýcháním a při rozkladu organické hmoty dochází k redukcí sulfátu antropogenního původu na sulfid a ke vzniku karbonátů²⁹:

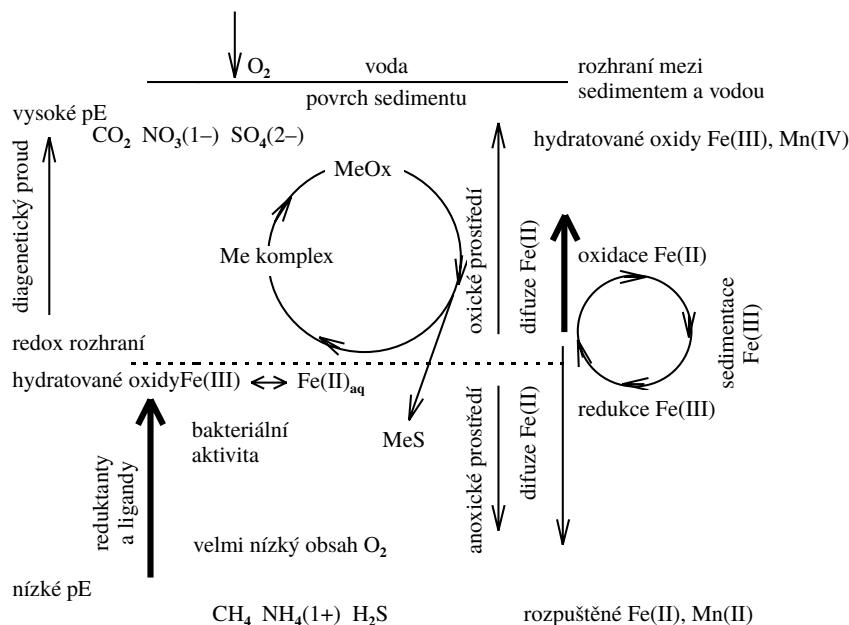


B. V průběhu odstraňování kapaliny jejím vymražením se neprojeví výrazné změny v distribuci prvků mezi jednotlivými složkami sedimentu. Bylo zaznamenáno snížení obsahu prvků vázaných na organickou hmotu ($Cd > Cu > Zn > Pb$) v důsledku jejich migrace na rostoucí podíl hydratovaných oxidů Fe. Z výsledků je patrné, že tento proces probíhá pravděpodobně ve slabě oxidačním prostředí, umožňujícím jen omezenou redistribuci některých prvků. Výsledky též naznačují, že vymrazování kapaliny, používané některými badateli pro uchování původního rozdělení prvků mezi jednotlivými složkami anoxického sedimentu před sekvenční analýzou, není optimální způsob.

C. Po resuspenzaci a provzdušnění sedimentu se snížilo jeho pH až o 0,4 jednotky a současně došlo k „oxidační remobilizaci“ Cd, Cu, Pb a Zn, hlavně z organické hmoty. V porovnání s původním anoxickým sedimentem (označ. A) se zvýšil více než dvojnásobně obsah vysrážených hydratovaných oxidů Mn a o 1/3 obsah hydratovaných oxidů Fe, v nichž bylo vázáno více než 40 % Fe a téměř 30 % Mn uvolněných z karbonátové složky. Tyto koloidní hydratované oxidy mají nestechiometrické složení, obsahují přebytek kationtů nebo aniontů podle složení okolního roztoku, a proto jsou velmi aktivními složkami sedimentů při vazbě toxických prvků z okolního roztoku.

Z ostatních prvků se po resuspenzaci a provzdušnění anoxického sedimentu uvolnily 2/3 Cd a Pb z organické/sulfidické složky, které se následně vázaly na nově vzniklou fázi hydratovaných oxidů Mn (především Cd) a hydratovaných oxidů Fe (hlavně Pb); 1/2 uvolněné Cu byla vázána hydratovanými oxidy Fe a v karbonátové složce; ze 2/3 z organické/sulfidické složky uvolněného Zn přešla většina do hydratovaných oxidů Mn a část na výměnná centra povrchu pevné fáze, takže v organické/sulfidické složce zůstalo vázáno pouze 34 % Zn. Resuspenzace a provzdušnění sedimentu příliš neovlivnily redistribuci Cr a Ni.

Toxické prvky mohou být vázány hydratovanými oxidy



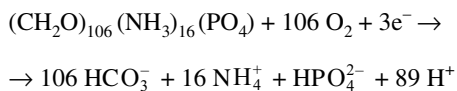
Obr. 2. Procesy na oxickém a anoxickém rozhraní v říčním sedimentu

Fe a Mn dvěma různými způsoby. Pokud jsou součástí struktury, podílejí se na náboji částic a velikosti výměnné (adsorpční) kapacity. Pro tyto hydratované oxidy jsou významnými ionty určující potenciál koloidních částic H^+ , OH^- , Fe^{2+} a Mn^{2+} (cit.¹⁷). Na Mn-oxidech jsou pak přednostně vázány silně hydrolyzovatelné prvky, jako např. Zn^{2+} (cit.¹⁷). Další podíl toxických prvků vyrovnává opačný náboj koloidních částic. Čerstvě vysrážené hydratované oxidy Fe jsou v neutrálním a kyselém prostředí pozitivně nabitý¹⁸, takže přednostně adsorbují anionty (např. molybdenany a arzeničnany^{19,20}), kdežto čerstvě vysrážené hydratované oxidy Mn jsou nositeli negativního náboje a adsorbují kationty^{21,22}. Afinita Si k hydratovaným oxidům Mn(IV) nebyla zjištěna, na rozdíl od Ca a Mg. Jde o obdobný jev jako u jílových minerálů²³ s tím rozdílem, že velikost výměnné kapacity hydratovaných oxidů Fe a Mn značně závisí na koncentraci H^+ , OH^- a dalších iontů, které ovlivňují elektrický potenciál koloidů.

