



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STUDIUM DEGRADACE GLYFOSÁTU VE VODÁCH S VYUŽITÍM PLAZMATU

STUDY OF GLYPHOSATE DEGRADATION IN WATER PLASMA APPLICATION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Alena Sehnalíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1405/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Alena Sehnalíková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium degradace glyfosátu ve vodách s využitím plazmatu

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat rešerši na problematiku využití glyfosátu, možných negativních environmentálních dopadů a stanovení glyfosátu ve vodách.
2. Vybrat vhodnou metodu pro jeho stanovení v podmínkách fakulty chemické a tuto metodu optimalizovat.
3. Provést pilotní měření degradace glyfosátu působením plazmatu v modelové vodě .
4. Vyhodnotit získaná data.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Alena Sehnalíková
student(ka)

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Práce se zabývá aktuálním problémem narůstajících koncentrací glyfosátu v podzemních a odpadních vodách z důvodu nedostatečné účinnosti daných metod využívaných na čistírnách odpadních vod. Z tohoto hlediska je nutné vyvíjet nové metody a technologické procesy, které by mohly účinně odstranit glyfosát z vod.

Doposud využívané metody v čistírnách odpadních vod by měly být nahrazeny nebo doplněny pomocí pokročilých oxidačních procesů. Praktická část této práce se věnuje glyfosátu a jeho degradaci ve vodách pomocí plazmatu.

Během aplikace plazmatu byly postupně odebírány vzorky, které se dále vyhodnocovaly pomocí LC/MS vybrané jako vhodné analytické metody. Cílem této práce bylo zjistit účinnost plazmatu ve vodách s příměsí glyfosátu.

Abstract

This work deals with the current problem of increasing concentrations of glyphosate in groundwater and wastewater due to insufficient efficiency of methods used in wastewater treatment. From this point of view effective removing of glyphosate from water have to be developed by new methods and technological processes.

The methods used so far in wastewater treatment plants should be replaced or supplemented by advanced oxidation processes. The practical part of this work is devoted to glyphosate and its degradation in water by plasma.

Samples were taken sequentially during plasma application and further evaluated by LC/MS selected as suitable analytical methods. The aim of this work was to determine the efficiency of plasma in water with admixture of glyphosate.

Klíčová slova

Glyfosát, pokročilé oxidační procesy, plazma v kapalinách, degradace, vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Keywords

Glyphosate, advanced oxidation processes, plasma in liquids, degradation, high performance liquid chromatography

SEHNALÍKOVÁ, Alena. *Studium degradace glyfosátu ve vodách s využitím plazmatu*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/115603>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům, jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT

.....

Podpis studenta

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí práce Ing. Ludmile Mravcové Ph.D. za návrhy při degradaci glyfosátu ve vzorcích vody a při psaní práce. Dále bych chtěla poděkovat paní doc. Ing. Zdence Kozákové, Ph.D. za její odborné rady a výpomoc týkající se aplikace plazmatu. Neméně pak Ing. Pavlíně Landové za rady, ochotu a pomoc při přípravě vzorků a následném měření. Celkově bych chtěla poděkovat všem kolegům v laboratoři za přátelské prostředí a všem, kteří mě v práci podporovali.

Obsah

1	Úvod	8
2	Teoretická část	8
2.1	Pesticidy.....	8
2.1.1	Legislativní opatření týkající se pesticidů	9
2.1.2	Zásady při práci s pesticidy	9
2.2	Herbicidy.....	10
2.2.1	Faktory ovlivňující pohyb herbicidů v půdě.....	10
2.3	Glyfosát.....	11
2.3.1	Fyzikální a chemické vlastnosti glyfosátu	11
2.3.2	Toxikologické vlastnosti glyfosátu	11
2.3.3	Použití glyfosátu	12
2.4	Čištění odpadních vod	12
2.4.1	Glyfosát v odpadních vodách	13
2.5	Pokročilé oxidační procesy	14
2.5.1	Jednotlivé typy pokročilých oxidačních procesů	14
2.6	Nízkoteplotní plazma.....	15
2.6.1	Nízkoteplotní plazma v kapalinách.....	15
2.7	Možnosti stanovení glyfosátu	16
2.7.1	Spektrofotometrické metody stanovení	16
2.7.2	Elektrochemické metody stanovení	17
2.7.3	Stanovení imunoanalytickou metodou	19
2.7.4	Elektroforéza	19
2.7.5	Plynová chromatografie	20
2.7.6	Kapalinová chromatografie	21
3	Experimentální část	24
3.8	Použité přístroje a vybavení	24
3.9	Použitý software pro zpracování a interpretaci dat	24
3.10	Použité chemikálie.....	24
3.10.1	Chemikálie	24
3.10.2	Standard	25
3.11	Příprava vzorků.....	25
3.11.1	Zásobní roztoky glyfosátu.....	25

