

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Pesticidy a jejich metabolity v ekologické produkci
zeleniny – je bio skutečně bio?**

Bakalářská práce

**Eliška Vašáková
Výživa a potraviny**

Mgr. Petr Maršík, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Pesticidy a jejich metabolity v ekologické produkci zeleniny – je bio skutečně bio?" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.04.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Mgr. Petru Maršíkovi, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, jeho cenné rady, milý přístup, trpělivost, ale především za jeho věnovaný čas. Velké díky, také patří Ing. Kateřině Hankové za její ochotu, připomínky a poskytnutí potřebných informací. Také bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich pochopení a podporu během mého celého studia.

Pesticidy a jejich metabolity v ekologické produkci zeleniny – je bio skutečně bio?

Souhrn

V současné době se začala zvyšovat poptávka po potravinách pocházejících z ekologického zemědělství, které jsou šetrnější nejen pro naše tělo, ale i pro životní prostředí. Mezi tyto potraviny patří především bio ovoce a zelenina, které jsou pěstovány za použití pouze legislativně povolených pesticidů pro bio produkci. Také se však můžeme setkat s termínem bezreziduální produkty; ty mohou být pěstovány obdobně jako v konvenčním zemědělství, avšak bez obsahu reziduí ve finálních produktech.

Cílem této bakalářské práce bylo literární rešerší přispět k lepšímu porozumění problematice pesticidů zejména v ekologickém zemědělství a jejich vlivu na kvalitu a autenticitu potravin. Práce byla zaměřena na analýzu současných legislativních předpisů týkajících se problematiky bio potravin a mapovala existující postupy a metody sledování reziduí pesticidů v těchto produktech. Důraz byl rovněž kladen na zkoumání metabolismu pesticidů v rostlinách a konkrétně v zelenině. Také se zabývala způsobem identifikace pesticidů a jejich metabolitů, čehož by se do budoucna dalo využít pro kontrolu, zda při pěstování bio produktů nedošlo k aplikaci nepovolených pesticidů nebo zda nejsou bezreziduální produkty deklarovány jako produkty bio kvality.

Klíčová slova: pesticidy, metabolity pesticidů, bio potraviny, zelenina, ekologická produkce

Pesticides and their metabolites in organic vegetable production – It is organic production really organic?

Summary

Nowadays, the demand for food from organic farming, which is not only better for our bodies but also for the environment, has started to increase. These foods include mainly organic fruit and vegetables, which are grown using only legally approved pesticides for organic production. However, we may also come across the term residue-free products; these can be grown in a similar way to conventional farming, but without the residue content in the final products.

The aim of this bachelor thesis was to contribute through a literature search to a better understanding of the issue of pesticides, especially in organic farming, and their impact on the quality and authenticity of food. The thesis was focused on the analysis of current legislation related to organic food issues and mapped existing procedures and methods for monitoring pesticide residues in these products. Emphasis was also placed on the investigation of pesticide metabolism in plants and specifically in vegetables. It also looked at how to identify pesticides and their metabolites, which could be used in the future to check whether unauthorised pesticides have been applied during the cultivation of organic products or whether residue-free products are declared as organic.

Keywords: pesticides, metabolites of pesticides, organic food, vegetables, organic production

Obsah

1	Úvod	9
2	Cíl práce.....	10
3	Pesticidy	11
3.1	Historie pesticidů.....	11
3.2	Kategorie pesticidů.....	12
3.2.1	Podle toxicity pro necílové organismy	12
3.2.2	Podle míry toxicity.....	12
3.2.3	Podle chemického složení.....	13
3.2.4	Podle toxicity pro cílové organismy	13
3.2.4.1	Herbicidy.....	14
3.2.4.2	Zoocidy	14
3.2.4.3	Fungicidy.....	14
3.2.4.4	Pomocné přípravky na ochranu rostlin.....	15
3.3	Rizika pesticidů	15
3.4	Pesticidy v zelenině.....	16
4	Použití pesticidů a legislativa	17
4.1	Kontrolní mechanismy.....	17
4.2	Vývoj regulace	19
4.2.1	DDT	20
4.2.2	Glyfosáty.....	20
4.2.3	Chlorpyrifos	21
4.2.4	Bifenthrin	21
4.2.5	Karbofuran	21
4.3	Certifikace.....	22
4.3.1	Bio certifikace.....	22
4.3.2	Fairtrade	24
5	Bioprodukce.....	25
5.1	Přípravky používané pro bioprodukci.....	26
5.2	Kontrola certifikace	26
6	Metabolismus pesticidů	27
6.1	Metabolismus pesticidů v rostlinách	27
6.1.1	První fáze – transformace	29
6.1.2	Druhá fáze – konjugace	30
6.1.3	Třetí fáze – transport.....	31
6.1.4	Čtvrtá fáze – podpora rostliny	31
6.2	Metabolismus pesticidů v zelenině.....	31

7 Analytické metody pro detekci pesticidů a jejich metabolitů.....	35
7.1 Příprava vzorku	35
7.1.1 Extrakce pevná látka – kapalina	36
7.1.1.1 Protřepávání.....	36
7.1.1.2 Soxhletova extrakce.....	36
7.1.1.3 Mikrovlnná extrakce (MAE)	36
7.1.1.4 Extrakce rozpouštědla pod tlakem (PSE)	36
7.1.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE)	36
7.1.3 Extrakce kapalina – kapalina (LLE)	37
7.1.4 Extrakce v pevné fázi (SPE)	37
7.1.5 Mikroextrakce v pevné fázi (SPME)	38
7.1.6 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Save).....	38
7.2 Chromatografie	39
7.2.1 Plynová chromatografie	40
7.2.2 Kapalinová chromatografie	40
7.3 Hmotnostní spektrometrie	41
7.3.1 Kvadrupólový hmotnostní analyzátor (Q)	42
7.3.2 Analyzátor doby letu (TOF)	42
7.3.3 Orbitální iontová past (Orbitrap)	42
8 Závěr.....	43
9 Literatura.....	44

1 Úvod

V současné době se stále více klade důraz na zdravou výživu a stává se významnějším tématem veřejnosti. S rostoucím povědomím o možných negativních dopadech pesticidů na lidské zdraví a životní prostředí se zvyšuje poptávka po produktech, které jsou vyráběny se sníženým používáním pesticidů či jiných chemických látek. Známé biopotraviny jsou produkovány za použití pouze legislativně povolených pesticidů, avšak můžeme se setkat i s tzv. bezreziduálními potravinami, které sice mohou být ošetřeny pesticidy stejně jako konvenční produkce, ale při sklizni nesmí překročit stanovené limity obsahu reziduí pesticidů. Zvýšená poptávka a tomu odpovídající rostoucí nabídka po těchto produktech však často vyvolávají otázku: Je bio skutečně bio?

Definice pesticidů není jednoznačně vymezena, jedná se však o látky určené k ochraně rostlin před škůdci, jako jsou například plevele, plísňe nebo hmyz. Pesticidy ale nemusí být jen syntetické sloučeniny, může se jednat také o přírodní získané z rostlin nebo živočichů, které jsou hojně využívány především v bio produkci.

Aby mohly produkty ekologického zemědělství nést označení logem bio kvality, musí být nejprve zaregistrovány a podrobeny přísné kontrole, zda splňují všechny stanovené podmínky. Tento sektor zemědělství je sice pravidelně kontrolován, ale i přes to se mohou bio produkty stát snadným cílem falšování. Často se také nemusí jednat ani o falšování záměrné, jelikož jsou bio potraviny ohroženy sekundární kontaminací.

Jako jedno z možných řešení pro hodnocení, zda došlo v průběhu pěstování bio produktů k aplikaci nepovolených pesticidů, se nabízí analýza reziduí případných pesticidů. K tomu je však nutná důkladná znalost mechanismů, jakými se jednotlivé pesticidy v rostlinách odbourávají a jaké formy degradačních produktů při tom vznikají. Navíc některé metabolity mohou představovat stejné nebo dokonce i vyšší riziko než původní pesticidy. Pro identifikaci jednotlivých metabolitů se jako jedny z nejvhodnějších nástrojů jeví vzhledem ke své vysoké citlivosti a specifitě kapalinová nebo plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

2 Cíl práce

Cílem práce je formou literární rešerše zpracovat přehled o používání pesticidů a zjišťování jejich případných reziduí v bio a bezreziduální produkci včetně mapování současných legislativních předpisů, které tuto produkci vymezují. V rámci zjišťování autenticity deklarované bio a pesticide-free kvality zeleniny bude práce zaměřena také na sledování metabolizovaných forem aplikovaných pesticidů včetně jejich distribuce a metabolické přeměny v jednotlivých rostlinných částech. Zvláštní pozornost bude věnována především perzistujícím metabolitům. Dalším cílem je vymezit termíny bio a bezreziduální produkty a popsat, jakým způsobem může docházet k jejich falšování.

3 Pesticidy

Pojem pesticid doposud není přesně definován a nejčastěji se interpretuje jako látka určená k ochraně rostlin. Nicméně je to termín s širším významem, jak je stanoveno Nařízením Evropského parlamentu a Rady EU č. 649/2012, zahrnuje také biocidy. Biocidy jsou látky navržené pro účely jiné než ochrana rostlin (hubení a odpuzování škodlivých organismů pro člověka) a nepodléhají tak dohledu Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) (EFSA 2023).

Podle definice FAO, což je Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů, jsou pesticidy charakterizovány jako látky nebo jejich směsi, které slouží k prevenci, regulaci a eliminaci škůdců. Termín škůdci zahrnuje i organismy přenášející nemoci a nežádoucí druhy rostlin i živočichů, jež způsobují škody během procesu výroby, skladování, přepravy a uvedení produktu na trh. Produktem však nejsou jen potraviny, ale také zemědělské komodity, dřevo, dřevařské výrobky, krmiva a látky určené pro aplikaci na zvířatech s cílem hubení škůdců na nebo v jejich těle. Pesticidy též zahrnují regulátory růstu rostlin, látky k zabránění předčasnému opadu plodů a postupy pro ošetření plodů před nebo po sklizni (FAO & WHO 2014).

3.1 Historie pesticidů

Zemědělství se začalo poprvé vyvíjet přibližně před 10 000 lety v oblasti Mezopotámie. Avšak problémy se škůdci a chorobami způsobovaly značné ztráty v úrodě rostlin. V této době byla jedinou formou ochrany rostlin pouze modlitba a vytvoření kouře, který měl odpuzovat hmyz. První záznamy o použití insekticidů pocházejí z období před asi 4500 lety, kdy byly využívány sloučeniny síry k hubení hmyzu a roztočů. Později, před přibližně 3200 lety, byly k hubení vši používány i látky jako rtuť a arzenové sloučeniny. S postupem času začaly vznikat různé chemické metody na ochranu rostlin, a to jak s využitím anorganických, tak organických látek získaných z přírodních zdrojů, například pyrethrum získané ze sušených květů kopretin. Rozvoj syntetických pesticidů začal až ve 40. letech 20. století, kdy byly objeveny účinné látky jako DDT (1,1,1-trichlor-2,2-bisethan), aldrin, parathion, chlordan, kaptan a 2,4-D (kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová) (Unsworth 2010). Další objevy jsou popsány v tabulce 1.

Tabulka 1: Historie objevení některých pesticidů, upraveno dle Costa (1987); Dvoržáková (2020); Prokinová (2022).

ROK	PESTICID
1763	Nikotin jako insekticid proti mšicím
1800	Pyrethrin jako insekticid
1803	Sírovápenná jícha jako fungicid
1857	Síra jako fungicid pro révu vinnou
1865	Arsen jako insekticid proti mandelince bramborové
1880	Dovoz rotenonu do Evropy z Asie proti sviluškám
1911	První biologická ochrana rostlin (bakterie <i>Bacillus thuringiensis</i>)
1915	Sloučeniny arsenu a boru jako herbicidy
1939	DDT jako insekticid

1944	Parathion jako insekticid
1940-50	Organochlorové sloučeniny jako insekticid
1950	Karbamáty jako insekticid
1970	Modernější pyrethroidy
1974	Uvedení na trh herbicidu Roundup

Významným krokem vpřed bylo vytvoření mezivládní agentury, známé jako Organizace pro výživu a zemědělství (FAO), která vznikla v roce 1945. Tato organizace je součástí Organizace spojených národů (OSN/UN – United Nations), která byla založena s cílem spolupráce mezi zeměmi a přispět ke zlepšení potravinového zabezpečení a zemědělského rozvoje na celém světě (Prokinová 2022).

3.2 Kategorie pesticidů

Pesticidy lze klasifikovat podle různých hledisek, a to na základě jejich způsobu účinku, toxicity pro necílové organismy, míry toxicity, chemického složení a druhu škodlivého organismu, na který pesticid působí. Tato různorodá klasifikace pesticidů je důležitá pro správný výběr a použití těchto chemických látek v zemědělství k ochraně rostlin, s ohledem na jejich účinnost a dopady na životní prostředí.

3.2.1 Podle toxicity pro necílové organismy

Toto kritérium se zaměřuje na to, jaké pesticidy jsou nebezpečné pro ostatní organismy v ekosystému, kteří nejsou zamýšleni pro cíl účinku daného přípravku. Některé pesticidy mohou mít vedlejší účinky na přírodní predátory nebo na životní prostředí (Prokinová 2022).

- I. Živočichové včetně člověka
- II. Vodní organismy
- III. Půdní organismy
- IV. Hmyz
- V. Rostliny

3.2.2 Podle míry toxicity

Pesticidy také můžeme rozdělit do tzv. tříd toxicity na základě jejich zdravotního rizika. Tato klasifikace pesticidů je založena na podání střední letální dávky (LD_{50}) laboratorním zvířatům, která způsobí smrt u 50 % zvířat. Dále se dle podaného množství pesticidů zařadí do jedné ze čtyř tříd. Samozřejmě platí pravidlo dávka určuje jed, tudíž i látka ze skupiny mírně toxických ve velké dávce může působit jako velmi nebezpečná (Garcia 2012).

Tabulka 2: Rozdělení pesticidů na třídy dle jejich toxicity (mg/kg), upraveno dle Garcia (2012).

TŘÍDA	TOXICITA	PŘÍKLADY
Třída IA	extrémně nebezpečné	parathion, dieldrin
Třída IB	vysoce nebezpečné	eldrin, dichlorvos
Třída II	středně nebezpečné	DDT, chlordane
Třída III	mírně nebezpečné	malathion

3.2.3 Podle chemického složení

Tato klasifikace je založena na rozdělení pesticidů podle jejich chemického složení.

Tabulka 3: Rozdělení pesticidů do skupin dle jejich chemického složení, upraveno dle Rotter (2022); Stoytcheva (2011).

DRUH	POUŽITÍ	PŘÍKLADY
Organochloridy	insekticidy, v EU zakázané	DDT, dieldrin
Organofosfáty	insekticidy, nahrazeny neonikotinoidy	chlorpyrifos, fosmet, malathion, glyfosát
Neonikotinoidy	insekticidy, některé toxické i pro ptáky	imidacloprid, sulfoxaflor, imidacloprid, acetamiprid
Látky na bázi močoviny	systémové herbicidy	linuron, chlorsulfuron
Karbamáty	selektivní herbicidy, insekticidy, nematocidy a fungicidy	oxamyl, pirimicarb, mankozeb
Pyretroidy	insekticidy, nejvíce využívané jako antiparazitika, toxické i pro ptáky	pyrethrum, tefluthrin, deltamethrin
Triaziny	herbicidy a fungicidy, v EU velmi omezené	terbuthylazin, simazin, atrazin
Anilidy	systémové nebo selektivní herbicidy	alachlor, acetochlor, metachlor, propachlor
Fenoxyalkanové kyseliny	herbicidy	2, 4-D; MCPA; MCPB
Látky na bázi kovu	fungicidy, moluskocidy, toxické i pro ryby	sloučeniny mědi – síran měďnatý, oxichlorid mědi
Triazoly	fungicidy	difenoconazol, triadimenol
Kvarterní amoniové soli	regulátory růstu	chlormekvát

3.2.4 Podle toxicity pro cílové organismy

Pesticidy jsou také rozdělovány podle toho, proti jakému konkrétnímu škodlivému organismu jsou určeny. To může zahrnovat živočichy, plísňe nebo plevele. Také se mohou dále rozdělovat na kontaktní, které působí na povrchu rostliny, lokálně systémové, které pronikají

přes povrch až do pletiv, ale nejsou distribuovány v rámci celé rostliny a systémové pronikající do pletiva a působící v celém organismu (většinou způsobí jeho úhyn) (Dvoržáková 2020; Prokinová 2022).