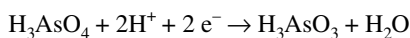
Obsah křemíku v roztocích po sekvenční extrakci koreloval s obsahem Fe. Lze tudíž předpokládat, že agregace hydratovaných oxidů Fe(III) může být výrazně ovlivněna interakcí negativně nabitých hydratovaných oxidů Si s pozitivně nabitými oxidy Fe. Vazbou Fe(II) k povrchu, obsahujícího hydroxylové skupiny, vzniká snadněji zoxidablelný komplex²⁴. Proto v rozsahu pH 6,6–7,1 je rychlost oxidace Fe (II) přímo úměrná koncentraci Si, zatímco Si zpomaluje hydrolyzu Fe(III) (cit.²⁵). K adsorpci Si a ostatních kationtů dochází hlavně při vyšších pH (≥ 7), kdy disociace „kyseliny křemičité“ roste spolu se zvyšováním negativního náboje silanolových skupin.

Při oxidaci pyritu v prostředí o nízkém pH je rychlost uvolňování Fe(II) pomalá, ale zvýší se o několik řádů katalytickým působením autotrofních bakterií²⁶, kdy přesáhne rychlost oxidace katalyzované povrchy minerálů^{27,28}. Rozdíly v chování Fe a Mn v říčních sedimentech jsou převážně připisovány rychlejší oxidaci Fe(II) než Mn(II) a relativně snadné redukci hydratovaných oxidů Mn.

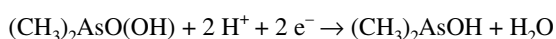
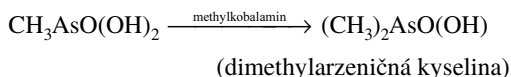
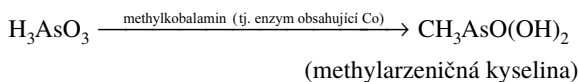
Po vytvoření sedimentu na dně řeky hraje pro migraci prvků důležitou úlohu bakteriální rozklad organické hmoty²⁹, jehož rychlost a intenzita závisí na obsahu živin a roční době:



Tato reakce probíhá až do doby úplného vyčerpání kyslíku, kdy se vytvoří redukční prostředí, jak je uvedeno výše. Přitom mobilita a toxicita kovů roste po bakteriální transformaci na organické entity. Příkladem může být chování As:

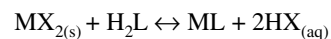


V prostředí anaerobních bakterií dochází v sedimentu k reakcím:

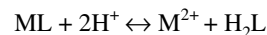


Mn^{2+} může být zoxidován extracelulárně sladkovodními bakteriemi *Leptothrix discophora* SSI a *Pseudomonas* sp. vylučující jeden nebo více proteinů, které v asociaci s kyselými exopolymery katalyzují oxidaci Mn(II) (cit.³⁰). Bakterie *Pseudomonas ferrireductans* jsou schopny přímo ovlivnit redukci Fe(III) na Fe(II) v přítomnosti acetátu jako donoru elektronů a Fe(III), Mn(IV) nebo nitrátů jako akceptoru elektronů³¹. Bakterie nebo fytoplankton mohou nepřímo redukovat Fe(III) tím, že vytvářejí organické reduktanty jako exudáty nebo degradační produkty. V nepřítomnosti biologického materiálu je oxidace Mn(II) mnohem pomalejší než Fe(II). Při oxidaci dochází rovněž k uvolnění toxických prvků do okolního prostředí ze sulfidů.

Sedimentární fulvokyseliny, humínové kyseliny a jejich kyselé hydrolyzáty sestávající z různých aminokyselin, rozpuštějí velké množství kovů (až do 700 mg.g⁻¹ organické hmoty) z jejich nerozpustných solí³². Vznikají komplexy, v nichž jsou geochemické vlastnosti iontů kovů značně změněny. Kovy vytvářejí komplexy s fulvokyselinami a humínovými kyselinami a tak nemohou tvořit nerozpustné sole, jako sulfidy, hydroxidy, karbonáty atd. Ve slabě alkalickém prostředí tyto kovy mohou pak migrovat na velké vzdálenosti. Proto v intersticiálních vodách sedimentů bohatých na rozpuštěnou organickou hmotu nedochází k tvorbě kalcitu³³. Organokovový komplex vzniká reakcí nerozpustné sloučeniny se složkou schopnou tvořit komplexy:



kde L je ligand a M je kov; chelátovaný kov může být následně uvolněn do vodného roztoku v kyselém prostředí:



Schematické znázornění cyklu chelatace kovů v kontextu s ostatními procesy v sedimentech je na obr. 2.

D. Vysušením anoxického sedimentu v proudu vzduchu při 60 °C se snížil na 1/5 obsah Fe a o více než 1/2 obsah Mn v karbonátové složce za současného zvýšení obsahu hydratovaných oxidů obou prvků, ale došlo i ke zvýšení obsahu Mn v hydratovaných oxidech Fe a Fe v hydratovaných oxidech Mn.

Při sušení vzorků z anoxických profilů migrovalo Cd z organické/sulfidické složky především do karbonátové složky (téměř 40 %) a na výměnná centra povrchu pevné fáze (30 %). Vysušením anoxického sedimentu se zvýšil na trojnásobek obsah výměnného Ni pocházejícího z organické složky a obsah Cr v hydratovaných oxidech Fe se zvýšil ze 45 % na 60 %, obsah Pb v hydratovaných oxidech Mn stoupl z 5 % na 35 %. U Zn naopak došlo k uvolnění přibližně 15 % tohoto kovu z hydratovaných oxidů Fe a 40 % Zn z organické hmoty a k jeho migraci do karbonátové složky, kde vzrostl jeho obsah po vysušení vzorků shodně na 30 % a na výměnná centra povrchu pevné fáze (ze 4 % na 20 %). Měď migrovala z organické/sulfidické složky do všech ostatních složek sedimentu, především na hydratované oxidy Fe.

E. Výše uvedené výsledky experimentálního studia byly porovnány s výsledky sekvenční analýzy přírodních vzorků labského sedimentu, odebraných z povrchové vrstvy maximálně z hloubky 10 cm od rozhraní sediment–voda^{3,34}. Sekvenční analýzou bylo zjištěno pestřejší rozdělení toxických prvků

mezi jednotlivými složkami v povrchové vrstvě sedimentu než jak bylo prezentováno při modelování redistribuce. Přírodní sedimenty z povrchové zóny se rozdělením prvků mezi složkami nejvíce blížily anoxickému sedimentu po jeho vysušení na vzduchu při 60 °C.