3.11.2	Kalibrační roztoky	25
3.11.3	Modelový vzorek glyfosátu s neutrálním pH.....	25
3.11.4	Reálné vzorky glyfosátu komerčně prodávaných přípravků	26
3.11.5	Modelový vzorek glyfosátu s FMOC – Cl činidlem.....	26
3.11.6	Ošetření modelových vzorků pomocí plazmatu.....	26
3.11.7	Stanovení glyfosátu v modelových vzorcích.....	28
3.11.8	Stanovení glyfosátu v reálných vzorcích komerčních produktů.....	29
3.11.9	Stanovení glyfosátu v modelovém vzorku pomocí činidla FMOC – Cl	29
4	Výsledky a diskuze	31
4.1	Kalibrační závislosti.....	31
4.2	Modelové vzorky po aplikaci plazmatu	31
4.2.1	Modelový vzorek glyfosátu s FMOC – Cl činidlem.....	31
4.2.2	Degradace glyfosátu podle polarit hlavní elektrody.....	32
4.2.3	Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o c= 1 µg/ml	33
4.2.4	Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o c= 10 µg/ml	34
4.2.5	Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o c= 100 µg/ml	36
4.2.6	Reálné vzorky glyfosátu v komerčních produktech.....	39
5	Závěr	41
6	Literární zdroje	42
7	Seznam použitých zkratk	47

1 Úvod

Herbicidy jsou látky určené k odstranění nežádoucích nebo invazních druhů rostlin. Jejich nadměrné využití v zemědělství vede ke kontaminaci povrchových vod, jelikož nejsou čistírný vod schopny tyto látky z pročišťované vody vyloučit. Mezi největší nevýhody patří jejich možný negativní vliv na životní prostředí a člověka z hlediska toxicity herbicidů. Jelikož je glyfosát nejrozšířenějším herbicidem této doby, je důležité podrobně studovat jeho chování v životním prostředí a je také velmi významné zaměřit experimenty na studium jeho možného odstranění z vodního a půdního ekosystému. Roundup je klasický herbicid, který nebyl doposud považovaný za nebezpečný. V poslední době výzkumy dokazují, že není natolik bezpečný, za jaký ho může veřejnost považovat. V Americe je momentálně jeho používání v zemědělství zakázáno. V roce 2017 evropský parlament odhlasoval prodloužení licence na používání glyfosátu v České republice o pět let. Od 1. ledna 2019 platí jen zákaz plošného užívání na urychlení dozrávání některých plodin. Na Slovensku je tento zákon uplatněn už od roku 2016. V roce 2013 se v ČR spotřebovalo 935 000 litrů glyfosátu, v roce 2017 byla spotřeba 750 000 litrů.

Cílem této práce je zjistit účinnost plazmatu na degradaci glyfosátu v roztocích. Ke správnému stanovení herbicidů v zemědělských plodinách nebo v jednotlivých částech životního prostředí se používají analytické metody, z nichž nejpřesnější je kapalinová a plynová chromatografie. Vzhledem k tomu, že kapalinová chromatografie je nejčastěji využívanou analytickou metodou ke stanovení glyfosátu, byla jí v této práci věnována největší pozornost.

2 Teoretická část

2.1 Pesticidy

Pesticidy jsou látky používané k hubení a tlumení nežádoucích škůdců. Nejčastější využití je k ochraně rostlin, skladových surovin, technických produktů, domů, výrobních závodů, zemědělské produkce, ale i lidí nebo zvířat. Tyto prostředky se skládají ze dvou částí – pomocné a účinné látky. Účinné látky působí přímo na škodlivého činitele. Jako pomocné látky jsou využívány například adheziva, smáčedla, emulgátory, indikátory jako výstražná barviva, dráždivé a zapáchající látky, stabilizátory zabraňující rozkladu účinné látky. Pesticidy jsou používány téměř proti všem původcům chorob, škůdcům a plevelům a zejména pak v zemědělství [1].