3.2.4.1 Herbicidy

Herbicidy jsou chemické látky určené k potlačení nežádoucích rostlin, jako jsou plevely a invazní druhy, na daném místě. Tyto látky mohou být rozděleny do dvou hlavních kategorií podle svého působení. První z nich jsou selektivní herbicidy, které cílí přímo na konkrétní druh rostlin, což znamená, že ostatní zůstanou nedotčeny. Druhou kategorií jsou neselektivní herbicidy, které mají schopnost zničit jakékoliv rostliny, na které se aplikují, ať už jsou nežádoucí nebo pěstované. Využívání herbicidů umožňuje pěstovaným rostlinám přístup ke světlu, vodě a živinám bez omezení konkurenčními plevely (Prokinová 2022). Herbicidy mohou být aplikovány v různých stádiích růstu plodiny, jako je před setím, před vzejitím nebo po vzejití. Nejčastěji používané jsou karbamáty, amidy, nitrily, imidazoliny, pyridiny, triaziny nebo kyselina benzoová (Tadeo 2019).

3.2.4.2 Zoocidy

Zoocidy jsou látky, které mají toxický účinek na škodlivé živočichy, nejčastěji hmyz, které se živí rostlinnou šťávou nebo jinými způsoby poškozují rostliny. Nicméně škody mohou být způsobeny i jinými druhy živočichů. Zoocidy se klasifikují podle toho, proti jakému konkrétnímu typu škůdce působí: insekticidy proti hmyzu, akaricidy proti roztočům, nematocidy proti hár'átkům, moluskocidy proti slimákovitým a rodenticidy proti hlodavcům, jako jsou myši a krysy. Škůdci mohou zahrnovat také další druhy živočichů zahrnující i ptáky nebo savce, avšak v těchto případech se zpravidla používají odstrašující látky, známé jako repelenty. Jako konkrétní příklady zoocidů lze uvést látky jako warfarin, acetamiprid, imidaklopid a thiaklopid (Prokinová 2022).

3.2.4.3 Fungicidy

Fungicidy jsou přípravky určené k eliminaci a prevenci před nežádoucími houbami. Při použití fungicidů je klíčové udržovat různorodost účinných látek. Opakovaná aplikace jediné účinné látky jako preventivní opatření může vést k vytvoření rezistence hub vůči této látce, což snižuje její účinnost (Prokinová 2019). Prevence je však velmi důležitá, protože plodiny jsou náchylné na nepříznivé vlivy teploty a vlhkosti, což může způsobit značné problémy během přepravy a skladování plodů. Houby také produkují mykotoxiny, které mohou postihovat nejen rostliny, ale i zvířata a lidi. Po požití některých mykotoxinů hrozí halucinace, poruchy krevního oběhu, poškození jater a trávicího traktu, rakovina nebo odumírání svaloviny. Bohužel ani vysoké teploty nedokáží eliminovat všechny mykotoxiny, a proto je důležité před nimi rostlinu chránit (Dvoržáková 2020). Mezi nejběžněji používané látky patří například azoly, dithiokarbamáty, morfoliny a benzimidazoly (Tadeo 2019).

3.2.4.4 Pomocné přípravky na ochranu rostlin

Na rozdíl od většiny jiných pesticidů, které mají za cíl eliminovat škůdce toxickými účinky, pomocné přípravky jsou navrženy tak, aby modifikovaly nebo vylepšily určité vlastnosti rostlin. To může zahrnovat úpravu pH nebo jiné prostředky, které mají za úkol zlepšit specifické vlastnosti rostliny. Dále sem spadají přípravky pro ošetření ran na stromech po ořezu, feromony pro detekci škůdců, desikanty, které slouží k vysoušení plodů pro lepší skladování, a také přípravky, které zvyšují odolnost rostlin proti škůdcům. Mezi další pomocné přípravky patří repelenty a regulátory růstu, jejichž hlavním účelem není likvidace škůdců, ale optimalizace růstu a zdraví rostlin (Prokinová 2022).

3.3 Rizika pesticidů

Používání pesticidů může vést k přítomnosti jejich reziduí v potravinách, což mohou být buď samotné účinné látky nebo produkty jejich metabolismu. Do potravin se mohou dostat buď přímo, kdy účinná látka přijde do kontaktu s potravinou, nebo nepřímo (sekundární kontaminací), kdy se látka dostane do potravin prostřednictvím vody, půdy, vzduchu, opylovačů nebo krmiv. Následná zdravotní rizika se mohou projevit akutně, což nastává v případě krátkodobé konzumace potravin s obsahem reziduí pesticidů, které přesahují maximální reziduální limit (MRL). Také mohou být chronická, kdy se rizika projevují po dlouhodobém užívání potravin s nadměrným obsahem pesticidů, které přesahují maximální limit reziduí a daná látka se postupně v těle kumuluje (Pepperný 2015).

Maximální reziduální limit (MRL) se vztahuje na všechny potraviny určené pro lidskou potřebu a krmiva pro zvířata. Reguluje maximální přípustné dávky pesticidů v potravinách, aby se zajistila ochrana zdraví lidí i zvířat (Nařízení ES č. 396/2005).

Mezi akutní projevy krátkodobé expozice vysoké dávce pesticidu patří například bolest hlavy, štípání očí, puchýře, vyrážky, slabost, nevolnost, závratě, průjem a dýchací potíže, jako je astma, sípání, kašel, senná rýma až porucha funkce plic. Chronické neboli dlouhodobé vystavení vysoké hladině pesticidu má na lidské tělo tři druhy účinku a to neurotoxické, karcinogenní a vliv na reprodukci. Při neurotoxických účincích dochází k ovlivnění centrální nebo periferní nervové soustavy a hrozí například poruchy autistického spektra, poruchy pozornosti a paměti, deprese, Alzheimerova nebo Parkinsonova choroba. Karcinogenní účinky nastávají nejčastěji v kombinaci s genetickými faktory a životním stylem (strava, stres, infekce, expozice nebezpečným látkám). Také zde velkou roli hraje třída nebezpečnosti daného pesticidu (viz. kapitola 3.3.2). Vliv na reprodukci u mužů se nejčastěji projevuje sníženou hladinou testosteronu nebo zhoršenou kvalitou spermií. U žen hrozí poruchy cyklu, endometrióza, retardace růstu plodu nebo ztráta těhotenství (Nuro 2021).

Pro maximální omezení rizik je nutné zajistit, aby při používání přípravků na ochranu rostlin nedocházelo k výskytu reziduí pesticidů v potravinách na vysokých úrovních. Proto je nezbytné pečlivě monitorovat výskyt těchto reziduí a v případě potřeby zajistit, aby takto kontaminované potraviny nebyly distribuovány ke spotřebitelům (Pepperný 2015).

Zdravotní rizika však nevznikají pouze po konzumaci konkrétního výrobku nebo plodiny, ale také při expozici účinné látky během výroby, při její aplikaci nebo pobytu v

blízkosti místa aplikace. Nejvyšším rizikům jsou tedy vystaveni pracovníci, kteří přicházejí do kontaktu s pesticidem během jeho výroby nebo aplikace. Při nedodržování bezpečnostních postupů a nesprávném zacházení s pesticidy mohou tyto osoby trpět otravami. Nedodržením bezpečnosti práce a přinesením jejich pracovního oděvu domů dochází dokonce i k ohrožení všech osob domácnosti. Pesticidy však nepoškozují pouze lidský organismus, mají také negativní dopad na životní prostředí. Pokud se dostanou do vody, vzduchu nebo půdy, mohou ohrozit nejen necílové rostliny, ale také volně žijící živočichy, půdní ekosystémy a kvalitu podzemních i povrchových vod (Nuro 2021).

Pro větší přehlednost byla vytvořena globální mapa zemědělské půdy, využívající informace ze 168 zemí. Mapa odhaluje, že 64 % zemědělsky využívané půdy je ohroženo znečištěním pesticidy, a to více než jednou aktivní látkou, dále je 31 % zemědělské půdy vystaveno vysokému riziku znečištění pesticidy. Také poukazuje, že v Asii se nachází největší koncentrace oblastí s vysokým rizikem znečištění, a to zejména v Číně, Japonsku, Malajsii a na Filipínách. Přitom některé z těchto regionů jsou zásadní pro zajištění potravin pro velkou část světové populace (Tang et al. 2021).

3.4 Pesticidy v zelenině

Hlavním problémem spojeným s výskytem pesticidů v zelenině nejsou pouze samotná rezidua těchto látek, ale především kombinace více reziduí. I když koncentrace jednotlivých látek podléhají stanoveným limitům a přísným kontrolám, může se v půdě nebo podzemních vodách hromadit více reziduí různých druhů pesticidů z předešlých sklizní, které se poté dostávají do nové sklizně, tzv. sekundární kontaminace. Kombinace těchto reziduí, kterou je ve srovnání s jednotlivými látkami obtížné sledovat, může představovat vážné zdravotní i environmentální riziko. V roce 2021 bylo analyzováno celkem 87 863 vzorků. Z nich 48 916 vzorků nevykazovalo žádná měřitelná rezidua pesticidů, zatímco 35 483 analyzovaných vzorků obsahovalo měřitelná rezidua, která však nepřekročila zákonné limity. Celkem 96,1 % vzorků bylo v souladu se zákonnými limity. Míra překročení zákonných limitů se od roku 2020 z 5,1 % snížila na 3,9 %. U vzorků s překročeným limitem MRL se nejčastěji vyskytoval ethylenoxid, dithiokarbamat a sloučeniny mědi. Při analýze ethylenoxidu z celkem 2011 vzorků byl překročen limit MRL až u 133 vzorků (sezamová semínka, kurkuma a chilli papričky z Indie). Roku 2020 přišlo varování pomocí systému RASFF na dodávku sezamových semínek z Indie. Členskými státy také bylo doporučeno zaměřit pozornost na rýži, kurkumu a chilli papričky dovážené z Indie (Carrasco Cabrera et al. 2023).

Pokud jsou při pěstování zeleniny dodrženy správné pracovní postupy a dostatečná ochranná lhůta, tak se použití pesticidů neprojeví jejich významnější přítomností ve sklizených plodinách. Rezidua pesticidů v zelenině dosahují nejvyšších koncentrací především fungicidy a insekticidy. Největším rizikem je hlavně listová zelenina, kdy nesprávným použitím listových herbicidů, jako jsou quizalofop a fluazifop, může docházet k hromadění vysokého obsahu reziduí v plodinách. Jako příklady nejvýznamnějších zdrojů reziduí fungicidů lze uvést cyprodinil, iprodion, azoxystrobin, tebukonazol a benzimidazol. Z insekticidů se v listové zelenině nejčastěji vyskytují například rezidua chlorpyrifosu, acetamipridu, imidaklopridu a deltamethrinu. Naopak nižší koncentrace reziduí pesticidů jsou zpravidla v kořenové a

cibulové zelenině, kukuřici a v semenech obsažených v plodech, jako jsou hrachová či fazolová semena a semena olejnin (Kocourek & Stará 2021). Organizace EWG (Environmental Working Group), která se specializuje na ochranu lidského zdraví a životního prostředí, nedávno zveřejnila zjištění, podle kterých téměř 70 % zemědělských produktů obsahuje rezidua pesticidů. Organizace také sestavila seznam nazývaný "špinavých dvanáct" a "čistých patnáct". Mezi zeleninu a ovoce zařazené mezi "špinavých dvanáct" patří jahody, špenát, kapusta, nektarinky, jablka, hroznové víno, broskve, třešně, hrušky, rajčata, celer a brambory. Bohužel tak ovoce a zelenina s vysokým obsahem vitaminů a antioxidantů ztrácí kvůli škodlivým látkám z chemických postřiků na své nutriční hodnotě. Naopak skupina "čistých patnácti" obsahuje plodiny, které mají nižší obsah pesticidních reziduí a zahrnuje avokádo, kukuřici, ananas, cibuli, papáju, hrášek, lilek, chřest, květák, meloun, brokolici, žampiony, hlávkové zelí, ananasový meloun a kiwi (EWG 2024).

V mnoha případech lze množství škodlivých látek v plodinách snížit pouhým omytím vodou. Tento proces však není závislý na rozpustnosti pesticidu ve vodě, ale na mechanickém odstranění těchto látek proudem vody. Důležité je zdůraznit, že toto pravidlo neplatí pro všechny pesticidy, jako je například vinklozolin, bifenthrin a chlorpyrifos (Krol et al. 2000).

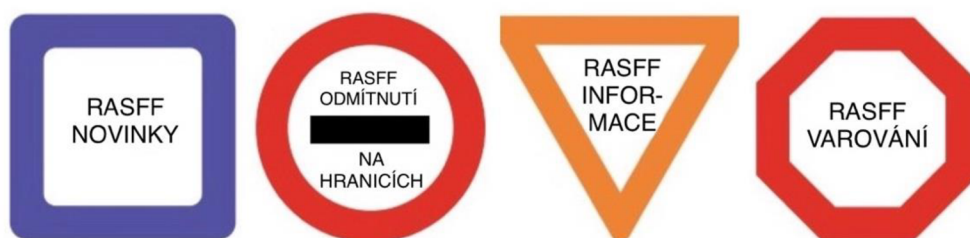
4 Použití pesticidů a legislativa

4.1 Kontrolní mechanismy

Asi jako první kontrolní mechanismus vznikl v USA roku 1947 Federální zákon o insekticidech, fungicidech a rodenticidech (FIFRA – The Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act), pod Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA – Food and Drug Administration) a americkým Ministerstvem zemědělství (USDA – U.S. Department of Agriculture). Až roku 1970 byla založena americká Agentura pro ochranu životního prostředí (EPA, U.S. Environmental Protection Agency), do té doby nebyly pesticidy registrovány a dostatečně kontrolovány. EPA dodnes spolupracuje s úřady při provádění registrací pesticidů, kontrole jejich bezpečnosti, monitorování dodržování předpisů, bezpečnosti zemědělských pracovníků, ale i při dovozu a vývozu pesticidů (Yen & Esworthy 2012).

Po druhé světové válce v Evropě, kdy došlo k rozsáhlým ztrátám a znehodnocení zemědělského sektoru, došlo k iniciativě spojení sil a vytvoření tzv. Společné zemědělské politiky (SZP) v roce 1962. SZP stanovila cíle na určité období a zavedla ekonomický systém cenové a tržní podpory. Počátečním cílem SZP bylo zvýšit výnosy zemědělství a stabilizovat trhy. Avšak v průběhu času se SZP rozvíjela a přecházela od záchraně zemědělství k jeho modernizaci a zdokonalení. Například v roce 1970 byl představen Marshallův plán modernizace, v roce 1984 byl zaveden systém kvót, který stanovil maximální povolené množství produkce. V roce 1992 přišly MacSharryho reformy, které se zaměřily na zvýšení příjmů zemědělců a zlepšení kvality potravin. V roce 1999 byl důraz kladen na rozvoj venkova a roku 2013 proběhla první reforma SZP v rámci Evropské unie, která klade důraz na udržitelnost zemědělství a spravedlivější rozdělení podpory. Roku 2021 se cílem stalo vytvořit spravedlivější a ekologičtější politiku pro zemědělství (European Council 2024).

Mezi některými evropskými státy (Spojené království, Belgie, Francie, Německo, Irsko, Itálie, Holandsko a Dánsko) byl v roce 1979 založen velmi užitečný systém pod názvem RASFF (systém rychlého varování pro potraviny a krmiva). Jeho hlavním cílem bylo rychle informovat ostatní státy o možných rizicích způsobených potravinami nebo krmivy. S postupem času se tento systém stal nedílnou součástí fungování Evropské unie. Od založení systému RASFF až do roku 2021 bylo zaznamenáno celkem 23 674 oznámení o rizicích souvisejících s potravinami (European Commission 2024). Tato oznámení jsou rozdělena do čtyř různých kategorií podle závažnosti situace. Patří sem varování (nutnost okamžitého opatření, pokud je potravinu již na trhu), informace (pokud potravinu ještě není na trhu), odmítnutí na hranicích a oznámení novinek (Nařízení č. 178/2002). Každý členský stát Evropské unie musí mít instituci, která zajišťuje komunikaci v rámci systému RASFF, a v případě České republiky se jedná o Státní zemědělskou a potravinářskou inspekci (SZPI) (Nařízení č. 98/2005).



Obrázek 1: Typy oznámení RASFF, upraveno dle *Bezpečnost potravin (2024b)*.

Pro podporu spolupráce mezi kontinenty vznikla v roce 2001 díky Organizaci spojených národů (OSN) Stockholmská úmluva o persistentních organických polutantech (POP's). Tyto persistentní organické látky jsou známé svou škodlivostí pro organismy a životní prostředí a zejména tím, že se akumulují v živých organismech a prostředí. Mezi příklady těchto látek patří DDT, chlordan, hexachlorbenzen, mirex, aldrin, endrin a PCB (polychlorované bifenoly). Stockholmská úmluva byla vytvořena s cílem stanovit správné postupy pro zacházení s těmito látkami a případně jejich odstranění. Každý stát, který je členem OSN, je povinen na základě této úmluvy pravidelně vypracovávat vlastní národní implementační plán (NIP). V České republice se za tímto účelem národní implementační plán vypracovává Národním centrem pro toxické látky (Sdělení č. 40/2006 Sb.).