Zatímco v anoxické zóně bylo 94 % Cu, 91 % Cd, 72 % Pb a 57 % Zn asociováno s organickou/sulfidickou složkou, v povrchové, oxidační a přechodné zóně bylo pestřejší rozdělení prvků mezi jednotlivými složkami sedimentů, kdy v karbonátové složce bylo 45 % Cd, v případě Cu 24 %, Zn a Pb shodně po 40 %; ve výměnné formě se zvýšil obsah Cd až na 40 %, Cu a Zn na 25 % (vztaženo k celkovému obsahu prvků ve vysušeném vzorku), kdežto Pb nebylo vázáno výměnnou formou. Výjimkou jsou Cr a Ni, u nichž byly zaznamenány pouze malé změny v distribuci v anoxických sedimentech, po dispergaci a provzdušnění anoxických sedimentů, po jejich vysušení při 60 °C nebo během vymrazování kapaliny.

Uvolňování kovů, vázaných v pevné fázi, do pórové vody, a dále jejich přenos do biotických složek pravděpodobně souvisí s prouděním zoxidované pórové vody od povrchu do hlubších partií říčního sedimentu (obr. 2). V oxické zóně byl zjištěn průměrný obsah Cd 4,2 mg/kg, z čehož bylo téměř 85 % v karbonátové složce a nebo též adsorbováno a ve výměnné formě, 1030 mg Cu/kg s 60 % a 460 mg Zn/kg s 65 % v uvedených formách. Desorpce a iontovou výměnou dochází k uvolnění těchto kovů do vodního sloupce nad sedimentem a především k jejich transportu pórovou vodou do hlubších partií sedimentu, kde jsou v anoxickém prostředí vysráženy jako sulfidy a tím je značně omezena jejich mobilita. Degradaci různých složek sedimentu v oxické zóně tak dochází k uvolnění potenciálně toxických prvků a ke zvýšení jejich koncentrace v pórech sedimentu. Experimentálně bylo zjištěno^{35,36}, že v porovnání s okolní říční vodou je v pórech sedimentů oxické zóny přibližně 200násobně vyšší koncentrace Fe a Mn, 30–50násobně vyšší koncentrace Ni a Pb, 10násobně vyšší koncentrace Cd a 2–3násobně vyšší koncentrace Cu a Zn. Po déle trvajícím transportu vody póry sedimentu směrem do hlubších partií sedimentu se tak zvýšil v anoxické zóně obsah kovů v průměru na 10 mg Cd/kg, 1700 mg Cu/kg a 620 mg Zn/kg. Z těchto sumárních obsahů bylo 94 % Cu, 91 % Cd a 57 % Zn vázáno v sulfidech/organické hmotě. Lze očekávat, že dlouhodobým transportem se dostane až 50 % těchto kovů z oxické do anoxické zóny. Z toho lze vyvodit, že zvýšené obsahy kovů v hlubších partiích říčních sedimentů nemusí být nutně indikátorem vyšší kontaminace řeky v době usazování příslušné vrstvy sedimentu, ale může být důsledkem akumulace prvků vyvolané prouděním pórové vody z horních vrstev sedimentu do hlubších partií.

6. Závěr

Geochemický cyklus prvků v přírodním prostředí je ovlivňován mnoha fyzikálními, chemickými a biologickými procesy. Je vzájemná souvislost mezi Fe(II, III) a chováním P, S, těžkých kovů, O₂, C a úlohou živé organické hmoty a světla. Cyklus Fe zahrnuje redukční rozpouštění hydratovaných oxidů Fe(III) organickými ligandy (v povrchových vodách se uplatňuje fotokatalýza) a oxidací, nebo mikrobiálně a minerálními povrchy katalyzovanou oxidací Fe(II) kyslíkem. Oxidace hydratovaných oxidů Fe(II) na Fe(III) je doprovázena

vazbou těžkých kovů, fosfátu nebo organických látek, které se při redukcí Fe(III) v hydratovaných oxidech uvolňují do intersticiálních roztoků. Tyto procesy ovlivňují metabolické transformace v systému sediment–voda, cyklus prvků (kyslík, stopové prvky, síra, fosfor, organický uhlík) a biologickou produktivitu. Sorpce kovů na povrchu hydratovaných oxidů Fe(III) v povrchové vrstvě sedimentu ovlivňuje koncentrace těchto kovů v intersticiálních vodách, které regulují tok kovů do okolního vodního prostředí. Kromě toho, Fe(III) se chová buď jako katalyzátor oxidace nebo oxidant S(IV). Koncentrace Fe(II) roste s poklesem pH a dobou vystavení světlu. Behra a Sigg³⁷ předpokládají, že hydratované oxidy Fe(III) jsou redukovány sulfitem, organickými sloučeninami a volnými radikály vzniklými fotochemickou cestou během dne. Tyto redox reakce závislé na pH a světle bývají dosti rychlé při opětné oxidaci Fe(II) kyslíkem.

Resuspenzace anoxického říčního sedimentu proudem vzduchu, nebo jeho vymrazení a vysušení vedly k poklesu obsahu výměnného Fe a v karbonátech vázaného Mn a Fe. Současně se po tepelném vysušení zvýšil podíl výměnného a v karbonátech vázaného Zn, Cu a Cd.

Chování toxických prvků v anoxických sedimentech závisí na obsahu sulfidů. Úloha organické hmoty jako komplexotvorné látky není zanedbatelná, ale vyžaduje v budoucnu komplexnějšího studia. Z těchto experimentů lze vyvodit, že oxidačně redukční potenciál je důležitým parametrem chování toxických prvků v sedimentech. V redukčním prostředí se zvyšuje rozpustnost Fe a Mn, současně však dochází k imobilizaci prvků pravděpodobně též v důsledku jejich vazby v nerozpustných sulfidech. Na druhé straně, oxidace sedimentu vede k poklesu obsahu výměnného Mn a především Fe a k tvorbě amorfních hydratovaných oxidů Fe a Mn, zatímco obsah výměnných Cd, Cu a Zn se zvyšuje. Z organické/sulfidické složky oxidací uvolněná Cu je přednostně vázána hydratovanými oxidy Fe, ale Pb, Cd a Zn jsou hlavně vázány hydratovanými oxidy Mn a v karbonátové složce.

Experimentální studium ukázalo, že v říčních sedimentech při změně z redukčního na oxidační prostředí se zvýšila mobilita hlavně kadmia a dále pak zinku, mědi a olova. Tyto prvky z hlediska speciace představují potenciálně velké riziko pro životní prostředí vzhledem k jejich vysokému podílu ve snadno remobilizovatelných frakcích. Mobilita niklu a chromu se zvýšila jen velmi málo. Mobilita manganu a železa se v oxidačním prostředí naopak značně snížila.