Problémem pesticidů je toxicita na okolní prostředí a biotu. Špatnou aplikací těchto speciálních biologicky aktivních látek může dojít k negativním vlivům na veškeré složky životního prostředí. Vliv pesticidů je však velmi různorodý. Záleží především na tom, jaký typ pesticidu je používán [2]. Nejhorší vliv je připisován herbicidům, tedy látkám vyvinutým k hubení nežádoucích plevelů a rostlin. Dále pak insekticidy neboli látky toxické pro hmyz.

Nejméně nebezpečné jsou fungicidy, což jsou látky zneškodňující parazitické houby [3]. Časté a pravidelné používání těchto prostředků vede ke snížení jejich účinnosti, především kvůli vzniku odolnosti škodlivých organismů vůči účinným látkám [1]. Vzhledem k těmto známým vlastnostem je ovšem velmi důležité vždy přihlídnout a snažit se minimalizovat případné dopady na životní prostředí.

2.1.1 Legislativní opatření týkající se pesticidů

Při použití pesticidů musí být dodržovány předpisy uvedené na jejich obalech nebo v příložené dokumentaci. Používání pesticidů těchto látek je vázáno na jejich uvedení v Registru přípravků na ochranu rostlin, který je veden Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) [4].

V ČR je aplikace pesticidů regulována zákonem č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 199/2012 Sb. a vyhláškou č. 326/2012 Sb., kterou se mění vyhláška č. 32/2012 Sb., o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin [5]. Zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů. In: Sbírka zákonů České republiky, 2004 [6].

2.1.2 Zásady při práci s pesticidy

Podle výše uvedené kapitoly, je používání pesticidů spojeno s určitými riziky, proto je důležité během práce s nimi dodržovat určité předpisy. Je důležité používat pomůcky na vlastní ochranu, mezi které se řadí pokrývky hlavy, obličejový štít či brýle, gumové rukavice, vhodná pracovní obuv a určený pracovní oděv (nejlépe impregnovaný). Před manipulací s herbicidy je nutností se seznámit s návodem na použití. Během přípravy postřiků a postřikových kapalin nesmíme pít, jíst a především kouřit, a to až do doby ukončení práce. Po ukončení práce odložíme pracovní oděv a důkladně se omyjeme.

Po každém použití postřikovače je nutné jeho řádné vymytí a zlikvidování zbytku postřikové kapaliny podle návodu. Doporučuje se uchovávat přípravky v originálním balení. Prázdné obaly se likvidují povolenými způsoby, a to vždy až po jejich důkladném vypláchnutí. V případě zasažení osob musíme poskytnout postiženému první pomoc a zajistit lékařské ošetření [3, 7].

2.2 Herbicidy

Slovo herbicid pochází z latinského „herba“- neboli rostlina a řeckého „cidô“- caedere (zabíjet). Z významu tohoto slova je zcela zřejmé jeho použití, zejména k likvidaci nežádoucích rostlin. První použití herbicidů proběhlo ve 20. století při objevení modré skalice (síranu měďnatého) na ochranu vinic. V dnešní době se herbicidy používají hlavně v zemědělství, ale také v parcích, městech, zahradách nebo železničních tratích k udržování železničního svršku. Velmi často byly také využívány ve vojenství, kde sloužily k odstranění vegetace, která poskytovala úkryt protivníkům. Nejvýraznějším prostředkem během vietnamské války byl „Agent Orange“, což byla směs dvou herbicidů na bázi fenoxycetové kyseliny používaná Spojenými Státy Americkými (USA). Po kontaktu s touto látkou došlo k okamžitému zanícení očí, nevolnosti, dýchacím potížím a kožní vyrážky.

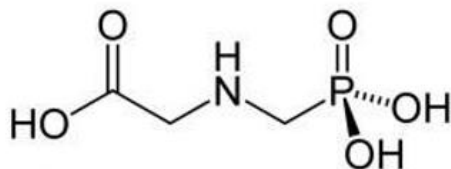
Vlivem použití těchto látek je půda dodnes kontaminována a probíhají práce na odstranění vzniklého znečištění. Navíc byla prokázána spojitost se spoustou závažných onemocnění s tímto válečným použitím herbicidů [1,3].