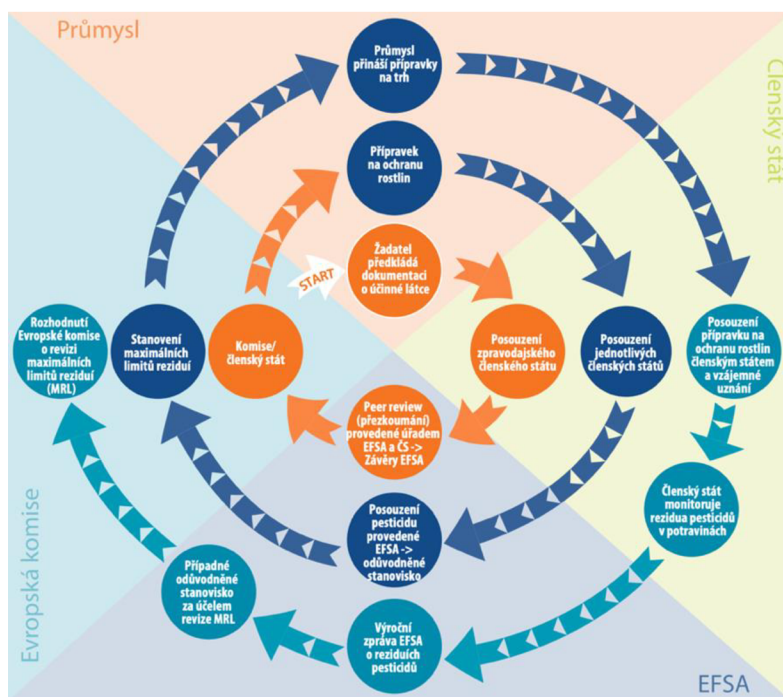
V Evropské unii bylo první nařízení týkající se potravinového práva a bezpečnosti potravin přijato až v roce 2002 pod Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002. Tímto nařízením byly stanoveny obecné zásady a požadavky potravinového práva, vytvořen Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) a upraveny postupy týkající se bezpečnosti potravin (Nařízení č. 178/2002). V tom samém roce byl také zřízen Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA), jehož úkolem je shromažďovat nové vědecké informace a nezávisle informovat a spolupracovat s členskými státy EU ve snaze ochránit spotřebitele (EFSA 2017). Významnou změnou bylo přijetí Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 v roce 2006, které je známé jako REACH (registrace, hodnocení, povolování a omezení chemických látek). Toto nařízení vedlo k vzniku Evropské agentury pro chemické látky (ECHA), která je zodpovědná za dodržování nařízení REACH.

V průběhu let vydal Evropský parlament mnoho dalších právních předpisů týkajících se pesticidů, například Nařízení (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, Nařízení (ES) č. 649/2012 o vývozu a dovozu nebezpečných látek, Nařízení (ES) č. 1107/2009 o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh, Směrnice 2009/128/ES o udržitelném používání pesticidů. Pro Českou republiku začala platit tato pravidla a nařízení po jejím vstupu do Evropské unie v roce 2004.

4.2 Vývoj regulace

Systém schvalování pesticidů v Evropské unii patří mezi ty nejprísnejší a nejnáročnější na celém světě. Jeho legislativa spočívá v principu předběžné opatrnosti. Hodnocení bezpečnosti pesticidů je neustále kontrolováno a aktualizováno podle nejnovějších vědeckých poznatků. Povoloovací procesy však vyžadují vysoké náklady, časovou náročnost a důkladnou dokumentaci. Účinné látky jsou proto schvalovány na omezenou dobu, nejčastěji deseti let, po uplynutí této doby je možné podstoupit proces obnovy povolení. Samotný proces schvalování pesticidu v EU obsahuje čtyři fáze. První fáze zahrnuje posouzení a schválení účinných látek Evropskou komisí. Druhá fáze spočívá v posouzení a schválení pesticidních přípravků jednotlivými členskými státy. Následuje monitorování jeho používání, a nakonec může dojít k přezkoumání a obnově povolení (Dvoržáková 2020). Podrobnější postup povolování pesticidů je znázorněn na obrázku 2.

Moderní zemědělská praxe v dnešní době už není bez používání pesticidů reálná. Starší pesticidy, jako například DDT nebo HCB, byly nahrazeny novějšími látkami, jejichž účinnost na cílové organismy je vyšší než na organismy, které nejsou cílem aplikace a nezpůsobují tak velká rizika (Poláková & Kosubová 2021). Každý zakázaný pesticid musí mít před jeho zákazem adekvátní náhradu, což občas vede ke sporům a úpravám nařízení.



Obrázek 2: Schéma procesu povolování pesticidu v EU, upraveno dle Bezpečnost potravin (2024a).

Aktuální a plánované zákazy pesticidů pravděpodobně ovlivní postup pěstování a bude nutné přejít k využívání integrované ochrany rostlin.

4.2.1 DDT

Účinnost DDT jako insekticidu byla objevena v roce 1939, poté především během druhé světové války začaly Spojené státy masově vyrábět tento pesticid k boji s chorobami, jako je tyfus a malárie. V roce 1970 rozhodla agentura USDA o zrušení povolení přípravků obsahujících DDT. Avšak od roku 1973, kdy EPA provedla důkladné přezkoumání, postupně začala povolovat používání DDT v některých oblastech, jelikož nebyla nalezena adekvátní náhrada. V roce 1974 bylo DDT opět povoleno, avšak za přísných podmínek, protože podle posouzení EPA neexistovala žádná účinná alternativa k tomuto pesticidu (EPA 1975). Světová zdravotnická organizace (WHO) v roce 2006 vyjádřila podporu používání DDT v afrických zemích, kde malárie stále představuje významný zdravotní problém. Organizace WHO zdůraznila, že přínosy DDT v boji proti malárii převažují nad případnými zdravotními a environmentálními riziky. Proto je rozhodnutí o používání DDT dodnes ponecháno na jednotlivých zemích (EPA 2024). V České republice bylo DDT zakázáno v roce 1974 kvůli jeho kumulativní toxicitě a dlouhé době rozkladu v životním prostředí, která může trvat až 15 let (Velíšek 2013).

4.2.2 Glyfosáty

Glyfosáty jsou klíčovou složkou herbicidu Roundup, který je na trhu již od roku 1974. Vědecký výzkum na myších v roce 2014 naznačoval, že glyfosát není toxický pro živočichy a je považován za látku s relativně nízkou toxicitou bez prokázaných karcinogenních nebo teratogenních účinků (Mesnage et al. 2015). Ovšem v roce 2015 dospěla Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) k závěru, že glyfosát pravděpodobně způsobuje rakovinu (IARC 2018). Naproti tomu v roce 2015 Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) konstatoval, že dostupné důkazy jsou nedostatečné pro klasifikaci glyfosátu jako karcinogenní látky (EFSA 2015). Některé studie vyjadřují pochybnosti o bezpečnosti herbicidu Roundup a tvrdí, že samotný glyfosát sice nemusí být toxický, ale genotoxické účinky tohoto přípravku mohou být způsobeny jinými obsaženými látkami, zejména povrchově aktivní látkou POEA (polyoxy-ethylenamin) (Mesnage et al. 2015). Dále v roce 2022 potvrdila Agentura ECHA nebezpečnost glyfosátu, zejména jeho škodlivý vliv na oči a toxicitu pro vodní organismy. Nicméně nepotvrdila jeho karcinogenitu ani mutagenitu. Evropská komise v reakci na tuto situaci prodloužila povolení k používání glyfosátu o jeden rok do prosince 2023, aby úřadu EFSA poskytla dostatek času na kompletní přezkoumání (EFSA 2023). Po přezkoumání EFSA opět povolila používání glyfosátu až do roku 2033 (Nařízení č. 2023/2660).

4.2.3 Chlorpyrifos

V roce 2020 Evropská komise rozhodla o zákazu jedné z nejčastěji používaných účinných látek ze skupiny organofosfátů, a to konkrétně chlorpyrifos a chlorpyrifos-methyl, a to dokonce v rámci zrychleného řízení. Tato opatření postihlo široce využívaný insekticid Nutrelle D, který obsahoval chlorpyrifos. Tento insekticid byl často využíván při vysokém stupni napadení škůdci, kdy jiné insekticidy selhávaly (Poláková & Kosubová 2021).

Při sledování se zjistilo, že nálezy chlorpyrifosu v půdě jsou spíše sporadické, avšak v rostlinách nebo plodech se s nimi setkáme velmi často. Nižší počet nálezů v půdě lze vysvětlit tím, že přípravky obsahující tuto látku jsou aplikovány do vzrostlých částí rostlin (Poláková & Kosubová 2021).

V dubnu 2023 se objevily mnohé zprávy týkající se obsahu chlorpyrifosu v obilí, které bylo dovezeno do České republiky z Ukrajiny. Ministerstvo zemědělství však tuto informaci vyvrátilo, jelikož veškerý dovoz zboží podléhá řádné kontrole. Tato kontrola slouží k zajištění bezpečnosti potravin a minimalizaci přítomnosti potenciálně nebezpečných látek, včetně pesticidů (MZe 2023).

4.2.4 Bifenthrin

Bifenthrin, zařazovaný do skupiny širokospektrých nesystémových pyrethroidních insekticidů, se stal součástí pesticidů od roku 1985. Mezi lety 2008 až 2017 byl hojně využíván především při pěstování fazolí, jahod, melounu a brusinek. Americká agentura EPA bifenthrin však následně označila za možný lidský karcinogen, jeho používání se muselo velmi omezit a podléhá přísným regulacím (EPA 2020).

V roce 2018 se do České republiky dostala jablka dovážená z Polska s vyšším množstvím bifenthrinu, než je povolený limit. Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) na tuto situaci rychle reagovala, kontaktovala evropský systém rychlého varování RASFF a stáhla jablka z trhu (Kopřiva 2018a).

4.2.5 Karbofuran

Karbofuran patří mezi nejnebezpečnější karbamátové pesticidy, a to díky svým toxickým vlastnostem. Přestože byl karbofuran využíván od roku 1969 k hubení škůdců, evropská legislativa v roce 2007 rozhodla o jeho zákazu. Toto opatření bylo přijato s ohledem na vysokou toxicitu látky a riziko pro životní prostředí, zejména pro ptáky, savce, včely, vodní a půdní organismy (Rozhodnutí Komise 2007/416/ES).

Nicméně v roce 2018 byly na trhu zjištěny 2 tuny Goji (sušené ovoce kustovnice čínské), dovezené z Číny s obsahem karbofuranu (Kopřiva 2018b). A následně v roce 2022 Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) společně s Celní správou identifikovaly zásilku o hmotnosti 600 kg potravin, dovezenou z Kambodže, která obsahovala směs až 7 pesticidů nad povolenou hranicí, a to včetně karbofuranu (Kopřiva 2022).

4.3 Certifikace

V nedávných letech získaly ekologické výrobky ohromnou pozornost na trhu a staly se klíčovým obchodním faktorem. Certifikace byly představeny jako účinný nástroj, který může pozitivně ovlivnit udržitelnost výrobků a tím zvýšit konkurenceschopnost podniků. Dvě z těchto certifikací jsou bio a fairtrade. I když tyto certifikace můžeme vnímat jako podobné, ve skutečnosti mají odlišné zaměření a cíle. Bio certifikace se soustředí na zemědělské metody a využívání přírodních zdrojů. Na druhé straně fairtrade certifikace je zaměřena na etické aspekty obchodování s produkty, zejména s těmi pocházejícími z rozvojových zemí (Kononets & Treiblmaier 2021).

4.3.1 Bio certifikace

Biopotraviny jsou výrobky pocházející z ekologického zemědělství, které se vyznačují zvýšenou kvalitou. Termíny bio a eko, jsou právně chráněny v souvislosti s potravinami na úrovni legislativy Evropské unie. Tato legislativa zakazuje zneužití těchto termínů a stanovuje možnost pokut pro osoby, které porušují tato pravidla (Nařízení EU č. 2018/848).

Každý nový účastník, který se zabývá produkcí, zpracováním, skladováním nebo dovozem ekologických produktů nebo produktů z období přechodu a chce své produkty prodávat jako bio, musí podstoupit registraci. Registraci zřizuje Ministerstvo zemědělství po uzavření smlouvy s kontrolní organizací. Kontrolní organizace jsou v České republice celkem čtyři, a to KEZ o.p.s., ABCERT AG, Biokont CZ s.r.o. a Bureau Veritas Czech Republic spol. s r.o. Ti, kteří se rozhodnou pro ekologické zemědělství, musí začít tím, že si vyberou jednu z těchto certifikačních organizací. Prvním krokem je vstupní kontrola, kterou provádí zvolená certifikační organizace. Během této kontroly se prověřuje, zda žadatel splňuje stanovené ekologické standardy a požadavky. Po úspěšném absolvování vstupní kontroly následně zájemce podá žádost o registraci ekologického zemědělství u Ministerstva zemědělství. Poté může žadatel používat označení bio nebo eko, což umožňuje zákazníkům identifikovat a důvěřovat daným produktům (Zákon č. 242/2000 Sb.).

Povinnost registrace se však nevztahuje na veřejné stravování, produkty nezemědělského původu nejsou-li určeny k lidské spotřebě nebo jako krmiva, což zahrnuje výrobky jako kosmetiku, oblečení, cigarety a další. Maloobchody, které nabízí pouze zabalené a označené biopotraviny koncovým spotřebitelům, jsou také z povinnosti registrace vyjmuty. Výjimkou jsou internetové obchody, které prodávají biopotraviny, ty už mají povinnost dodržovat ekologické normy a standardy, aby mohly označovat své produkty jako bio (Nařízení č. 2017/625).

Pro získání certifikace musí být splněna veškerá legislativa Evropské unie. Navíc musí být splněna i národní legislativa, což je pro Českou republiku Zákon č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství a Vyhláška č. 16/2006, kterou se provádějí některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství. Získání bio certifikace je pouze začátkem, neboť nařízení a normy musí být nadále dodržovány a jsou pravidelně nebo náhodně kontrolovány kontrolními organizacemi, stejně jako Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZUZ), podle platného Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 2017/625. Pokud dojde k vážnému porušení předpisů ekologického zemědělství, může být certifikát

odebrán. V ekologické výrobě platí zásada, co není povoleno, je zakázáno. To znamená, že nelze používat hnojiva a přípravky pro ochranu rostlin před škůdci, chorobami a plevely, které nejsou povoleny v rámci ekologického zemědělství. Pěstování by mělo probíhat za použití pouze biologických, mechanických a fyzikálních postupů, a využití chemikálií by mělo být minimalizováno. Seznam povolených látek pro ekologické zemědělství je uveden v přílohách prováděcího Nařízení Komise (EU) 2021/1165. Kromě toho musí být zpracování ekologických potravin odděleno časově nebo prostorově od jiných než ekologických potravin, aby nedošlo ke kontaminaci (Nařízení č. 2017/62). Daný bioprodukt nebo biopotravina musí být vhodně identifikován pomocí odpovídajícího loga. Kromě evropské certifikace pro ekologické zemědělství mají některé země a regiony své vlastní národní nebo místní certifikace (Kononets & Treiblmaier 2021).

V České republice musí být biopotraviny označeny jak národním logem, známým jako biozebra, tak i logem evropským. Biopotraviny dovezené z jiných zemí mohou, ale nemusí být označeny biozebrou. Značka biozebr s nápisem "Produkt ekologického zemědělství" je používána jako celostátní ochranná známka pro biopotraviny. Toto logo lze používat pouze v souladu s ustanoveními Zákona č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, a Vyhlášky č. 16/2006 Sb. Kromě grafického symbolu BIO musí být na biopotravině uveden také číselný kód kontrolní organizace (CZ-BIO-xxx). Barva loga se může lišit dle barvy obalu, aby bylo vždy dobře viditelné, viz obrázek 3.



Obrázek 3: Loga pro bio produkty v ČR, upraveno dle MZe (2024a).

Grafický znak loga EU, který označuje ekologickou produkci, je definován v Nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů. Stejně jako české logo se smí uvádět na trh v různých barvách dle barvy obalu, viz. obrázek 4. Při používání tohoto loga EU na obalech biopotravin je nutné rovněž uvádět místo, kde byly vyprodukovány zemědělské suroviny. Pro biopotraviny dovážené do EU ze třetích zemí je použití evropského loga dobrovolné (Nařízení č. 834/2007). Produkt, který je dovezen do Evropské unie ze třetích zemí, může být označen jako ekologický pouze za předpokladu, že dovozce má ekologický certifikát s činností dovoz. Dále je nezbytné, aby producent ve třetí zemi byl certifikován příslušným kontrolním orgánem, a celá zásilka měla certifikát COI (potvrzení o kontrole). Tento proces zajišťuje, že bioprodukty dovážené z třetích zemí splňují stejné ekologické normy a standardy jako ty, které jsou vyžadovány v rámci EU, což chrání spotřebitele (Nařízení č. 2021/1378).