LITERATURA

1. Hakansson K., Karlsson S., Allard B.: *Sci. Total Environ.* 87/88, 43 (1989).
2. Förstner U., Ahlf W., Calmano W., Kersten M., Schoer J., v knize: *Metal Speciation in the Environment* (Broek-aert J. A. C., Gücer S., Adams F., ed.), sv. G 23, NATO ASI Series. Springer Berlin, Heilderberg 1990.
3. Borovec Z.: *Sci. Total Environ.* 177, 237 (1996).
4. Kersten M., Förstner U.: *Marine Chem.* 22, 299 (1987).
5. Chao T. T.: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36, 764 (1972).
6. McKeague J. A., Day J. H.: *Can. J. Soil Sci.* 46, 13 (1966).
7. Lo I. M.-C., Yang X.-Y.: *Waste Manage.* 18, 1 (1998).
8. Mehra O. P., Jackson M. L.: *Proc. 5th Natl. Conf. Clays and Clay Min.* 5, 317 (1959).
9. Lynch J. J., v knize: *Geochemical Exploration* (Boyle R.

- W., ed.), sv. 11. Can. Inst. Min. Metall. Spec., Ottawa 1971.
10. Tessier A., Campbell P. G. C., Bisson M.: *Anal. Chem.* 51, 844 (1979).
 11. Hilton J., Long G. J., Chapman J. S., Lishman J. P.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 50, 2147 (1986).
 12. Davison W.: *Earth Sci. Rev.* 34, 119 (1993).
 13. Arland S., v knize: *Metal Complexes Present in Seawater* (Goldberg E., ed.). Abakon Verlag, Berlin 1975.
 14. Plavšić M., Čosović B., Miletić S: *Anal. Chim. Acta* 255, 15 (1991).
 15. Plavšić M., Branica M.: *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.* 29, 119 (1985).
 16. Stone A. T., Morgan J. J., v knize: *Aquatic Surface Chemistry* (Stumm W., ed.). Wiley, New York 1986.
 17. Morgdan J. J., Stumm W.: *J. Colloid Sci.* 19, 347 (1964).
 18. Parks G. A.: *Chem. Rev.* 65, 177 (1965).
 19. Borovec Z.: *GeoJournal* 29, 359 (1993).
 20. Borovec Z.: *GeoJournal* 40, 299 (1996).
 21. Posselt H. S., Anderson F. J., Weber W. J.: *Environ. Sci. Technol.* 2, 1087 (1968).
 22. Borovec Z.: *Aquat. Sci.*, v tisku.
 23. Borovec Z.: *Silikáty* 25, 75 (1981).
 24. Stumm W., Sulzberger B.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 56, 3233 (1992).
 25. Schenk J. E., Weber, Jr., W. J.: *J. Am. Water Works Assoc.* 60, 199 (1968).
 26. Stumm-Zollinger E.: *Arch. Mikrobiol.* 83, 110 (1972).
 27. Diem D., Stumm W.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 1571 (1984).
 28. Davies S. H. R., Morgan J. J.: *J. Colloid. Interface Sci.* 129, 63 (1989).
 29. Redfield A. C., Ketchum B. H., Richards F. A., v knize: *The Sea* (Hill N. M., ed.), sv. II. Wiley, New York 1966.
 30. Adams L. F., Ghiorse W. C.: *Geochim. Cosmochim. Acta* 52, 2073 (1988).
 31. Lovley D. G., Phillips E. J. P.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1472 (1988).
 32. Rashid M. A., Leonard J. D.: *Chem. Geol.* 11, 89 (1973).
 33. Berner R. A., v knize: *Origin and Distribution of the Elements* (Ahrens L.H., ed.). Pergamon Press, Oxford 1979.
 34. Borovec Z., Tolar V., Mráz L.: *AMBIO* 22, 200 (1993).
 35. Darby D. A., Adams D. D., Nivens W. T., v knize: *Sediment and Water Interactions* (Sly P. G., ed.). Springer-Verlag, New York 1986.
 36. Kersten M., Försther U., v knize: *Cadmium in the Aquatic Environment* (Nriagu J. O., Sprague J. B., ed.). Wiley, New York 1987.
 37. Behra P., Sigg L.: *Nature* 344, 419 (1990).
- Z. Borovec** (*Ministry of the Environment of the Czech Republic, Prague*): **Modelling of Redistribution of Toxic Elements in River Sediments**
- Mobility and redistribution of Fe, Mn, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in anoxic stream sediments of the grain size 63 µm and less were studied after air bubbling, freezing and oven-drying at 60 °C. Quantitative speciation of metals associated with the solid phase was obtained by a sequential six-step extraction technique. The combined effects of organics and the presence and formation of soluble carrier phases on the metal redistribution are indicated. Under anoxic conditions, large proportions of Cu, Cd, Pb together with minor amounts of Zn, Cr and Ni are associated with organics, which widely corresponds to their complex stability order, but also to the stability of the respective metal sulfides: Cu > Cd > Pb > Zn > Ni > Cr > Fe > Mn. Fe and Mn occur in large amounts in iron oxides and hydrated oxides (Fe) and in adsorbed carbonate fractions (Mn, Fe). Partition of the elements between the phases is summarized. Changes from reducing to oxidizing conditions, which involve transformations of sulfides and a shift to more acidic media, are greater for cadmium, followed by zinc, copper, and lead. These elements are an environmental risk due to their high amounts in the more easily remobilized fractions. There was little change in mobility of nickel and chromium. On the other hand, manganese and iron showed a characteristic lowering of mobility.

DISKUSE

MINERÁLNÍ HNOJIVA V ČESKÉ REPUBLICE – SOUČASNÝ STAV A PERSPEKTIVY

Výroba minerálních hnojiv byla a je jedním z klíčových odvětví velkotonážního chemického průmyslu. Objem produkce ji řadí mezi chemickými odvětvími na druhé místo za petrochemickou výrobu. V celosvětovém měřítku spotřeba minerálních hnojiv v posledních padesáti letech trvale roste, protože se stala jedním z rozhodujících faktorů nezbytné intenzifikace zemědělské výroby. Všeobecně se konstatuje, že bez využívání minerálních hnojiv by nebylo možné zajistit adekvátní výživu stále rostoucího počtu obyvatel naší planety. Vzhledem k demografickému vývoji je logické, že se těžiště rostoucí světové spotřeby minerálních hnojiv stále více přesouvá do rozvojových a rozvíjejících se zemí, zatímco spotřeba v průmyslově i zemědělsky rozvinutých regionech stagnuje (Severní Amerika) či postupně klesá (Evropa). V důsledku toho neustále roste objem světového obchodu minerálními hnojivy; v současné době asijský trh (především Čína a Indie) ovlivňuje rozhodující měrou celosvětovou výrobu.

Na území České republiky má výroba minerálních hnojiv více než stoletou tradici. Připomeňme si na příklad ve své době technicky pokročilá a ekonomicky úspěšná výrobní superfosfátu v Kolíně, Ústí nad Labem, Kaznějově, Lovosicích či Poštorné, nebo výrobu dusíkatého vápna v Sokolově. Rozvoj moderní tuzemské výroby přinesla v šedesátých a sedmdesátých letech výstavba výroben amoniaku a močoviny v Litvínově a relativně velkých výroben granulovaných NPK hnojiv v Lovosicích a Pardubicích na bázi rozkladu kvalitních fosfátů kyselinou dusičnou. Následovaly výrobní kapalného hnojiva DAM (Lovosice, Pardubice, Ostrava); nejnovější českou výrobnou je pak moderní linka ledku amonného s vápencem v Lovosicích, která byla dokončena počátkem devadesátých let. Naopak vlivem odběratelských a ekonomických podmínek byly v uplynulém desetiletí odstaveny velkoobjemové výrobní jednotky superfosfátu v Lovosicích a Přerově, což se mimo jiné výrazně promítlo ve snížení domácí spotřeby, a tedy i výroby kyseliny sírové.

Od samého počátku byla produkce minerálních hnojiv v tuzemsku orientována na krytí domácí spotřeby a o možnostech exportu se prakticky neuvažovalo. Je to logické s ohledem na skutečnost, že se na území České republiky nevyskytuje v dostatečném množství žádná ze základních surovin, jimiž jsou zemní plyn či ropa, přírodní fosfáty, draselná sůl a síra. Vedle potřebných surovin bylo nutno v období trvalého růstu domácí spotřeby minerálních hnojiv pro dosažení průměrných hektarových dávek část spotřebovávaných hnojiv i dovážet. Tato situace se v devadesátých letech podstatně změnila díky radikálnímu poklesu využívání minerálních hnojiv v českém zemědělství.

Vývoj průměrných hektarových dávek základních živin v minerálních hnojivech v České republice je uveden na obr. 1.

V osmdesátých letech byla průměrná roční spotřeba živin dávkovaných do půdy minerálními hnojivy vysoká a řadila naše země do první desítky v celosvětovém měřítku. V mnoha případech šlo až o luxusně vysoké dávky, jimiž se do určité

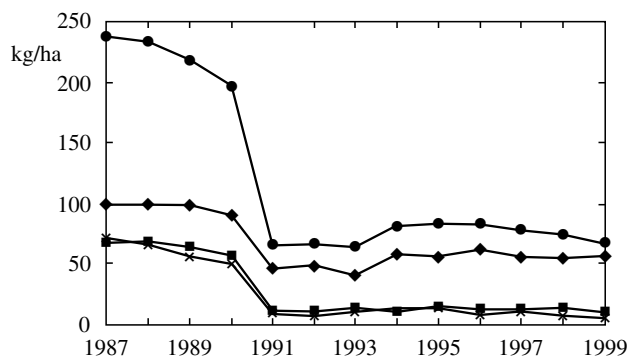
míry kompenzovaly nedostatky v technologii a organizaci zemědělské výroby. Závažných důvodů poklesu naší spotřeby v devadesátých letech v průběhu zcela zásadních změn v politickém a ekonomickém systému ČR je několik:

- totální změny ve vlastnictví půdy, zahájení restrukturalizace zemědělství, pokles živočišné produkce,
- pokles spotřebitelských výdajů za potraviny,
- růst dovozu potravin a zemědělských produktů při současném poklesu vývozu (především na východoevropské trhy),
- vysoký nárůst cen všech vstupů do zemědělství, včetně cen minerálních hnojiv, při podstatně mírnějším růstu cenového indexu zemědělských produktů.

Tyto a řada dalších faktorů se promítaly do vleklého nedostatku finančních prostředků podnikatelů v zemědělství. Daný stav nutí zemědělce k podstatné redukci všech provozních nákladů, většinou za cenu snižování intenzity produkce, což se promítlo v první řadě ve spotřebě jak minerálních hnojiv, tak agrochemikálií. Protože ve stejném období zároveň významně klesl objem živočišné výroby je také přísun živin v organických hnojivech nižší.

Z údajů uvedených na obr. 1. vyplývá, že relativně nejmenší snížení vstupů živin v minerálních hnojivech bylo v posledním desetiletí zaznamenáno u dusíkatých hnojiv, jejichž aplikace je zcela nezbytná a její efekt je bezprostředně patrný. Pokles dávek fosforu a draslíku a také průměrných vstupů vápenatých hnojiv při zachování poměrně příznivé úrovně výnosů (na př. u obilovin) jednoznačně znamená postupné odčerpávání živin z půdní zásoby a tedy pokles produkční schopnosti našich půd. To je objektivně dokládáno poklesem obsahu přístupného fosforu a draslíku v orných půdách v ČR. V souvislosti s poklesem produkční schopnosti půd se postupně snižují průměrné výnosy řady zemědělských plodin (např. ozimé pšenice) a pokles se pak promítá do ekonomiky rostlinné a celé zemědělské výroby v ČR.