Obrázek 4: Loga pro bio produkty v EU, upraveno dle MZe (2024a).

Certifikace bioproduktů může být samozřejmě i zrušena, a to z několika důvodů. Prvním z nich je vlastní žádost, kterou může podat držitel certifikace na Ministerstvu zemědělství. Dalším důvodem je opakované porušování stanovených ekologických požadavků či norem ze strany držitele certifikace, což může vést k odebrání úřadem. Kromě toho může certifikace zaniknout v případě, že držitel zemře, dojde k zániku jeho IČ (identifikační číslo) nebo pokud ekologickou farmu převede na jinou osobu (Zákon č. 242/2000 Sb.).

4.3.2 Fairtrade

Fairtrade je certifikace, která se zaměřuje na produkty, které splňují stanovené sociální, ekonomické a ekologické standardy. Tato certifikace má za cíl poskytnout pěstitelům, zaměstnancům a řemeslníkům z rozvojových zemí možnost žít se svou prací za důstojných podmínek. Klíčovými prvky Fairtrade jsou spravedlivější obchodní podmínky, dodržování lidských a pracovních práv a ohleduplnost k životnímu prostředí (Fairtrade 2024). Fairtrade se aktivně angažuje v udržitelném rozvoji území, chrání pracovní sílu před nespravedlivým vykořisťováním, zajišťuje rovnost pohlaví a omezení dětské práce. Kromě toho se usiluje o to, aby zemědělci byli spravedlivě odměněni za svou práci. To zahrnuje podporu přímého obchodu, snižování zprostředkovatelů a regulaci používání chemických pesticidů při pěstování plodin (Kononets& Treiblmaier 2021). Zaměřuje se na různé druhy produktů, které jsou produkovány především drobnými pěstiteli. Mezi tyto produkty patří například káva, čaj, třtinový cukr, kakao, banány, rýže, obilniny, koření, bavlna a řezané květiny. Produkty s touto certifikací můžeme identifikovat díky známce fairtrade, která má několik variant. Klasická modro-zelená známka označuje produkty, u kterých všechny suroviny pocházejí od certifikovaných výrobců, (viz. obrázek 5). Existují ale také speciální známky pro konkrétní produkty a organizace, jako například Světová fairtraidová organizace (WFTO - viz. obrázek 6) (Fairtrade 2024).



Obrázek 5: Logo fairtrade,
upraveno dle Fairtrade (2024).



Obrázek 6: Logo WFTO,
upraveno dle Fairtrade (2024).

5 Bioprodukce

Bioprodukty jsou produkty vyprodukované ekologickým zemědělstvím, které musí splňovat podmínky podle Zákona č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství, Nařízení Rady (EU) č. 834/2007 a prováděcí Nařízení Komise (EU) č. 2021/1165 a jsou řádně označeny.

Ekologické zemědělství, také označované jako alternativní nebo organické, klade důraz na využívání obnovitelných zdrojů a recyklaci. Jeho postupy zahrnují používání šetrné techniky k životnímu prostředí, přičemž se upřednostňují biologické a mechanické metody namísto syntetických chemických pesticidů. Tento způsob zemědělství chápe přírodu jako celistvý systém, do něhož patří i člověk, a nesnaží se ji uměle přetvářet či ovlivňovat. Hlavním cílem ekologického zemědělství je produkovat dostatečné množství potravin s vysokou kvalitou (biokvalitou) a zdravotní nezávadností při striktním dodržování pravidel ekologické produkce (Červenka 2005). Produkty ekologického zemědělství mohou být jak živočišného, tak rostlinného původu. Významným omezením v ekologickém zemědělství je striktní zákaz používání geneticky modifikovaných organismů. Při pěstování rostlin v ekologickém zemědělství jsou zakázány konvenční pesticidy, syntetická hnojiva, antibiotika a další chemické látky (Skrodzka 2017). Principy úpravy biopotravin zahrnují minimální zpracování potravin s důrazem na zachování její čerstvosti a přirozených nutričních i sensorických vlastností. Při ekologickém zpracování jsou zakázány metody jako ozařování, mikrovlnný ohřev, chemické zjemňování, uzení a nakládání s využitím chemikálií, působení hormonů a přídavných enzymů, bělení a přidávání syntetických aditiv (Šánová 2006). Je však důležité zdůraznit, že k výrobě biopotravin mohou být, kromě samotných ekologických surovin, použity i produkty konvenčního zemědělství, ovšem pouze v omezeném množství, které nesmí překročit 30 % celkového obsahu potravin. Původ, druh a množství neekologických surovin musí být jasně uvedeny na obalu. Celý proces výroby bioproduktu, včetně receptury, popisu technologické linky a postupů výroby a balení, musí být pečlivě zdokumentován pro případnou kontrolu (Červenka 2005).

První ekologické zemědělství vzniklo v 20. letech 20. století jako kritika průmyslového potravinového systému a z obav z negativních dopadů pesticidů, antibiotik a hormonů na lidské zdraví. Postupně, s nárůstem popularity prodeje ekologicky produkovaných potravin, začaly organizace zaměřené na ekologické zemědělství požadovat jasné označení pro ekologické produkty, což vedlo k vytvoření národních ekologických norem kolem osmdesátých let 20. století (Seufert et al. 2017). Od té doby trh s biopotravinami stále roste. V roce 2009 dosáhl evropský obrat z prodeje biopotravin až 18,4 miliardy eur. Vědecký výzkum kvality potravin se následně soustředil na porovnání ekologických a konvenčních výrobních metod (Kahl et al. 2012) Podle výzkumu Virginie Worthington (2001) byly zjištěny výrazné rozdíly v obsahu živin mezi ekologickými a konvenčními plodinami. Ekologické plodiny vykazovaly vyšší obsah vitamínu C, železa, hořčíku a fosforu, přičemž obsah dusičnanů byl výrazně nižší ve srovnání s konvenčními plodinami. Také měly zanedbatelně nižší obsah bílkovin, avšak vyšší kvality. Ovoce a zelenina pěstované ekologicky měly vyšší obsah základních minerálních látek a nižší obsah nebezpečných chemikálií, těžkých kovů a reziduí pesticidů oproti konvenčním.

5.1 Přípravky používané pro bioprodukci

Ekologické zemědělství má hlavní cíl dlouhodobě udržitelné produkce potravin s vysokou kvalitou a zdravotní bezpečností. Syntetické chemické látky zde nejsou povoleny, a místo nich se využívají mechanické a fyzikální metody. Přesto jsou v některých případech povoleny přírodní pesticidy (biopesticidy) nebo biologické metody ochrany rostlin.

Biologická metoda ochrany rostlin před chorobami a škůdci se opírá o dvě hlavní strategie. První zahrnuje podporu užitečných organismů v daném prostředí, zatímco druhá strategie spočívá v umělém zavádění těchto organismů do prostředí, což je známé jako introdukce (Prokinová 2017). V rámci ekologického zemědělství jsou veškeré vnější vstupy do produkce a zpracování omezeny tzv. pozitivními seznamy účinných látek, materiálů a složek uvedených v Přílohách I. – IX. prováděcí nařízení Komise (EU) č. 2021/116. Tyto seznamy jsou každoročně aktualizovány danou zemí a ekologický zemědělec je povinen se jimi řídit. Přehled těchto povolených přípravků je rozčleněn podle chemického složení na minerální, organické, organominerální a pomocné látky.

Biopesticidy určené pro pěstování zeleniny jsou obvykle založeny na několika organismech s účinky proti škůdcům a chorobám, lze je rozdělit na mikrobiální, biologické a semichemické. Mikrobiální přípravky, známé také jako biopreparáty, obsahují bakterie, houby, oomycety, viry a prvoky, které slouží k ochraně rostlin před škodlivým hmyzem, patogeny a plevely (Chandler et al. 2011). Mezi nejčastěji používané patří bakterie *Bacillus thuringiensis*, která funguje jako insekticid a bakterie *Bacillus subtilis*, která působí jako fungicid. Dalším významným zástupcem je plíseň *Paecilomyces lilacinus* sloužící jako nematocid. Tato plíseň působí proti škodlivým hlísticím (nematodám), které mohou poškozovat kořeny rostlin a ovlivňovat jejich růst.) (Kumar J et al. 2021). Biologické prostředky neboli botanické insekticidy, využívají rostlin produkujících různé sekundární metabolity, které odpuzují býložravce od konzumace rostliny. Jedná se například o pyrethroidy z kopretiny starčkolisté (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), azadirachtin z rostliny *Azadirachta indica* a látky jako quassin a neoquassin z jihoamerického keře hořkoně obecného (*Quassia amara*) (Prokinová 2017). Dále se také využívá extrakt z křídlatky sachalinské (*Reynoutria sachalinensis*) jako fungicid. Semichemikálie jsou látky produkované organismy, které ovlivňují chování jiných organismů, jako jsou pohlavní feromony (Chandler et al. 2011). Tyto feromony jsou využívány při metodě matení, kdy samec hledá samičku uvolňující tyto látky, čímž se omezuje jejich rozmnožování. Feromony jsou také využívány v metodě attract&kill, kdy je samec nalákan do uzavřené nádoby a následně usmrcen. Dalšími používanými látkami v bioprodukci jsou elicitory, které podporují odolnost rostliny proti patogenům (např. kokosové mýdlo a jílové minerály) nebo anorganické látky (síra, měď nebo uhličitany) (Prokinová 2017).

5.2 Kontrola certifikace

Biopotraviny jsou zpravidla dražší a tato vyšší cena je pro spotřebitele odůvodněna pouze logem, které potravina získá po splnění všech kritérií pro ekologické zemědělství. Musí však vložit svou důvěru ve státní instituce a výrobce, že tomu, tak opravdu je (Manning

& Kowalska 2021). Může však nastat potravinový podvod, který nastává ve chvíli, kdy dodavatel záměrně padělá, nahradí, zkreslí nebo zfalšuje potravinu pomocí přísad nebo obalu. Tím zdánlivě zvýší její hodnotu a získá neoprávněný ekonomický prospěch ve formě vyššího zisku. Nejčastější formy podvodu zahrnují neoprávněné označení eko nebo bio, nepravdivé uvádění původu potraviny, nedostatečné a klamné informace na výrobku nebo příměsi sloužící ke zvětšení objemu (například skořápky v koření) (Kwasi et al. 2023). Ilustrativní příklad lze nalézt v události z roku 2019, kdy bylo v Itálii a Srbsku zatčeno devět osob za výrobu a obchodování s falešnými ekologickými nápoji, džemy, marmeládami a dalšími konzervovanými potravinami. Tyto výrobky byly vyrobeny z rozkládajících se jablek kontaminovaných mykotoxiny a dalšími toxickými chemickými látkami, což představovalo nebezpečí pro lidské zdraví. Následně byly upraveny vodou a cukrem a byly propagovány jako ekologické výrobky evropského původu (Eurojust 2019).

Pro zamezení takových případů je v každé zemi pověřen orgán, který má za úkol kontrolu ekologických zemědělců a jejich výroby. V České republice je za dodržování zákona o ekologickém zemědělství odpovědné Ministerstvo zemědělství. To povolává danou kontrolní organizaci, kterou si zemědělec vybral při registraci, aby prováděla nezávislé kontrolní orgány (viz. kapitola 4.3.1). Pověřený inspektor nesmí provádět kontrolu stejného podniku déle než dva roky a musí se vyvarovat střetu zájmů. Kontrola ekologického podniku zahrnuje sběr informací o vstupech, procesech, zařízeních a výrobcích, a to ve srovnání s požadavky platnými v zákoně. Po provedení kontroly inspektor sestaví zprávu, která obsahuje popis případných zjištěných nedostatků (Červenka 2005). Někdy se do kontrol zapojují i státní dozorové orgány, jako jsou Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZUZ), Státní veterinární správa (SVS), Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI). K analýze odebraných ekologických vzorků během kontrol slouží přímo určené certifikované laboratoře, a to VŠCHT, ÚKZUZ, LABTECH, NEREZ Blučina a Státní veterinární ústav v Jihlavě (Nařízení č. 2017/625). Existuje několik typů kontrol, včetně ohlášených, jako jsou vstupní a řádné kontroly, která se provádí jednou ročně u všech podniků. Dále jsou zde, ale i kontroly, které se nemusí každoročně týkat všech podniků a mohou být ohlášené nebo neočekávané, jako jsou kontroly namátkové a nařízené. Nařízené kontroly se zaměřují především na problematické podniky s podezřením z porušování pravidel. Také se setkáme s revizními kontrolami, ke kterým dochází na písemnou žádost nebo odvolání (Červenka 2005). V případě zjištění porušení předpisů bioprodukce má kontrolní organizace pravomoc zakázat podnikateli certifikovat dané potraviny jako biopotraviny. Tento zákaz musí být řádně odůvodněn a vydán písemně do 30 dnů od provedení kontroly, přičemž podnikatel je povinen vrátit certifikát dané kontrolní organizaci (Benšová et al. 2017).

6 Metabolismus pesticidů

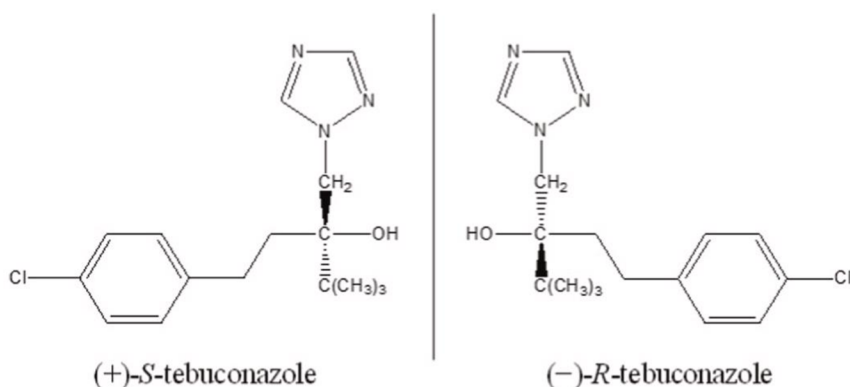
6.1 Metabolismus pesticidů v rostlinách

Metabolismus představuje ucelenou řadu chemických reakcí, jejichž cílem je udržování života jakéhokoliv živého organismu. Tento proces zahrnuje například metabolismus bílkovin, tuků a dalších látek nezbytných pro jeho životní funkce. Nicméně termín metabolismus může

být též použit k popisu reakcí organismu na cizorodé látky. Tyto cizorodé chemické sloučeniny nazývané xenobiotika, zahrnují látky jako léčiva, pesticidy či průmyslové jedy, ale i látky přírodního původu (houbové a bakteriální toxiny, fytoalexiny), které se v daném organismu nevyskytují (Hodgson 2010).

Metabolismus xenobiotik u rostlin vykazuje výraznou podobnost s metabolickými procesy probíhajícími v játrech živočichů, což vedlo ke konceptu tzv. "zelených jater". První studii zabývající se metabolismem xenobiotik provedl Knoop již v roce 1905. V této studii krmil psy mastnými kyselinami obsahujícími fenolické skupiny a pečlivě sledoval reakce jejich organismu na tuto expozici. V rostlinách začaly být zkoumány až výrazně později, a to kolem roku 1940, kdy L.P. Miller představil první základní poznatky. Avšak plné porozumění a potvrzení, že se při metabolizaci xenobiotik u rostlin jedná o mechanismy alegorické procesům u živočichů, přišlo až řadu let po těchto výsledcích (Sandermann 1994).

Porozumění metabolismu pesticidů v rostlině představuje klíčový prvek pro šlechtění rostlin s minimálním obsahem reziduí, vývoj nových ekologických pesticidů, zlepšení kvality životního prostředí a bezpečné a efektivní zacházení s konvenčními pesticidy (Zhang & Yang 2021; Van Eerd et al. 2003). Nicméně, tento proces není snadné zredukovat na jednotný celkový mechanismus, jelikož jednotlivé metabolické dráhy jsou ovlivňovány množstvím faktorů. Tyto faktory závisí na chemické struktuře xenobiotika, druhu organismu, podmínkách prostředí a fyziologickém stavu organismu (Van Eerd et al. 2003). Zásadní roli hraje i způsob aplikace pesticidu, ať už je nanášen přímo na povrch rostliny, nebo se do ní dostává přes kořenový systém z půdy. V případě pesticidů, které pronikají do rostliny kořenovým systémem, však není vždy zřejmé, zda byly aplikovány cíleně, nebo zda se v rostlině nacházejí jako akumulované zbytky z předchozích aplikací nebo například kontaminací vody (Zhang & Yang 2021). Další komplikací pro metabolismus cizorodých látek představují chirální pesticidy (viz. obrázek 7), což jsou látky obsahující alespoň jedno centrum asymetrie neboli stereocentrum. Odhaduje se, že přibližně u 30 % účinných látek dochází ke stereoselektivnímu chování. To znamená, že pouze jeden stereoizomer (aktivní stereoizomer) má schopnost působit na cílový organismus, zatímco ostatní mohou zůstat neaktivní nebo vykazovat jiné, často toxické účinky na necílové organismy. Každý stereoizomer může mít odlišné vstřebávání, transport, metabolismus a vylučování, což přináší řadu rozdílů v účincích. Mezi chirální pesticidy patří například benalaxyl, hexaconazole, diclofop, lactofen, fenamiphos, flufiprole a další (Albuquerque et al. 2018).



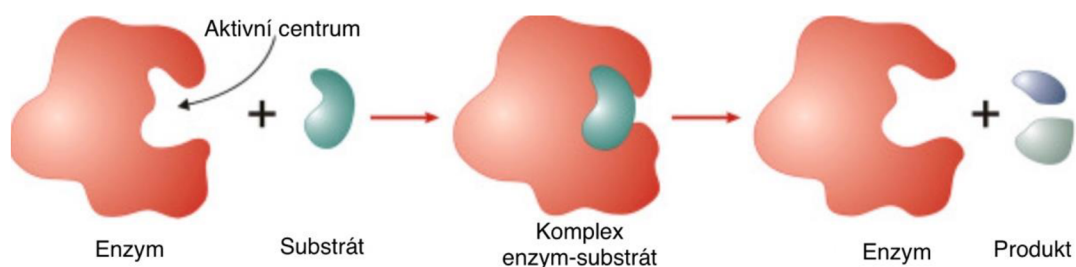
Obrázek 7: Stereoizomery tebukonazolu, upraveno dle Chang W et al. (2023).

Velká část pesticidů, aplikovaných přímo na povrch rostliny, může být ovlivněna různými vnějšími faktory. Mohou se například volně šířit vzduchem, podléhat degradaci působením slunečního záření a deště. Naopak na pesticidy, které působí systémově a mají tak schopnost pronikat do tkání rostlin, tolik vnějších vlivů nepůsobí (Matsumura et al. 1972). Pro účinný metabolismus xenobiotik musí být molekula pesticidu absorbována kořenovým systémem nebo kutikulou listu a následně transportována do aktivních metabolických míst (Zablotowicz et al. 2005). Proces absorpce molekuly pesticidu může probíhat aktivním nebo pasivním transportem, což závisí především na její velikosti. Molekuly menší než 500 Da jsou schopny absorpce pomocí pasivní difuze, což nevyžaduje energii (ATP) a probíhá po koncentračním spádu. Naopak molekuly větší než 500 Da vyžadují aktivní transport, kde dochází k vynaložení energie (ATP) a transportu molekuly proti koncentračnímu spádu. Problémy však vznikají při kořenové absorpci lipofilních látek, které mohou být blokovány v Casparyho proužcích endodermis (Zhang & Yang 2021). Casparyho neboli voskové proužky tvoří jednovrstevný kruh v buněčné stěně obsahující nepolární látky jako lignin a suberin, které znemožňují průchodu vody a vytvářejí tak bariéru pro apoplastický transport (pasivní difuze mezibuněčnými prostory). Aby bylo možné lipofilní látky transportovat přes tyto proužky, je nutné zapojení přenašečů s využitím energie (ATP), jako jsou například přenašeče ABC a přenašeče organických kationtů (Zhang & Yang 2021).

Hlavním cílem rostliny je redukovat toxicitu pesticidu, což zahrnuje proces detoxifikace a následné vyloučení této látky z organismu nebo její bezpečné uložení. V průběhu detoxifikace se však někdy může stát, že modifikovaná látka je stejně nebo dokonce ještě více toxická než její původní forma. Rostlina musí tedy transformovat tuto látku tak, aby se snížila její rozpustnost ve vodě a zabránilo se tak jejímu transportu v rostlinném symplastu, tedy vnitrobuněčném prostoru. Toto omezení pohybu je dosaženo exportem přeměněné látky do buněčné vakuoly, extracelulárního prostoru vazbou do ligninu nebo jiné části buněčných stěn (Orhan 2012). Detoxifikace probíhá převážně formou molekulární přeměny dané látky a lze ji rozdělit do tří hlavních fází. První fáze, nazývaná transformace, zahrnuje enzymatickou přeměnu látky. Následuje druhá fáze, označená jako konjugace, během které dochází k navázání endogenní molekuly syntetizované rostlinou. Třetí fáze je transportní, která zahrnuje navázání látky v rostlině nebo vyloučení její přeměněné formy. Občas se objevuje i čtvrtá fáze, což jsou neenzymatické pomocné reakce (Zhang & Yang 2021).

6.1.1 První fáze – transformace

První fáze detoxifikace se také nazývá enzymatická přeměna, což znamená, že za pomoci různých rostlinných enzymů (katalyzátorů) dochází k hydrolýze nebo oxidačně-redukčním reakcím a vzniká tak hydrofilnější látka, než byl výchozí substrát (Zablotowicz et al. 2005). Oxidační přeměna bývá nejčastějším prvním krokem biotransformace pesticidů v rostlině. Pro katalýzu oxidace se využívají oxidativní enzymy, jako cytochrom P450, peroxidáza, polyfenoloxidáza a lakáza (viz. obrázek 8) (Van Eerd et al. 2003).



Obrázek 8: Schéma reakce účinné látky s enzymem, upraveno dle Blanco A & Blanco G (2022).

Monooxygenázy cytochrom P450 (CYP) jsou enzymatické proteiny, jejichž aktivita je výsledkem dvou na membránu vázaných proteinových komponent cytochromu P450 a NADPH-cytochromu P450 reduktázy (CPR), která přenáší elektrony z NADPH na monooxygenázy P450. Cytochromy P450 se tak podílí na mnoha redoxních reakcích prakticky ve všech živých organismech (Scott & Wen 2001). Typickou biochemickou reakcí CYP je hydroxylace, kdy dochází k navázání hydroxylové skupiny na sloučeninu a tím i zvýšení její rozpustnosti ve vodě. Také se v menší míře u CYP můžeme setkat s reakcemi jako dealkylace (odštěpení alkylových skupin) a dehydrogenace (odebrání jednoho atomu vodíku za vzniku násobné vazby). Zřídka se také vyskytuje desaturace (odebrání jednoho atomu kyslíku a vznik násobné vazby), epoxidace (vznik cyklů) nebo izomerace (vznik izomerů, které mají stejné složení, ale jiné prostorové uspořádání) (Zhang & Yang 2021). Ostatní oxidační enzymy, jako jsou peroxidázy a polyfenoloxidázy, fungují podobně jako cytochrom P450. Katalyzují například reakci dekarboxylace (odštěpení CO_2), N-demethylaci (odštěpení $-\text{CH}_3$), oxidaci síry a hydroxylaci (navázání hydroxylové skupiny). Avšak více se uplatňují až ve třetí fázi detoxifikace (Van Eerd et al. 2003). Enzymy lakázy katalyzují jednoelektronovou oxidaci pomocí molekulárního kyslíku, kdy substrátem je nejčastěji látka obsahující aromatický cyklus. Některé lakázy dokáží eliminovat toxicitu i polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH), organofosforových pesticidů a chemických barviv (Zhang & Yang 2021). Další enzymatickou přeměnou je hydrolýza katalyzovaná enzymem hydrolázou, který štěpí vazby navázáním vodíku, hydroxylové skupiny nebo molekuly vody. Působí hlavně na sloučeniny obsahující amidovou, karbamátovou nebo esterovou skupinu. Hydrolázy také můžeme dále dělit dle jejich specifčnosti, například esterázy, nitrilázy, organofosfátové hydrolázy, lipázy či proteázy (Van Eerd et al. 2003). Mezi další enzymatické transformace patří redukce, které se však vyskytují poměrně zřídka (Shimabukuro et al. 1982).

6.1.2 Druhá fáze – konjugace

Druhou detoxifikační fází je konjugace neboli spojování, kdy se na transformovaný metabolit z první fáze naváže rostlině vlastní látka (endogenní substrát). Nejčastěji jde o navázání cukerných zbytků (glykosidických skupin), aminokyselin a glutathionu (Shimabukuro et al. 1982). Původní část pesticidu se nazývá exokon a přijatá část z rostliny endokon. Pokud se však exokon naváže na nerozpustnou látku, vzniká tzv. vázaný zbytek, který je v buňce pevně vázán (nejčastěji v buněčné stěně nebo ve vakuole) a není nedestruktivně extrahovatelný (Gunter & Joseph 2013). Pro navázání endokonu glutathionu, což je nejčastější reakce druhé fáze detoxifikace, je nutná přítomnost enzymu glutathion S-transferázy (GST)

(Zablotowicz et al. 2005). Další významnou skupinou enzymů druhé fáze jsou glykosyltransferázy katalyzující navázání glykosylových zbytků, nebo lyázy katalyzující navázání cysteinu. Do reakcí ve druhé fázi patří i kondenzace (spojení aminokarboxylových skupin, enzym zatím neznámý), acetylace (přenos acetylu za pomoci acetyltransferáz a acetyl-CoA) a metylace (přenos methylové skupiny pomocí methyltransferáz) (Zhang & Yang 2021). Po této fázi je konjugát zpravidla mnohem polárnější než původní volná sloučenina a obvykle dobře rozpustný ve vodě nebo vysoce polárních organických rozpouštědlech (Gunter & Joseph 2013).

6.1.3 Třetí fáze – transport

Třetí transportní fáze využívá ABC transportérů k přenosu metabolitů předchozích fází. ABC transportéry (ATP Binding Cassette) jsou transmembránové proteinové přenašeče schopné přenášet různé látky (glykosidy, aminokyseliny, xenobiotika, těžké kovy a další) přes buněčnou membránu i proti koncentračnímu spádu za spotřeby ATP. Nejčastěji dochází k transportu do vakuol, případně do buněčné stěny nebo extracelulárních prostor buňky (Zhang & Yang 2021). Většinu pesticidů totiž nelze zcela odstranit totální oxidací na CO₂ nebo sekrecí, proto je pro rostlinu nejschůdnějším řešením přeměnit molekulu xenobiotika na nerozpustný vázaný zbytek, který je pro rostlinu neškodný (Shimabukuro et al. 1982).

6.1.4 Čtvrtá fáze – podpora rostliny

Občas se uvádí i fáze čtvrtá, kde jsou zahrnuty podpůrné mechanismy rostliny pro její účinnější detoxifikaci pesticidů. Jedná se například o kyselinu salicylovou, která je růstovým regulátorem, má vliv na mnoho vývojových procesů a pozitivně působí proti abiotickému stresu. Dále také rostlina využívá kyseliny jasmínové nebo epigenetické modifikace (metylace DNA a modifikace histonů), které podporují správnou funkci metabolismu i ve stresových podmínkách. Všechny tyto látky napomáhají k urychlení metabolismu a správné detoxifikaci pesticidů v rostlinách i v nepříznivých podmínkách (Zhang & Yang 2021).

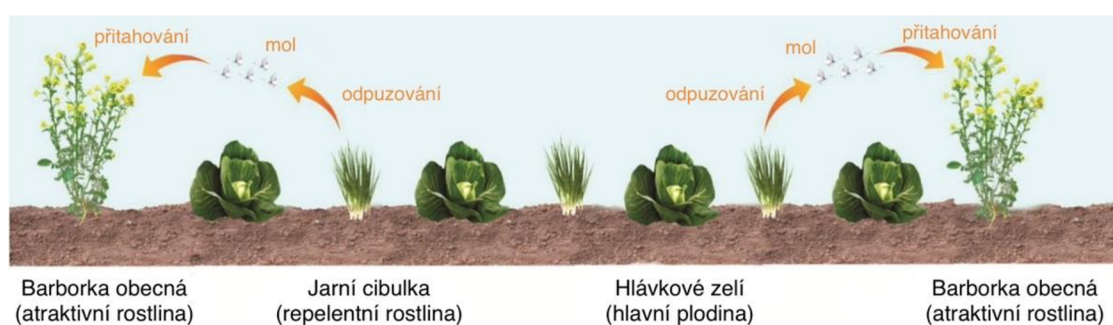
6.2 Metabolismus pesticidů v zelenině

Metabolismus v zelenině probíhá obdobně, a to díky přítomnosti buněk schopných metabolických drah rozprostřených po celém těle rostliny. Rostlina disponuje buňkami, které jsou schopny provádět metabolické procesy jak v kořenech, tak i v nadzemních částech, což zahrnuje stonky, listy a další orgány (Norris 1974).

Nevýhodou kořenové zeleniny je právě konzumace kořenů rostlin. Jejich primární funkcí je sice držení rostliny v zemi a přijímání vody s minerály, ale také se z něho stává zásobní orgán. Funguje jako zásoba škrobů a dalších užitečných látek, čímž má největší akumulaci schopnost z celé rostliny. Akumulace však funguje i na nežádoucí látky jako jsou pesticidy, a proto kořeny obsahují vyšší množství reziduí než v celé rostlině. Největší riziko představují polychlorované bifenyly (PCB), těžké kovy (Pb, Hg), polycyklické aromatické uhlovodíky

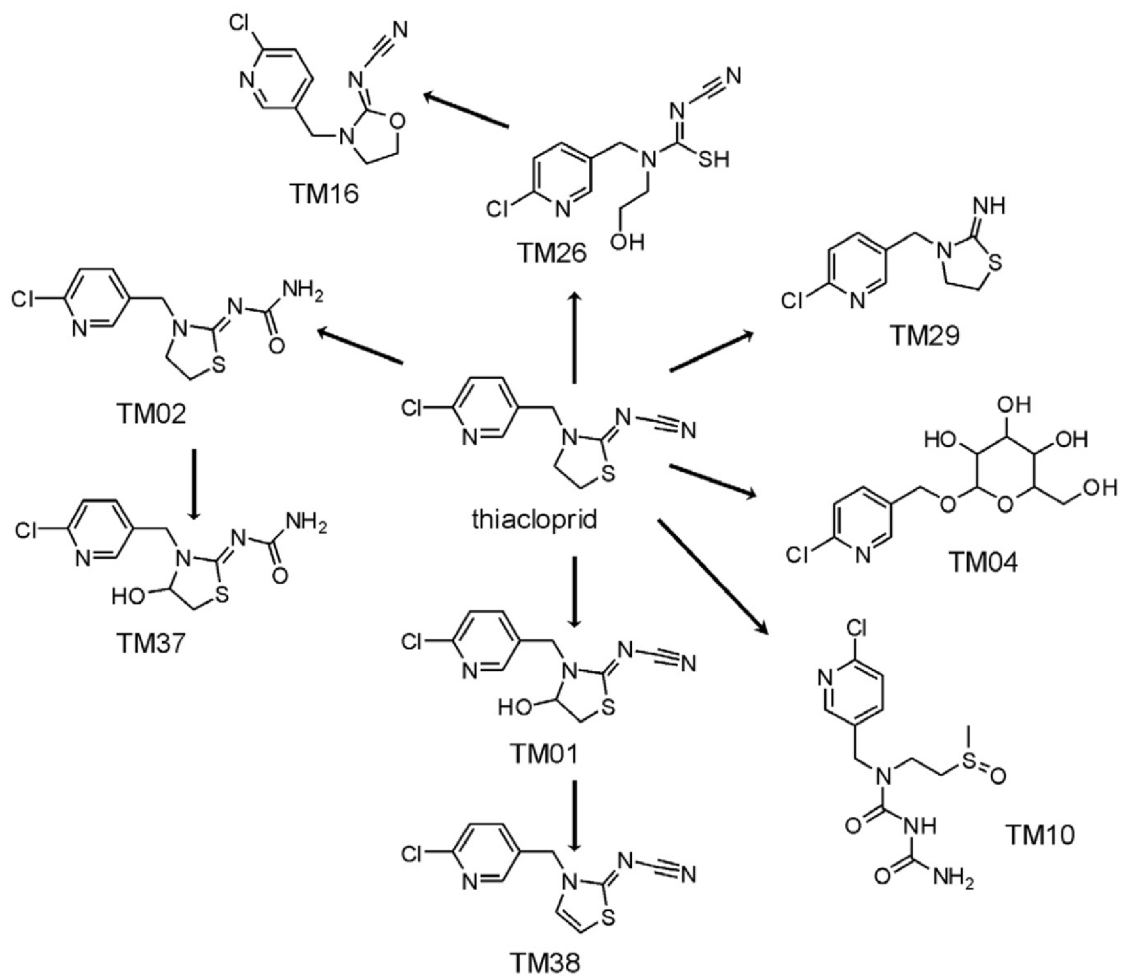
(PAH) a mikroplasty z půdy kontaminované odpadní vodou. Obsah pesticidů se pečlivě sleduje a musí se dodržovat maximální limity reziduí (MRL), avšak doporučuje se zeleninu alespoň omýt, oloupat nebo nejlépe tepelně upravit (Knez et al. 2022). Pesticidy však mohou mít vliv i na sekundární metabolismus rostliny. Například u mrkve pěstované v půdě ošetřené organofosfátovými insekticidy (bromofos-nexion, fonofos-dyfonate) a herbicidem afalon S, byl zjištěn vyšší obsah celkového karotenu až o 21 % (Orhan 2012).