V zemích západní Evropy je intenzita hnojení ve srovnání s našimi poměry podstatně vyšší, i když mezi jednotlivými státy existují značné rozdíly. Také tam bylo používáno nejvyšších dávek v průběhu osmdesátých let, od té doby se spotřeba živin, dávkovaných do půdy minerálními hnojivy snížila u dusíku o 15 %, u fosforu o 45 % a u draslíku zhruba o 30 %. V průbě-



Obr. 1. Průměrné hektarové dávky minerálních hnojiv v ČR, ◆ N, ■ P₂O₅, × K₂O, ● celkem

Tabulka I

Porovnání spotřeby živin (v kg čistých živin/ha) v minerálních hnojivech v ČR a EU

Období	N		P ₂ O ₅		K ₂ O		Celkem		Průměrný výnos pšenice, t/ha	
	ČR	EU	ČR	EU	ČR	EU	ČR	EU	ČR	EU
1991–95	49,4	65,6	11,9	24,8	10,3	29,7	79,6	120,1	4,64	5,44
1996–98	56,6	67,7	12,0	24,7	8,5	29,8	77,1	122,2	4,49	5,85

Tabulka II

Celková výroba minerálních hnojiv v ČR v posledním období

Rok	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1990	318	149	52
1995	310	24	22
1999	262	19	19

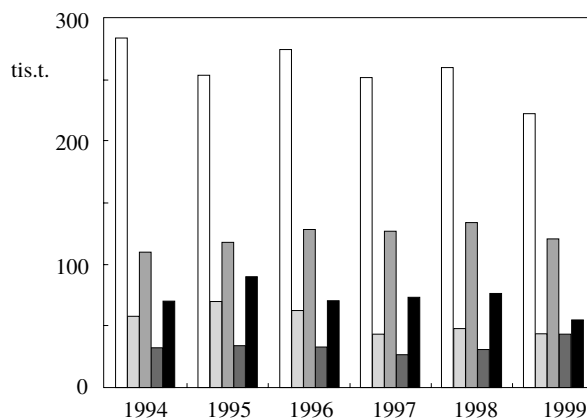
hu tohoto období se však intenzita produkce hlavních plodin zvýšila a to zejména díky využívání výkonnějších odrůd, zlepšení technologie, včetně využívání statkových a minerálních hnojiv a díky zvyšování péče o půdu. Udává se, že na zemědělské ploše států EU, což je asi 115 mil. ha, by mělo být každoročně aplikováno zhruba 9,9 mil. t N, 3,7 mil. t P₂O₅ a 4,7 mil. t K₂O.

V tab. I je uvedeno porovnání spotřeby minerálních hnojiv v České republice a ve státech EU (15) v devadesátých letech.

Údaje v tab. I dokumentují významné rozdíly ve spotřebě minerálních hnojiv v ČR a EU. Zatímco spotřeba dusíku v minerálních hnojivech je nyní v ČR asi o 17 % nižší než ve státech EU, u fosforu to činí 51 % a u draslíku dokonce 71 %. Proto také poměr živin, vnášených v ČR do půdy, je stále méně vhodný a činí 1 : 0,21 : 0,15, zatímco v EU je přibližně 1:0,36:0,44. Nejnovější údaje roku 1999, uvedené v obr. 1 ukazují, že se tento stav v ČR nadále zhoršuje.

Výroba minerálních hnojiv v ČR se vyvíjí především v závislosti na trendech domácí, v poslední době však také evropské spotřeby a vykazuje trvalý pokles. Jak již bylo uvedeno, řada výroben byla odstavena (superfosfát, kapalná NP hnojiva) a kapacity dalších (především NPK hnojiva) jsou využívány jen z části v závislosti na odbytových podmínkách a možnostech. Vývoj výroby v posledním desetiletí je patrný z vybraných údajů v tabulce II.

V České republice se vyrábí v současné době amoniak jako základní meziprodukt výroby dusíkatých hnojiv v Chemopetrolu a.s., Litvínov a na jeho výrobu navazuje velkokapacitní linka výroby močoviny. Ledek amonný s vápencem (část jako ledek amonný s dolomitem) se vyrábí v Lovochemii, a.s. a v Aliachemu a.s. odštěpný závod MCHZ Ostrava, kapalné dusíkaté hnojivo DAM produkují Lovochemie a.s. a Aliachem a.s. odštěpný závod MCHZ Ostrava a odštěpný závod Synthesia Pardubice. Lovochemie a.s. dále vyrábí granulovaná více-složková NPK hnojiva o různém poměru živin a na výrobu pak přímo navazuje produkce ledu vápenatého. Hnojivo NPK se rovněž vyrábí v Pardubicích v Aliachemu a.s. odštěpný závod Synthesia. Síran amonný, vedle menšího množství z koksáren, je vedlejším výrobkem z produkce kaprolaktamu ve Spolaně

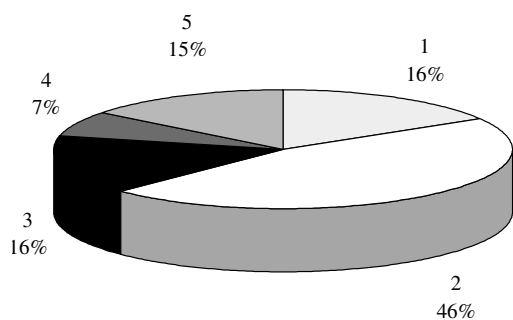


Obr. 2. Vývoj výroby hlavních produktů z agregace minerálních hnojiv v období 1994–1999

□ amoniak, □ močovina, ■ ledky, ■ DAM, ■ NPK č.č. celkem

a.s. v Neratovicích. Vývoj produkce minerálních hnojiv s klesajícím trendem v důsledku odbytových podmínek dokumentují sumární údaje, shrnuté v obr. 2.

Je nutné zdůraznit, že se od počátku devadesátých let radikálně změnila podmínka na trhu. Zatímco v předchozích desetiletích byly prakticky všechny domácí výrobky, s výjimkou močoviny, spotřebovány na domácím trhu a další potřeby českého zemědělství (draselná sůl, část dusíkatých hnojiv) byly pokryty dovozy, došlo po roce 1990 k úplnému otevření českého trhu. To na jedné straně vyvolalo velký nárůst výroby vlastních výrobků, na druhé straně i zásadní zvýšení dovozu všech typů minerálních hnojiv; významnou roli zde hraje dovoz dusíkatých hnojiv (z části velmi levného zboží ze států východní Evropy). Nejen spotřeba draselné soli, ale také všech typů jednosložkových fosforečných hnojiv je kryta z dovozu. Otevření trhu minerálních hnojiv za běžných evropských podmínek, při dosažení cenové úrovně odpovídající podmínkám západní Evropy, je jedním z klíčových faktorů určující současný stav i výhled české produkce minerálních hnojiv. Jako příklad lze uvést skutečnost, že v roce 1998 bylo z ČR vyvezeno přibližně 640 tis. t N v minerálních hnojivech (z toho 58 tis. t N v močovíně), ale zároveň dovezeno přes 410 tis. t N (z toho 56 tis. t N v močovíně); dovoz fosforečných hnojiv činil ve stejném roce asi 40 tis. t P₂O₅, při vývozu kolem 39 tis. t, u draselných hnojiv byl tento poměr 95 tis. t K₂O ku 38 tis. t. Bilance amoniaku je v posledních letech vyrovnaná. Uvážíme-li, že v případě dusíkatých hnojiv se jedná do značné míry o reexporty, můžeme konstatovat, že Česká republika se stává stále více závislou na zahraničním obchodě a dovozech minerálních hnojiv.