Vzhledem k tomu, že u košťálové a listové zeleniny se konzumuje celá její nadzemní část, není vhodné používat kontaktní pesticidy. Místo toho se v ochraně proti škůdcům využívá kombinace biologických a chemických látek. Také se uplatňuje insekticidní feromonová prevence, což spočívá v zasazení poblíž hlavní plodiny rostlinu repelentní, která odpuzuje případné škůdce. V blízkosti repelentní rostliny však musí být rostlina atraktivní pro škůdce, kde se usadí, viz obrázek 9 (Mayanglambam et al. 2021).



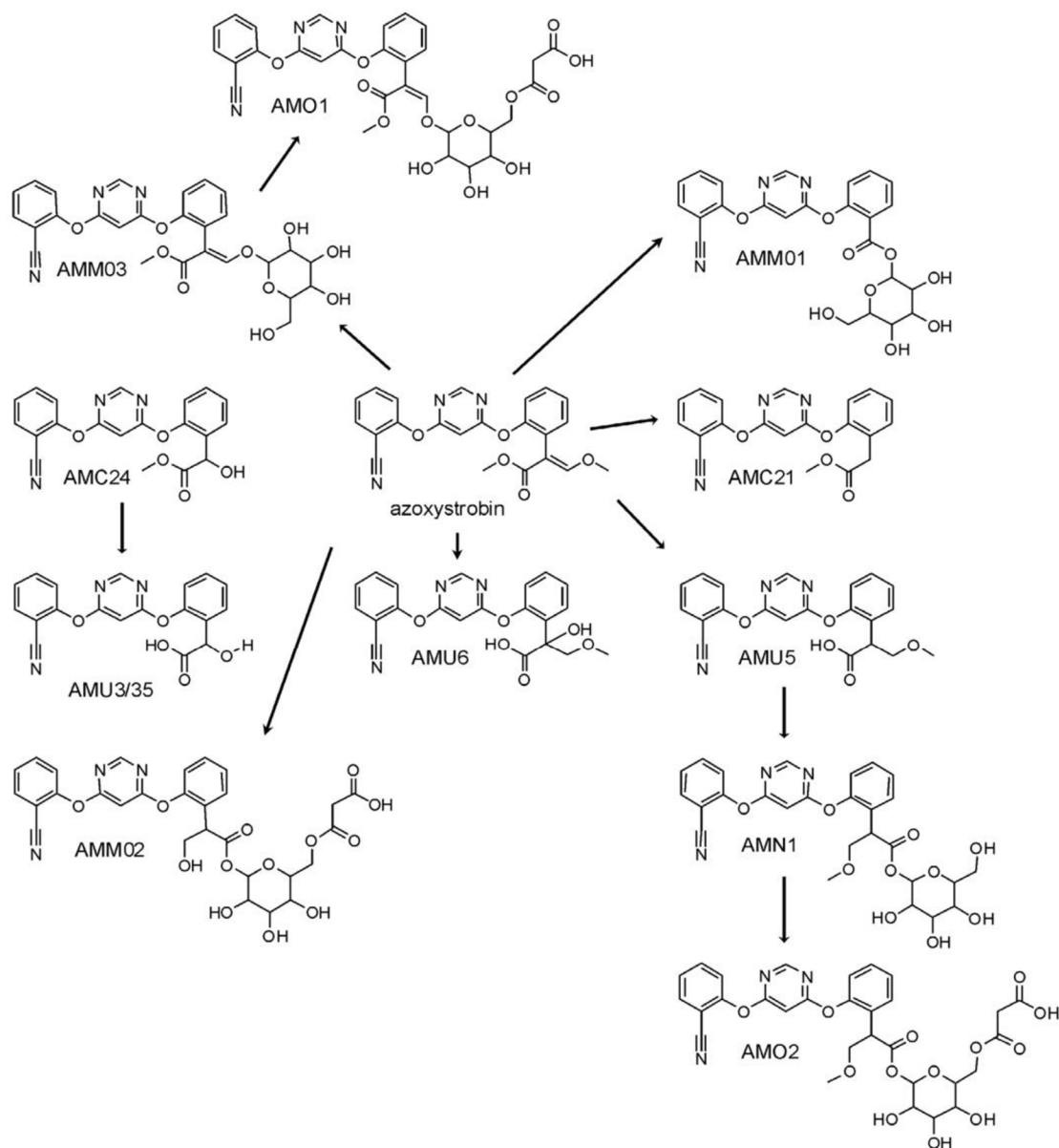
Obrázek 9: Insekticidní feromonová prevence, upraveno dle Mayanglambam et al. (2021).

Pro pěstování zeleniny je možné použít řadu pesticidů, které mohou obsahovat účinné látky jako je azoxysorbin, difenokonazol, deltamethrin, lambda-cyhalothrin, metaldehyd, propachizafob, spinosad, síra, trifloxystrobin a další (MZe 2024b). Každý druh zeleniny však na danou účinnou látku může zareagovat trochu jinak, také v závislosti na podmínkách a vlivu okolí. Za stejných podmínek bylo pěstováno zelí a mrkev při přítomnosti chlorfenvifosu. Po dozrání se v zelí nenacházela žádná rezidua, avšak u mrkve se objevila jak původní nezměněná látka, tak i její soli a konjugáty (Menzie 1969). Níže jsou uvedeny ukázky mechanismů detoxifikace pesticidů používaných při pěstování zeleniny, jako je již zakázaný thiakloprid (viz. obrázek 10) a často používaný azoxysorbin (viz. obrázek 11). Je však nutné podotknout, že metabolismus rostlin je velmi složitý a u každé cizorodé látky probíhá trochu jinak, proto jsou tyto příklady pouze ilustrativní.



Obrázek 10: Schéma detoxifikace thiaclopridu, upraveno dle Bauer (2017).

Názvy metabolitů jsou pro zjednodušení zapsány pouze ve zkratkách.

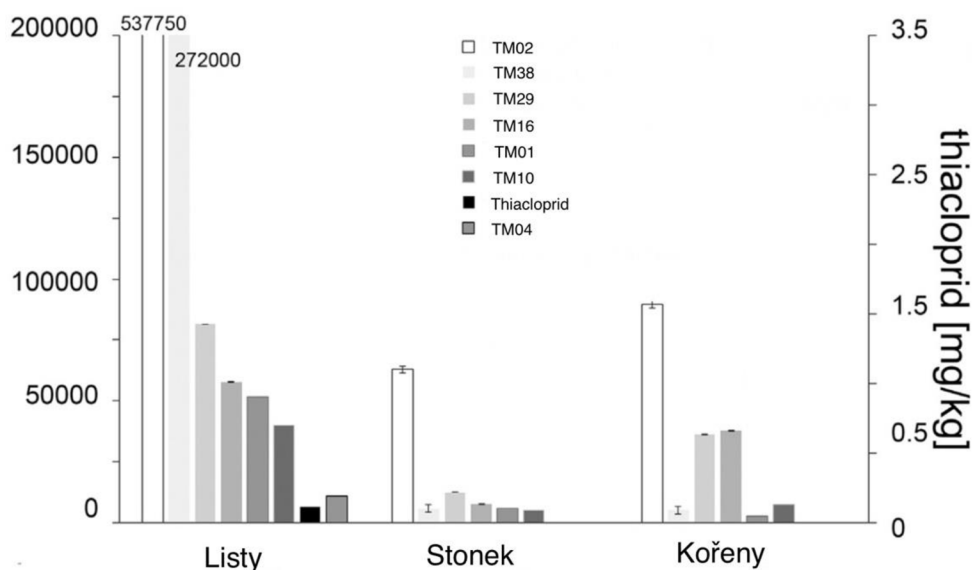


Obrázek 11: Schéma detoxifikace azoxistrobinu, upraveno dle Bauer (2017).

Názvy metabolitů jsou pro zjednodušení zapsány pouze ve zkratkách.

Zároveň je důležité zmínit, že množství pesticidů obsažených v zelenině je výrazně ovlivněno dobou, která uplynula od aplikace, schopností rostliny tyto látky odbourávat a způsobem, jakým se tyto látky distribuují v rámci rostliny. Například u pak choi byl obsah azoxisorbínu šest hodin po aplikaci 52,4 mg/kg, ale po 25 dnech se snížil na 8,0 mg/kg. Distribuce látky v rostlině je obvykle specifická pro každý druh; někdy se nejvíce hromadí v kořenech, jindy v listech nebo ve stoncích (viz obrázek 12). Nelze tedy obecně určit, která část rostliny obsahuje nejvyšší koncentraci pesticidů. To závisí na druhu rostliny, zvoleném pesticidu a způsobu aplikace. Důležité je také pečlivě sledovat maximální reziduální limit (MRL). Při analýze thiaklopridu u pak choi byl například obsah thiaklopridu pod limitem

1 mg/kg, ale obsah jeho metabolitů dosáhl až 3,8 mg/kg. Proto je důležité provádět analýzu nejen samotné účinné látky, ale i jejích metabolitů (Bauer 2017).



Obrázek 12: Obsah thiaclopridu v jednotlivých částech rostliny, upraveno dle Bauer (2017).

7 Analytické metody pro detekci pesticidů a jejich metabolitů

Obsah pesticidů nebo jejich reziduí v daném vzorku se obvykle pohybuje pouze ve stopovém množství. Proto je důležité zvolit vhodnou a citlivou analytickou metodu. Před samotnou analýzou je nezbytné vzorek zbavit co největšího množství interferujících látek. Čistota vzorku totiž zlepšuje citlivost detekce analytu a předchází přetížení separačních kolon (Stoytcheva 2011). V současné době patří mezi nejčastěji používané metody pro stanovení obsahu pesticidů a jejich reziduí ve vzorcích kapalinová chromatografie a plynová chromatografie, doplněné o analytické postupy založené na spektrometrických metodách (hmotnostní spektrometrie, absorpční, refraktometrická a fluorescenční spektroskopie a další), které slouží k identifikaci a kvantifikaci vzorku. Často se jedná o kombinaci kapalinové nebo plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS a GC-MS) (Martínez et al. 2009).

7.1 Příprava vzorku

Příprava vzorku před analýzou je velmi důležitá, jelikož vzorek do ní vstupující musí být zkoncentrovaný na příslušné analyty a bez sloučenin matrice. Jedná se především o jednoduché úpravy, jako filtrace, sušení, homogenizace a mnoho dalších. Extrakce představuje jeden z nejdůležitějších aspektů přípravy vzorku, při kterém dochází k oddělení a izolaci jednotlivých sledovaných analytů pomocí vhodných extrakčních fází (Tadeo 2019). Několik nejčastěji používaných metod extrakce je popsáno níže.

7.1.1 Extrakce pevná látka – kapalina

Extrakce pevné látky pomocí rozpouštědla je asi nejpoužívanější druh pro extrakci pesticidů a jejich metabolitů ze vzorku. Velmi důležitou roli zde hraje správně zvolené rozpouštědlo, zvýšený tlak usnadňující rozpouštědлу prostoupit póry celého vzorku a teplota zvyšující rozpustnost analytů ve vzorku (Tadeo 2019).

7.1.1.1 Protřepávání

Jedná se o nejjednodušší způsob extrakce slabě vázaných pesticidů v ovoci a zelenině, kdy jde o pouhé protřepávání vzorku (automaticky nebo ručně) s vhodným rozpouštědlem (acetonitril, aceton, dichlormethan, hexan). Před dalším zpracováním je však nutné vzorek přefiltrovat a případně odpařit přebytky organického rozpouštědla (Tadeo 2019).

7.1.1.2 Soxhletova extrakce

Extrakce pomocí Soxhletova přístroje se využívá v analýze potravin poměrně často, jelikož není nutná následná filtrace, probíhá při zvýšené teplotě a je zařízen neustálý přísun čerstvého rozpouštědla. Bohužel tato metoda je časově náročná a ze vzorku se následně musí odpařit přebytečné rozpouštědlo. Z těchto důvodů se používá i obdobné zařízení zvané Soxtec, které urychluje proces extrakce a snižuje spotřebu rozpouštědla (Beyer & Biziuk 2008).

7.1.1.3 Mikrovlnná extrakce (MAE)

Využívá energii mikrovln, kdy paprsky prochází rozpouštědlem a reagují s volnou vodou, čímž dochází k lokálnímu zahřívání. Dochází tak k nerovnoměrné distribuci tlaku, poškození makrostruktury a pronikání rozpouštědla do vzorku. Tato metoda je velmi rychlá, levná a efektivní stejně nebo i více než Soxhletova extrakce (Stoytcheva 2011).

7.1.1.4 Extrakce rozpouštědla pod tlakem (PSE)

Také známá pod názvem zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE), využívá malé množství vody a organického rozpouštědla, zvýšené teploty a tlaku po krátkou dobu. Vysoká teplota do 200 °C (pod bodem varu rozpouštědla) a tlak do 20 MPa vede k účinnější extrakci a snižuje se spotřeba rozpouštědla (Stoytcheva 2011).

7.1.2 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Extrakce pomocí superkritické tekutiny je efektivní metodou pro izolaci širokého spektra organických sloučenin z pevných vzorků (Tadeo 2019). Tato technika je vhodná zejména pro látky tepelně nebo chemicky nestabilní, protože umožňuje rychlou extrakci a snadno regulovatelné teplotní a tlakové podmínky. Princip této extrakce spočívá ve využití

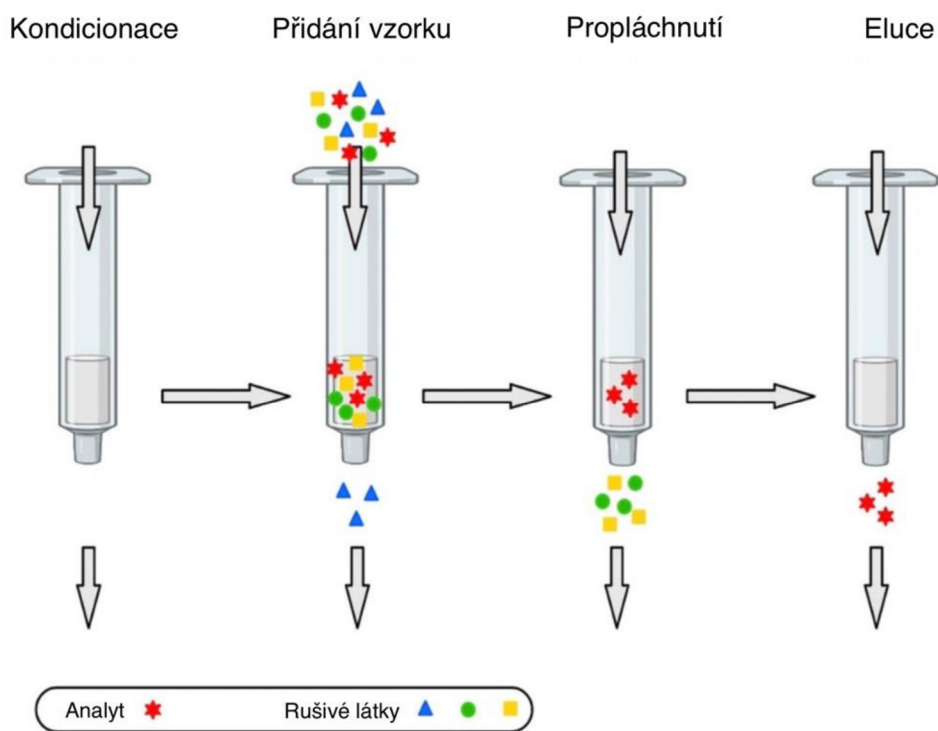
superkritické tekutiny, což je kapalina s nízkou viskozitou a za pokojové teploty se stává plynem. Nejčastěji se jedná o oxid uhličitý, výjimečně voda, oxid dusný nebo amoniak, které mohou být modifikovány přidávkem rozpouštědel jako je methanol, ethanol, propanol, acetonitril, dichlormethan nebo voda (Hostettmann et al. 1986).