Obr. 3. Sortiment dusíkatých hnojiv, vyráběných v ČR v roce 1999, 1 – močovina, 2 – ledky, 3 – DAM, 4 – víc složková NPK-hnojiva, 5 – síran amonny

Na obr. 3 je uvedena sortimentní skladba dusíkatých hnojiv produkovaných v České republice.

Jistou odlišností proti sortimentní skladbě řady evropských zemí je relativně značné zastoupení kapalného hnojiva DAM mezi dusíkatými hnojivy; většina tohoto produktu je uplatňována na domácím trhu.

Výrobní základna v českých podnicích postupně zastarává a s výjimkou moderní výroby ledku v Lovochemii a.s. stojí před nutností postupné obnovy. Rozsáhlou modernizací již v uplynulých letech prošly obě výroby v Chemopetrolu a.s. (amoniak a močovina). Stále aktuální je modernizace výroby kyseliny dusičné jako základního meziprojektu výroby ledků a NPK hnojiv v Lovochemii, a.s. Kvalita je relativně na dobré úrovni a zásadně srovnatelná se západoevropskými standardy. Nově přijatým zákonem č. 156/1998 Sb., a jeho připravenou drobnou novelou se legislativní normy České republiky přiblížily směrnici ES v dané oblasti, což je velmi důležité pro další očekávaný rozvoj mezinárodního obchodu minerálními hnojivy.

Rovněž západoevropská produkce minerálních hnojiv v posledním desetiletí poklesla, a to především díky nižší domácí spotřebě a rostoucí konkurenci mimoevropských výrobců na světových trzích. Kapacita výroby dusíkatých hnojiv poklesla přibližně o 30 % na dnešních zhruba 12 mil. t N, u fosforečných hnojiv byl pokles ještě výraznější – asi o 50 % na cca 3,5 mil. t P₂O₅. V tomto období došlo k radikální restrukturalizaci výroby a koncentraci do menšího počtu závodů; řada menších firem zanikla nebo zastavila výrobu hnojiv, a došlo k podstatné racionalizaci výroby. Přes rostoucí ceny vstupů (suroviny, energie) a nutnost respektovat stále rostoucí požadavky na zachycování a zpracování všech typů emisí se v devadesátých letech snížily výrobní náklady amoniaku a dusíkatých hnojiv ve státech západní Evropy v průměru o 16–18 %. Podle názoru expertů zvýšila až drastická restrukturalizace konkurenceschopnost výrobců minerálních hnojiv v EU.

Na základě výše uvedené charakteristiky situace výrobců minerálních hnojiv a jejich odbytových podmínek v České republice a srovnání se situací západní Evropy lze obecně usuzovat na perspektivní vývoj v této oblasti. Na úseku minerálních hnojiv je možno považovat propojení našeho a evropského trhu za prakticky ukončené, trh se zemědělskými produkty byl z naší strany otevřen ve velmi široké míře (patrně předčasně), více než se strany EU.

Podle výsledků mnoha provedených rozborů je nezbytné, aby spotřeba minerálních hnojiv v České republice rostla, a to nejméně na úroveň blížící se průměrným hektarovým dávkám

EU. K zajištění budoucí konkurenceschopnosti našich zemědělských podniků je třeba postupně vytvořit podmínky pro srovnatelnou produktivitu zemědělské výroby, tedy pro srovnání ekonomických parametrů. To si lze zřejmě stěží představit bez odpovídající péče o úrodnost půd. Je tedy nutné zastavit pokles jejich produkční schopnosti zvýšením přísunem fosforu a draslíku spolu s nutným zvýšením dávek vápenatých hnojiv. V souladu s existujícími a očekávanými trendy ve výživě rostlin lze předpokládat zvýšený tlak na omezování všech potenciálních negativních vlivů zemědělské výroby na životní prostředí při potřebném růstu produktivity. Proto se také u nás musí v nejbližší době začít prosazovat zásady vědecky podložené praxe, tzv. přesného zemědělství; poroste význam racionálního zpřesnění základních agrotechnických postupů, výběru výkonných odrůd, přesnějšího a časově determinovaného dávkování živin v minerálních hnojivech, postupné optimalizace využívání výživného potenciálu statkových hnojiv a dalších perspektivních opatření. Při uvážení všech uvedených okolností lze v souladu s názory odborníků očekávat, že by spotřeba minerálních hnojiv v ČR měla v příštích deseti letech vzrůst o cca 35–90 % proti současnému stavu při nutném postupném vyrovnávání poměru dávek tří základních živin.

Výrobci v západní Evropě nepředpokládají v nejbližší budoucnosti nárůst objemu výroby minerálních hnojiv. Očekává se, že spotřeba ve státech EU bude nadále mírně klesat a to asi o 7–9 % během dalšího desetiletí, ovšem při trvalém mírném růstu produktivity zemědělské výroby. Proto také není předvídána žádná podstatná změna současných trendů spočívajících v racionalizaci, nezbytné modernizaci a především v plnění požadavků dnešních a v budoucnu zřejmě dalších kritérií na přípustná množství výrobních emisí, narušujících životní prostředí.

Ani v České republice se dnes nepředpokládá podstatný rozvoj výroby minerálních hnojiv. V souladu s uvedenými trendy v EU lze očekávat postupné ukončení produkce v některých výrobních Aliachemu a.s.. V programu našich největších výrobců, Chemopetrol a.s. a Lovochemie a.s., se počítá s optimalizací výrobních procesů, s aktuálním řešením ekologických aspektů výroby, s dalším zkvalitňováním fyzikálně-mechanických parametrů všech typů produktů a v případě Lovochemie a.s. také s rozšiřováním sortimentu produkce (např. hnojiva se zvýšeným obsahem síry či hnojiva s biopreparáty). Za potřebné se rovněž považuje zefektivnění marketingu, užší kontakt s odběrateli a užší propojení distribučních sítí. Je tedy patrné, že v rámci připravovaného propojení evropské ekonomiky bude naše příští potřeba minerálních hnojiv zabezpečována větší měrou dovozem a vlastní výroba bude zaměřena na výrobky, které budou konkurenceschopné na domácím i evropském trhu.

LITERATURA

- Údaje SCHP ČR, poskytnuté členskými společnostmi – výrobci minerálních hnojiv.
 Statistické údaje ČSU, SCHP ČR, MPO ČR, MZe ČR, EFMA – 1997–1999.
 Richter R., Klír J., Mezuliánik M.: Sborník referátů Plant Nutrition, Quality of Production and Processing. MZLU, Brno 1999.

Pavel Hegner

OBSAH

ÚVODNÍK	889
Chemická legislativa České republiky v mezinárodních souvislostech K. Bláha	890
Hodnocení nebezpečnosti chemických látek v rámci Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (OECD) J. Hasa	892
Ověřování dodržování zásad správné laboratorní praxe a výhledy do budoucnosti P. Finger, I. Koruna a K. Bláha	895

REFERÁTY

Chemická komunikace hmyzu pohledem organického chemika M. Hoskovec	897
Vedlejší produkty dezinfekce pitné vody V. Janda a M. Švecová	905
Bioindikátory v monitoringu životního prostředí Z. Kafka a J. Punčochářová	909
Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu a jejich detoxikace Z. Knejzlík, J. Káš a T. Ruml	913
Responsible Care – Odpovědné podnikání v chemii I. Zíka	919

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

GC-MS stanovení nitrovaných polycyklických aromatických uhlovodíků v ovzduší M. Sekyra, J. Leníček, K. Bednářková a I. Beneš	924
Posouzení správnosti údajů kontinuálního měření emisí F. Skácel, V. Tekáč a T. Bičák	931
Modelování redistribuce toxických prvků v říčních sedimentech Z. Borovec	939

DISKUSE

946

CONTENTS

EDITORIAL	889
Chemical Legislation of the Czech Republic in International Context K. Bláha	890
Evaluation of Hazard of Chemical Substances in the Frame of the Organization for Economic Cooperation and Development J. Hasa	892
Checking Maintaining the Principles of Correct Laboratory Practice and Future Perspectives P. Finger, I. Koruna, and K. Bláha	895

REVIEW ARTICLES

Insect Chemical Communication from the Viewpoint of the Organic Chemist M. Hoskovec	897
By-products in Drinking Water Disinfection V. Janda and M. Švecová	905
Bioindicators in the Environment Monitoring Z. Kafka and J. Punčochářová	909
Mechanism of Xenobiotics Entry into the Organism and Their Detoxication Z. Knejzlík, J. Káš, and T. Ruml	913
Responsible Care in Chemistry I. Zíka	919

LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS

GC-MS Determination of Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Atmosphere M. Sekyra, J. Leníček, K. Bednářková, and I. Beneš	924
Assessment of Uncertainty of an Automated System Monitoring Emissions of a Stationary Source Using a Second Method as Reference F. Skácel, V. Tekáč, and T. Bičák	931
Modelling of Redistribution of Toxic Elements in River Sediments Z. Borovec	939

DISCUSSION

946

**BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH
SPOLEČNOSTÍ**

Web of Science v České republice	951
Soudobý stav informatiky u nás	952
Ze života chemických společností	955
Členská oznámení a služby	956
Chemik na studiích, cestách	957
Z vědeckých, odborných a zahraničních společností	957
Výuka chemie	959
Osobní zprávy	959
Střípky a klípky o světových chemících	962
Technické zajímavosti a služby	964
Zákony, které ovlivní život chemiků	966
Knihy	967
Poezie	967
Zajímavosti ze světa vědy a techniky	968
Aprílový klub	970
Odborná setkání	969
Akce v ČR a v zahraničí	970
Zprávy z redakce	973
Bulletín představuje	973
Volná místa	974
Výročí a jubilea	974

**BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL
SOCIETIES**

Web of Science in the Czech Republic	951
Contemporary State of the Informatics	952
From the Chemical Societies	955
Member Services and Announcements	956
Chemist on A Business Trip	957
From the Learned, Professional, and Foreign Societies	957
Education in Chemistry	959
Personal News	959
Biographical Sketches of World Chemists	962
Technical Information, Tips, and Services	964
Laws for Chemists	966
Books	967
Poetry	967
News from Science and Technology	968
Club of Jokes	968
Meetings and Conferences	969
Meetings Calendar	970
News from Editorial Office	973
Bulletin Presents	973
Announcement	974
Anniversaries and Jubilees	974

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 94 (2000), čís./no. 10 • **LISTY CHEMICKÉ**, roč./vol. 124, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 110 • ČASOPIS ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ • Bulletin roč./vol. 31 • Vydává Česká společnost chemická ve spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, za finanční podpory Ministerstva životního prostředí, Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt PG 97142), Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • *Published by the Czech Chemical Society* • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Gut, J. Hetflejš, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámotný (webové stránky) • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), J. Soušek (Olomouc), J. Šibor (Brno) • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: C. Jirátová • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, J. Churáček, Č. Jech, J. Káš, J. Košťál, J. Koubek, L. Lapčík, J. Lederer, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, P. Pavlas, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ, INZERCÍ, INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY A PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420(2) 2108 2370, fax +420(2) 2222 0184, e-mail: jiratova@csvts.cz, IČO 444715 • SOUHRNÝ NA INTERNETU/PREPUBLISHED ABSTRACTS ON URL: http://staff.vscht.cz/chem_listy/index.html • TISK: PORS 052, Školní náměstí 11, 537 33 Chrudim; SAZBA: SF SOFT, Jinonická 329, 158 00 Praha 5 • Copyright © 2000 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 100 Kč, roční předplatné 2000 (12 čísel) 940 Kč. Předplatné ve Slovenské republice 2200 Kč. Pro členy ČSCH je sleva 50 %, pro studenty 70 % • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2000 (12 issues) DEM 440 • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PP/1 5333/95 • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use. • Pokyny pro autory najdete v čísle 7/97 na straně 492, nebo budou zaslány na požádání, zkratky odb. časopisů viz 10/97 str. 911 • Instructions for authors will be sent on request. • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zaslány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu. V rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností. SAZBA BULLETINU: B. Valter.