7.1.3 Extrakce kapalina – kapalina (LLE)

Tento typ extrakce je převážně využíván pro analýzu pesticidů ve vodných vzorcích, avšak občas může být uplatněn i při čištění organických extraktů. Jeho účinnost spočívá v principu rozdělení cílového analytu mezi dvě nemísitelné kapaliny, což je způsobeno různou afinitou analytu k jednotlivým rozpouštědlům, jako jsou například hexan, cyklohexan, dichlormethan nebo chloroform (Tadeo 2019). Metoda je však časově náročná a vyžaduje často poměrně velké množství toxických organických rozpouštědel. Proto se častěji využívá metoda tzv. kapalinová mikroextrakce (LPME), což je zmenšenina tradiční kapalinové extrakce a díky tomu využívá menší objemy rozpouštědla. Také tato toxická organická rozpouštědla mohou být nahrazena supramolekulárním rozpouštědlem (SUPRAS), což je speciální nanostrukturální kapalina nemísitelná s vodou. (Nasiri et al. 2020).

7.1.4 Extrakce v pevné fázi (SPE)

Oproti předchozím metodám je extrakce v pevné fázi jednoduchá a dobře automatizovatelná technika s minimálním použitím rozpouštědel (Nasiri et al. 2020). Principem této metody je využití rozdílné afinity analytu ke dvěma různým fázím. Kapalná fáze obsahující analytický vzorek je aplikována na pevný sorbent umístěný v kolonce, který byl předem aktivován kondicionací pomocí vhodného rozpouštědla. Sloučeniny s vyšší afinitou k pevnému sorbentu jsou zadrženy, zatímco ostatní se odplaví spolu s kapalinou mimo kolonku. Zadržené sloučeniny na sorbentu lze následně eluovat pomocí vhodného rozpouštědla. Celý postup je znázorněn na obrázku 13 (Tadeo 2019). Existuje celá řada sorbentů, je však důležité zvolit správný na základě fyzikálně – chemických vlastností analyzovaného pesticidu a povahy matrice daného vzorku. Například sorbent GCB (grafitizované saze) je vhodný pro extrakci látek různé polarity, způsobuje retenci pigmentů (karotenoidy, chlorofyly) a sterolů, a proto se často využívá na pročištění rostlinných extraktů (rajčata, zelí, mrkev). Florisil (MgSiO₃) je vhodný pro stanovení pyretroidů v salátu, kapustě, květáku a mrkvi, křemelina pro stanovení neonikotinoidů v celeru, cuketě nebo hrušce, kolonky naplněné reverzní fází C18 (oktadecyl) pro stanovení různých pesticidů v jahodách, rajčatech a salátu. Nejčastěji se však používá více sorbentů (dva až tři) v jedné kolonce (Stoytcheva 2011).



Obrázek 13: Postup při extrakci v pevné fázi, upraveno dle Dawadi et al. (2021).

7.1.5 Mikroextrakce v pevné fázi (SPME)

Mikroextrakce je široce využívaná metoda pro analýzu reziduí pesticidů ve vzorcích různého původu, neboť umožňuje současné čištění a koncentraci vzorku. Byla vyvinuta s cílem dále snížit potřebný objem organických rozpouštědel. Zařízení pro mikroextrakci na pevné fázi (SPME) se skládá z injekční stříkačky, v jejíž duté jehle je umístěno vlákno z oxidu křemičitého potažené vhodnou stacionární fází (Stoytcheva 2011). Proces mikroextrakce spočívá v přenosu analytů mezi vzorkem a vláknem se stacionární fází, který probíhá ve dvou fázích – extrakce a desorpce. Během extrakce je vlákno ponořeno do vzorku, případně umístěno v uzavřeném prostoru nad ním (headspace), a dochází k zachycení analytů na vláknech se stacionární fází. Poté následuje fáze desorpce (zpravidla už v analytickém zařízení), při níž jsou analyty uvolněny z vlákna pomocí rozpouštědla (Tadeo 2019).

7.1.6 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Save)

V překladu rychlá, snadná, levná, odolná a bezpečná metoda se skládá z řady jednoduchých analytických kroků. Často se využívá při extrakci ovoce, zeleniny a obilovin (Nasiri et al. 2020). Nejprve se pevný vzorek obsahující vodu extrahuje pomocí acetonitrilu a poté se extrakt čistí pomocí adsorbentů (nejčastěji PSA adsorbenty = primární a sekundární aminy). Jednotlivé metodiky mohou být přizpůsobeny cílovým analytům, například okyselením extrakčního roztoku nebo výběrem rozpouštědla či specifického sorbentu. Přesný postup viz obrázek 14 (Tadeo 2019). Tato technika je často využívána v analýze pesticidů a dokáže zachytit širokou škálu látek. Pomocí QuEChERS bylo například identifikováno 300 pesticidů

v mrkvi, okurce, bramborách a zelí, 229 v hlávkovém salátu, 118 v zeleninové šťávě a 148 v cibuli. Metoda QuEChERS nabízí výhodu vysokého výtěžku, přesnosti, snadného provedení a nízkých nákladů, avšak výsledný extrakt je často nutné zakonzentrovat, aby byla dosažena požadovaná citlivost analýzy (Stoytcheva 2011).



Obrázek 14: Postup QuEChERS metody, upraveno dle Zhang et al. (2024).

7.2 Chromatografie

První chromatografický experiment byl proveden již v roce 1903 ruským botanikem M. S. Cvětem. Postupně se na vývoji této metody podílelo mnoho vědců, ale průlomem bylo až udělení Nobelovy ceny v roce 1952 A. J. P. Martinovi a R. Syngeovi za jejich práci v oblasti chromatografie (Poole 2003). Chromatografie patří mezi separační metody, které se využívají k izolaci látek a získání informací o jejich struktuře a vlastnostech, jejíž výsledkem je chromatogram (Janoš 2003). Tato fyzikálně-chemická metoda je založena na principu oddělení složek směsi a slouží k následné identifikaci jednotlivých komponent. Molekuly vzorku jsou aplikovány na povrch pevné nebo kapalně stacionární fáze, která zůstává stabilní a nepohyblivá (Poole 2003). Mobilní fáze, která je pohyblivá, pak interaguje s molekulami složek vzorku a způsobuje jejich oddělení na základě různých faktorů podmiňujících jejich distribuci mezi ní a stacionární fází. Komponenty, které mají větší afinitu ke stacionární fázi, zůstávají v systému déle, zatímco ty s vyšší afinitou k mobilní fázi se rychleji pohybují a opouštějí chromatografický systém (Coskun 2016).

Rozdíl mezi chromatografií kapalnou a plynou je pouze ve skupenství mobilní fáze, pokud se jedná o kapalinu, pak jde o chromatografii kapalnou (LC), při použití plynu pro mobilní fázi jde o plynou chromatografii (GC) (Coskun 2016). Kromě toho může být chromatografie rozdělena podle řady dalších kritérií, jako je uspořádání systému,

například chromatografie sloupcová (CC), papírová (PC) a na tenké vrstvě (TLC). Existují také další typy chromatografie, jako je chromatografie afinitní (AC), iontově výměnná (IE), gelová (molekulové síto) a mnoho dalších, které se liší podle principu separace látek v systému (Coskun 2016; Poole 2003).

7.2.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je metoda separace, která je jednoduchá, mnohostranná, vysoce citlivá, rychlá a ideální pro rozdělení velmi těkavých malých molekul (Coskun 2016). Při použití GC se vzorek vstříkne do systému pomocí injektoru, kde je okamžitě zplynován. Poté je nosným plynem (kterým je helium, dusík nebo vodík) přenesen do chromatografické kolony, kde dochází k separaci na jednotlivé analyty. Ty jsou následně unášeny nosným plynem až k detektoru (Tadeo 2019). Většina dnes používaných chromatografických kolon jsou kapilární trubice s pevnou fází, která je nanášena na vnitřní stěnu kolony. Detektorů používaných ve spojení s GC existuje řada typů, jako je plamenová ionizace (FID), elektronový záchyt (ECD), plamenová fotometrie (FPD), tepelná vodivost (TCD) a mnoho dalších. Nejběžnějším detektorem je však hmotnostní spektrometr (MS) (Sparkman et al. 2011). Předtím než vstoupí vzorek do hmotnostního spektrometru, musí být plynné sloučeniny ionizovány (Tadeo 2019). K tomu slouží různé v případě GC takzvané ionizační metody, jako je elektronová (EI) nebo chemická ionizace (CI) (Stoytcheva 2011).

Mezi látky, které je možné pomocí plynové chromatografie analyzovat patří především rozpouštědla, pesticidy, esenciální oleje, uhlovodíková paliva a některá léčiva. Pro tuto analýzu jsou vhodné sloučeniny, které lze odpařit, aniž by došlo k jejich destrukci. U některých látek, jako jsou kyseliny, aminokyseliny, aminy, amidy, sacharidy a steroidy, musí být před analýzou provedena derivatizace funkčních skupin (jako jsou hydroxylové, aminové, karboxylové a další) (Sparkman et al. 2011). Jedná se o proces, který pomáhá vylepšit vlastnosti analytu. Především zvyšuje jeho těkavost, tepelnou stabilitu a zlepšuje kvalitu MS signálu zvýšenou tvorbou iontů. Dále může změnit molekulovou hmotnost analytu a snižuje šum pozadí chromatogramu (Tadeo 2019).

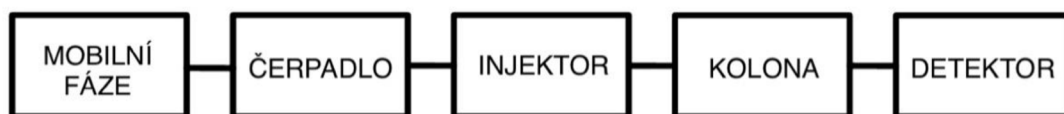
Plynovou chromatografii v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) lze využívat jak pro kvalitativní, tak pro kvantitativní analýzu. Kvalitativní analýza slouží k určení relativní molekulové hmotnosti, případně molekulového vzorce a částečně také k identifikaci struktury analytu. Naproti tomu kvantitativní analýza se zaměřuje na stanovení přesného obsahu jednotlivých složek ve zkoumaném vzorku. Tento přesný obsah se vypočítá na základě vztahu mezi odezvou detektoru a známým obsahem testované sloučeniny za daných podmínek. Pro výpočet obsahu se často využívají normalizované metody, metody externího standardu nebo metody vnitřního standardu (Tadeo 2019).

7.2.2 Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie (LC), známá také jako vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC) se ukazuje jako ideální metoda pro stanovení stopových hladin polárních a termolabilních pesticidů a jejich reziduí (Lacorte & Fernandez-Alba 2006).

Tato technika byla vyvinuta především kvůli potřebě analyzovat vzorky s těmito specifickými vlastnostmi, které nejsou vhodné pro analýzu pomocí plynové chromatografie. Kapalinová chromatografie je rovněž často využívána pro analýzu organických směsí, zejména těch s vysokou molekulovou hmotností. Kromě dalších typů detektorů (UV, refraktometrický, fluorescenční, vodivostní detektor nebo detektor s diodovým polem) může být kombinována také s hmotnostní spektrometrií (LC – MS). Tímto spojením se umožňuje efektivní separace a identifikace komplexních směsí, které by jinak byly obtížné analyzovat pouze pomocí jedné techniky (Tadeo 2019).

Vše, co vstupuje do chromatografického systému, musí být předem zbaveno pevných částic (nejlépe filtrací), aby se předešlo jeho možnému ucpání. Toto platí nejen pro aplikovaný vzorek, ale také pro mobilní fázi, která je používána v chromatografickém procesu (Sadiq & Beauchemin 2020). Při analýze je vzorek nanesen do proudu mobilní fáze pomocí injekčního portu, který je součástí systému chromatografie. Tento proud mobilní fáze je vytvářen vysokotlakým čerpadlem. Následně je vzorek transportován přes chromatografickou kolonu, kde dochází k monitorované separaci pomocí detektoru. Schéma postupu kapalinové chromatografie je znázorněno na obrázku 15. Efektivita separace závisí na mnoha faktorech, přičemž klíčové jsou typ stacionární fáze, velikost jejích částic, délka chromatografické kolony a kvalita rozpouštědel použitých v mobilní fázi (Niessen 2006).



Obrázek 15: Schéma kapalinové chromatografie.

Kapalinovou chromatografie lze také rozdělit podle principu fyzikálně-chemických interakcí mezi analytem a fázemi, kde se může jednat o chromatografii na normální fázi, rozdělovací, reverzní (RPLC), hydrofilní (HILIC), iontoměničovou (IEC), gelovou permeační (SEC) nebo chirální (Sadiq & Beauchemin 2020).

7.3 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je významná analytická metoda, která umožňuje měřit hmotnost molekul s extrémně vysokou citlivostí. Existuje široká škála analyzátorů používaných v hmotnostní spektrometrii, z nichž některé jsou klíčové pro analýzu pesticidů a jejich metabolitů (Mann et al. 2001).

Při vstupu do hmotnostního detektoru je nezbytné převést analyty na ionty za atmosférického tlaku a pokojové teploty, aby nedocházelo k jejich pyrolýze. Existuje celá řada ionizačních metod, ale mezi nejběžnější patří elektrosprejová ionizace (ESI) a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) (Tadeo 2019).

7.3.1 Kvadrupólový hmotnostní analyzátor (Q)

Kvadrupólový hmotnostní analyzátor, se skládá ze čtyř paralelních válcových nebo hyperbolických elektrod ve čtvercovém uspořádání. Aplikuje se kombinace radiofrekvenčních a stejnosměrných napěťových signálů, čímž se vytvoří kvadrupólové elektrické pole. Tato technika se široce používá při analýze metabolitů pesticidů. U pevně vázaných metabolitů je však nezbytný proces depolymerizace makromolekulárních struktur (buněčné inkluze, složky buněčné stěny), aby nedošlo k uvolnění pevně vázaných analytů, jelikož má kvadrupól velmi nízký hmotnostní rozsah (Zhang et al. 2024). Kvadrupól může být také trojitý (Q-q-Q), což znamená, že obsahuje tři kvadrupóly, přičemž první a třetí slouží jako analyzátoři a prostřední funguje jako aktivní komora. Trojitý kvadrupól má v porovnání s jednoduchým kvadrupólem výrazně vyšší citlivost, selektivitu a lépe potlačuje rušivé prvky interferencí a pozadí (Tadeo 2019).

7.3.2 Analyzátor doby letu (TOF)

Analyzátor doby letu pracuje tak, že ionty jsou vypuzovány do letové trubice pomocí elektromagnetických pulzů směrem k detektoru různou rychlostí závislou na jejich hmotnosti a počtu nábojů. Tam je jejich hmotnost určena na základě doby, za kterou daný iont tuto konstantní vzdálenost urazí (Tadeo 2019).

7.3.3 Orbitální iontová past (Orbitrap)

Orbitální iontová past, známá také jako orbitrap, funguje tak, že zachycuje ionty kolem centrální elektrody. Hmotnost těchto iontů je následně měřena na základě frekvence jejich pohybu podél středové vřeténkovité elektrody. Takto naměřené frekvenční záznamy jsou poté převedeny na hmotnost pomocí Fourierovy transformace, často nazývané též integrální transformace (Botitsi et al. 2011).

8 Závěr

- Problematika obsahu reziduí pesticidů v zelenině je v současné době důležitým tématem v oblasti potravinářství a zdraví veřejnosti.
- Ukazuje se, že i přes snahu o kontrolu a regulaci pesticidů v zemědělské produkci jsou tyto látky v jisté míře stále přítomné v potravinách, které konzumujeme.
- Otázka, zda ekologicky pěstovaná zelenina je opravdu bez přítomnosti pesticidů, je stále otevřená. Tato práce naznačuje, že i v bio produktech může docházet k výskytu reziduí pesticidů, i když v nižších koncentracích než v konvenčních produktech.
- Důležitým zjištěním je, že přítomnost reziduí pesticidů v zelenině je velmi častá a může představovat potenciální rizika pro spotřebitele.
- Současné výzkumy naznačují, že přítomnost metabolitů používaných pesticidů vypovídá o jejich aplikaci v průběhu pěstování a může být důležitým vodítkem pro hodnocení kvality bio produkce zeleniny. To v důsledku může vést i k zajištění vyšší bezpečnosti a nutriční kvality pro koncového uživatele.
- Pro identifikaci pesticidů a jejich metabolitů v zelenině se nejčastěji využívá kapalinová nebo plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Tato analytická metoda má významný potenciál při identifikaci metabolitů pesticidů v bio produktech, jako kontrola jejich kvality.
- Závěrem lze shrnout, že tato práce přispívá k diskusi o bezpečnosti potravin a potřebě dalšího sledování a regulací reziduí pesticidů v produktech.

9 Literatura

- Albuquerque NCP, Carrão DB, Habenschus MD, Oliveira ARM. 2018. Metabolism studies of chiral pesticides: A critical review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **147**: 89-109. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.08.011.
- Ardrey RE. 2003. *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Bauer A, Luetjohann J, Hanschen FS, Schreiner M, Kuballa J, Jantzen E, Rohn S. 2018. Identification and characterization of pesticide metabolites in Brassica species by liquid chromatography travelling wave ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-TWIMS-QTOF-MS). *Food Chemistry*. **244**: 292–303. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.09.131.
- Benšová D, Pokora J, Hanzelková Š, Berka M, Hruška J, Ryšavý D, Brožková H. 2017. *Faremní zpracování ovoce a zeleniny v ekologickém zemědělství*. Bioinstitut, Olomouc.
- Beyer A, Biziuk M. 2008. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chemistry*. **108**: 669-680. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2007.11.024.
- Bezpečnost potravin. 2024a. Proces povolení pesticidů v EU. *Bezpečnost potravin*. Available from: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/EFSA/Proces%20povolen%C3%AD%20pesticid%C5%AF.pdf> (accessed 2024).
- Bezpečnost potravin. 2024b. Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF). *Bezpečnost potravin*. Available from: <https://bezpecnostpotravin.cz/system-rychleho-varovani-pro-potraviny-a-krmiva-rasff/> (accessed 2024).
- Blanco A, Blanco G. 2022. Enzymes. *Medical Biochemistry*. **2**: 165-190. DOI: 10.1016/B978-0-323-91599-1.00029-8.
- Botitsi HV, Garbis SD, Economou A, Tsipi DF. 2011. Current mass spectrometry strategies for the analysis of pesticides and their metabolites in food and water matrices. *Mass Spectrometry Reviews*. **30**: 907-939. DOI: 10.1002/mas.20307.
- Cabrera CL, Di Piazza G, Dujardin B, Pastor PP. 2023. The 2021 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal*. **21**: 1-89. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7939.
- Coskun O. 2016. Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*. **3**: 156-160. DOI: 10.14744/nci.2016.32757.
- Dawadi S, Thapa R, Modi B, Bhandari S, Timilsina AP, Yadav RP, Aryal B, Gautam S, Sharma P, Thapa BB, Aryal N, Aryal S, Regmi BP, Parajuli N. 2021. Technological Advancements for the Detection of Antibiotics in Food Products. *Processes*. **9**: 1-29. DOI: 10.3390/pr9091500.
- Dvoržáková M. 2020. *Fakta o pesticidech*. Potravinářská komora České republiky. Praha.

- EFSA. 2015. Glyphosate: EFSA updates toxicological profile. EFSA. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/151112> (accessed March 2024).
- EFSA. 2017. 3th Independent external evaluation of EFSA. Parma.
- EFSA. 2023. Glyphosate. EFSA. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/glyphosate> (accessed March 2024).
- EFSA. 2023. Pesticides. EFSA. Available from <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/pesticides> (accessed March 2024).
- EPA. 2016. DDT Regulatory History: A Brief Survey (to 1975). EPA. Available from <https://www.epa.gov/archive/epa/aboutepa/ddt-regulatory-history-brief-survey-1975.html> (accessed March 2024).
- EPA. 2020. Bifenthrin Interim Registration Review Decision Case Number 7402. Washington, D.C.
- EPA. 2024. DDT – A Brief History and Status. EPA. Available from <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/ddt-brief-history-and-status> (accessed March 2024).
- Eurojust. 2019. Eurojust helps reveal fake organic food fraud. Eurojust. Available from <https://www.eurojust.europa.eu/news/eurojust-helps-reveal-fake-organic-food-fraud> (accessed March 2024).
- European Commission. 2024. The history of RASFF. European Commission. Available from https://food.ec.europa.eu/safety/rasff/history-rasff_en (accessed March 2024).
- European Council. 2024. The history of SZP. European Council. Available from <https://www.consilium.europa.eu/cs/policies/cap-introduction/timeline-history-of-cap/> (accessed March 2024).
- EWG. 2024. Shopper’s Guide to Pesticides in Produce. EWG. Available from <https://www.ewg.org/foodnews/summary.php#summary> (accessed March 2024).
- FAO & WHO. 2014. The International Code of Conduct on Pesticide Management. FAO & WHO, Rome.
- Garcia FP, Ascencio SC, Oyarzún JCG, Hernandez AC, Alavarado PV. 2012. Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *Journal of research in environmental science and toxicology* **1**: 279–293.
- Gunter Z, Joseph S. 2013. Principles, Statistics, and Applications: Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators. Academic Press, Orlando.
- Hodgson E. 2010. Metabolism of Pesticides. *Hayes’ Handbook of Pesticide Toxicology, Third Edition*. **1**: 893-921. DOI: 10.1016/B978-0-12-374367-1.00038-0.

- Hostettmann K, Hostettmann M, Marston A. 1986. Preparative Chromatography Techniques. Applications in Natural Product Isolation. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.
- Chandler D, Bailey AS, Mark TG, Davidson G, Greaves J, Grant WP. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **366**: 1987-1998. DOI: 10.1098/RSTB.2010.0390.
- Chang W, Liu M, Ren Q, Shi Z, Wang W, Nie J, Cai Z. 2023. Enantioselective behavior and bioactivity of chiral tebuconazole in apples. *Food Control* (e109941). DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.109941.
- IARC. 2018. IARC monograph on glyphosate. IARC. Available from <https://www.iarc.who.int/featured-news/media-centre-iarc-news-glyphosate/> (accessed March 2024).
- Janoš P. 2003. Separation methods in the chemistry of humic substances. *Journal of Chromatography A*. **983**: 1-18. DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01687-4.
- Kahl J, Załęcka A, Ploeger A, Bügel S, Huber M. 2012. Functional Food and Organic Food are Competing Rather than Supporting Concepts in Europe. *Agriculture*. **2**: 316-324. DOI: 10.3390/agriculture2040316.
- Knez E, Kadac-Czapska K, Dmochowska-Ślęzak K, Grembecka M. 2022. Root Vegetables—Composition, Health Effects, and Contaminants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **19**: 1-25. DOI: 10.3390/ijerph192315531.
- Kocourek F, Stará J. 2021. Uplatňování systému integrované ochrany rostlin v souvislosti se změnou legislativy (48): Regulace reziduí pesticidů v zelenině a ovoci II. - monitoring výskytu reziduí. *Agromanuál*. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/uplatnovani-systemu-integrované-ochrany-rostlin-v-souvislosti-se-zmenou-legislativy-48-regulace-rezi> (accessed March 2024).
- Kononets Y, Treiblmaier H. 2021. The potential of bio certification to strengthen the market position of food producers. *Modern Supply Chain Research and Applications*. **3**: 41-55. DOI: 10.1108/MS CRA-05-2020-0013.
- Kopřiva P. 2018a. Potravinářská inspekce opět zjistila polská jablka s pesticidy v tržní síti. SZPI. Available from <https://www.szpi.gov.cz/clanek/potravinarska-inspekce-opet-zjistila-polska-jablka-s-pesticidy-v-trzni-siti.aspx> (accessed March 2024).
- Kopřiva P. 2018b. Varování spotřebitelům: zakázaný pesticid carbofuran ve 2 t goji z Číny. SZPI. Available from <https://www.szpi.gov.cz/clanek/varovani-spotrebitelum-zakazany-pesticid-carbofuran-ve-2t-goji-z-ciny.aspx> (accessed March 2024).
- Kopřiva P. 2022. Potravinářská inspekce zjistila přes 600 kg potravin z Kambodže s koktejlem pesticidů vč. carbofuranu. SZPI. Available from <https://www.szpi.gov.cz/clanek/potravinarska-inspekce-zjistila-pres-600-kg-potravin-z-kambodze-s-koktejlem-pesticidu-vc-zakazaneho-carbofuranu.aspx> (accessed March 2024).

- Krol WJ, Arsenault TL, Pylypiw HM, Incorvia MMJ. 2000. Reduction of Pesticide Residues on Produce by Rinsing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**: 4666-4670. DOI: 10.1021/jf0002894.
- Kumar J, Ramlal A, Mallick D, Mishra V. 2021. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. *Plants*. **10**: 1-15. DOI: 10.3390/PLANTS10061185.
- Kwasi BR, Arthur KK, Oppong D, Oppong-Kyeremeh H. 2023. A comprehensive systematic review and bibliometric analysis of food fraud from a global perspective. *Journal of Agriculture and Food Research* (e100686) DOI: 10.1016/J.JAFR.2023.100686.
- Lacorte S, Fernandez-Alba AR. 2006. Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food. *Mass Spectrometry Reviews*. **25**: 866-880. DOI: 10.1002/MAS.20094.
- Mann M, Hendrickson RC, Pandey A. 2001. Analysis of Proteins and Proteomes by Mass Spectrometry. *Annual Review of Biochemistry*. **70**: 437-473. DOI: 10.1146/annurev.biochem.70.1.437.
- Manning L, Kowalska A. 2021. Considering Fraud Vulnerability Associated with Credence-Based Products Such as Organic Food. *Foods*. **10**: 1-19. DOI: 10.3390/FOODS10081879.
- Martínez VJL, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, Garrido FA. 2009. Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods. *Journal of Chromatography A*. **1216**: 6767-6788. DOI: 10.1016/J.CHROMA.2009.08.013.
- Matsumura F, Boush GM, Misato T. 1972. *Environmental Toxicology of Pesticides*. Academic Press, New York.
- Mayanglambam S, Singh KD, Rajashekar Y. 2021. Current biological approaches for management of crucifer pests. *Scientific Reports*. **11**: 1-9. DOI: 10.1038/s41598-021-91088-4.
- Menzie MC. 1969. *Metabolism of Pesticides*. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Washington, D.C.
- Mesnager R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini GE. 2015. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food and Chemical Toxicology*. **84**: 133-153. DOI: 10.1016/j.fct.2015.08.012.
- MZe. 2023. Nebezpečné lži a hoaxy spojené s dovozem produktů z Ukrajiny. Ministerstvo zemědělství. Available from <https://eagri.cz/public/portal/mze/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/nebezpecne-lzi-a-hoaxy-spojene-s-dovozem> (accessed March 2024).
- MZe. 2024a. Loga pro ekologické zemědělství. Ministerstvo zemědělství. Available from: <https://eagri.cz/public/portal/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/dokumenty-statistiky-formulare/loga-a-znaceni> (accessed March 2024).

- MZe. 2024b. Registr přípravků na ochranu rostlin. Ministerstvo zemědělství. Available from: <https://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1713472091454> (accessed March 2024).
- Nasiri M, Ahmadzadeh H, Amiri A. 2020. Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. Trends in Analytical Chemistry (e115772) DOI: 10.1016/J.TRAC.2019.115772.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005, o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2017/625, o úředních kontrolách a jiných úředních činnostech prováděných s cílem zajistit uplatňování potravinového a krmivového práva a pravidel týkajících se zdraví zvířat a dobrých životních podmínek zvířat, zdraví rostlin a přípravků na ochranu rostlin.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2018/848, o ekologické produkci a označování ekologických produktů.
- Nařízení Rady (ES) č. 834/2007, o ekologické produkci a označování ekologických produktů.
- Nařízení vlády č. 98/2005 Sb, kterým se stanoví systém rychlého varování o vzniku rizika ohrožení zdraví lidí z potravin a krmiv.
- Niessen WMA. 2006. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. CRC press, Boca Raton.
- Norris LA. 1974. Behavior of Pesticides in Plants. Pacific Northwest Research Station, US Department of Agriculture, Forest Service, Portland.
- Nuro A. 2021. Emerging Contaminants. IntechOpen, London.
- Orhan IE. 2012. Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites. Bentham science publishers, Ankara.
- Pepperný K. 2015. Rezidua pesticidů v potravinách. Available from <https://szu.cz/temata-zdravi-a-bezpecnosti/pesticidy/por/pro-uzivatele-por/prednasky-na-tema-por-ruzne/rezidua-pesticidu-v-potravinach/> (accessed March 2024).
- Poláková Š, Kosubová P. 2021. Pesticidy a jejich nálezy v zemědělské půdě. Agromanuál. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/management-a-legislativa/management/pesticidy-a-jejich-nalezky-v-zemedelske-pude> (accessed March 2024).
- Poole CF. 2003. The Essence of Chromatography. Elsevier Science B.V., Amsterdam.

- Prokinová E. 2017. Využití biologické ochrany rostlin v systému ekologického pěstování plodin. Agromanuál. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/vyuziti-biologicke-ochrany-rostlin-v-systemu-ekologickeho-pestovani-plodin> (accessed March 2024).
- Prokinová E. 2019. Fungicidní účinné látky. Agromanuál. Available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/fungicidni-ucinne-latky> (accessed March 2024).
- Prokinová E. 2022. Pesticidy. Ministerstvo zemědělství, Praha.
- Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 2021/1165, kterým se povolují některé produkty a látky pro použití v ekologické produkci a stanoví jejich seznamy.
- Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 2021/1378, kterým se v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/848 stanoví některá pravidla týkající se certifikátu vydávaného hospodářským subjektům, skupinám hospodářských subjektů a vývozcům ve třetích zemích, kteří se zabývají dovozem ekologických produktů a produktů z přechodného období do Unie, a seznam uznaných kontrolních orgánů a kontrolních subjektů.
- Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 2023/2660, kterým se v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1107/2009 obnovuje schválení účinné látky glyfosát.
- Rotter P. 2022. Metaanalýza k problematice pesticidů v zemědělství: Vliv na vody a další rizika. Hnutí DUHA, Brno.
- Rozhodnutí Komise č. 2007/416/ES o nezařazení karbofuranu do přílohy I směrnice Rady 91/414/EHS a o odnětí povolení přípravků na ochranu rostlin obsahujících tuto látku.
- Sadiq NW, Beauchemin D. 2020. Liquid chromatography. Sample Introduction Systems in ICPMS and ICPOES. 213-254. DOI: 10.1016/B978-0-444-59482-2.00004-X.
- Sandermann H. 1994. Higher plant metabolism of xenobiotics: the green liver concept. Pharmacogenetics. **4**: 225-241. DOI: 10.1097/00008571-199410000-00001.
- Scott JG, Wen Z. 2001. Cytochromes P450 of insects: The tip of the iceberg. Pest Management Science. **57**: 958-967. DOI: 10.1002/PS.354.
- Sdělení č. 40/2006 Sb. m. s., o sjednání Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech.
- Seufert V, Ramankutty N, Mayerhofer T. 2017. What is this thing called organic? – How organic farming is codified in regulations. Food Policy. **68**: 10-20. DOI: 10.1016/J.FOODPOL.2016.12.009.
- Shimabukuro RH, Lamoureux GL, Frear DS. 1982. Pesticide Metabolism in Plants Reactions and Mechanisms. Biodegradation of Pesticides. Plenum Press, New York.
- Skrodzka V. 2017. Organic agricultural products in Europe and USA. Management. **21**: 151-164. DOI: 10.1515/manment-2017-0011.

- Sparkman OD, Penton Z, Kitson FG. 2011. Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide. Academic press, Oxford.
- Stoytcheva M. 2011. Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis. InTech, Rijeka.
- Šánová P. 2006. Cvičení z biopotravin. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Tadeo JL. 2019. Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples Second Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Tang FHM, Lenzen M, McBratney A, Maggi F. 2021. Risk of pesticide pollution at the global scale. Nature Geoscience. **14**: 206–210. DOI: 10.1038/s41561-021-00712-5.
- Unsworth J. 2010. History of pesticide use. International union of pure and applied chemistry. Available from https://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=31 (accessed March 2024).
- Van Eerd LL, Hoagland RE, Zablotowicz RM, Hall JCh. 2003. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. Weed Science. **51**: 472-495. DOI:10.1614/0043-1745(2003)051[0472:PMIPAM]2.0.CO;2.
- Velíšek J. 2013. The chemistry of food. John Wiley & Sons, Oxford.
- Vyhláška č. 16/2006 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství.
- Worthington V. 2001. Nutritional Quality of Organic Versus Conventional Fruits, Vegetables, and Grains. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. **7**: 161-173. DOI: 10.1089/107555301750164244.
- Yen JH, Esworthy R. 2012. Pesticide Law: A Summary of the Statutes. Congressional Research Service, Washington, D.C.
- Zablotowicz RM, Hoagland RE, Hall JCh. 2005. Metabolism of Pesticides by Plants and Prokaryotes. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Zákon č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství.
- Zhang J, Fu D, Feng H, Li Y, Zhang S, Peng Ch, Wang Y, Sun H, Wang L. 2024. Mass spectrometry detection of environmental microplastics: Advances and challenges. TrAC Trends in Analytical Chemistry (e 117472) DOI: 10.1016/J.TRAC.2023.117472.
- Zhang JJ, Yang H. 2021. Metabolism and detoxification of pesticides in plants. Science of the Total Environment (e148034) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148034.