2.2.1 Faktory ovlivňující pohyb herbicidů v půdě

Nejdůležitějším parametrem při aplikaci herbicidů v půdách je teplota vzduchu, jelikož se jejich účinek zvyšuje s rostoucí teplotou (při teplotách vyšších, než je 22 °C dochází k „popálení“ kulturní rostliny). Další důležitý faktor je rychlost větru. Za silnějšího větru dochází k přenosu postřiků a tím k nepravidelnému účinku nebo k poškození okolních plodin [8]. Při aplikaci herbicidů je důležitý i typ půdy. V půdách písčitých, s malou sorpční kapacitou či lehkých dochází k volnému pohybu herbicidu v půdním profilu a hrozí tak jeho vyplavování do půdních vod. Naopak půdy těžké, s vysokou sorpční kapacitou nebo jílovité dokážou vázat herbicid velice pevně. Nemohou se tedy vyplavovat do půdních vod. Aktivní vliv na aplikaci má i obsah humusu. V půdách s vysokým obsahem humusu se váže určité množství účinné látky herbicidů. V suchých půdách herbicidy neúčinkují. Naopak ve vlhčích půdách jejich účinek stoupá [8]. Dalším problémem jsou dešťové srážky. U preemergentních aplikací napomáhají k rozptýlení herbicidů v povrchové vrstvě půdy. U postemergetních aplikací způsobují celoplošné pokrytí listů herbicidy. Doporučuje se neprovádět aplikaci před nebo po dešti [8].

2.3 Glyfosát

Glyfosát je neselektivní, post-emergentní a širokospektrální herbicid, který patří mezi deriváty kyseliny fosforečné [9]. Jeho systematický název je N-(fosfonomethyl) glycin. Strukturní vzorec je uveden na obr. 1 [10].



Obr. 1: Strukturní vzorec glyfosátu [10].

2.3.1 Fyzikální a chemické vlastnosti glyfosátu

V čistém stavu se jedná o čistou, krystalickou pevnou látku bez zápachu. Bod tání má při 185 °C a rozkládá se při 187 °C. Za této teploty se rozkládá a uvolňuje toxické plyny – oxidy dusíku a fosforu. Je nerozpustný ve většině organických rozpouštědel. Ve vodě je mírně rozpustný (12 g·l⁻¹ při 25 °C). Hlavním metabolitem v sedimentech, vodách a biotě je kyselina aminomethylfosfonová (AMPA) [10, 11].

2.3.2 Toxikologické vlastnosti glyfosátu

V roce 2015 Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) nově zařadila 5 pesticidů na seznam karcinogenní látek, mezi kterými je i glyfosát. Některé laboratorní toxikologické studie naznačují, že v případě smísení glyfosátu s jinými látkami může dojít k zvýšení jeho toxicity oproti čistému stavu [11]. Lékaři poukazují na možnost narušení lidského hormonálního systému.

Specializovaná agentura Světové zdravotnické organizace (WHO) upozornila na vznik non-Hodginova lymfomu vlivem jeho působení. Při manipulaci s touto látkou jsou nejzávažnějšími nepříznivými účinky její dráždivé vlastnosti [12, 13]. Tato látka je schopná do těla proniknout dýchacím ústrojím, pokožkou či trávicím traktem a způsobuje závažná poškození očí a podráždění pokožky [14].

V roce 2013 byl proveden test na přítomnost glyfosátu v moči dobrovolníků z 18 zemí včetně České republiky. Následné výsledky dokázaly přítomnost této látky u téměř poloviny testovaných osob, mimo jiné také u 6 z 10 osob v Česku. Je nepříznivý pro vodní prostředí, živočichy i řasy. V půdě dochází k rozkladu půdními organismy, přičemž jeho vstřebávání se liší v závislosti na typu půdy [15–17].

2.3.3 Použití glyfosátu

Tato látka je volně dostupná, nejčastěji se vyskytuje pod značkou Roundup a využívá se ve formě solného vodného roztoku. Do počtu je to jeden z nejpoužívanějších herbicidů na celém světě. Hojně se využívá v zemědělství, vinařství, zahradnictví i na údržbu zahrad, včetně domácího užití. Ve velkém počtu měst se využívá k postřiku chodníků a ulic, v místech, kde roste plevel [10–12].

K velkému nárůstu spotřeby glyfosátu došlo v důsledku zavedení geneticky modifikovaných organismů (GMO), které jsou odolné vůči tomuto pesticidu. Nově jsou vypěstovány rostliny tzv. RoundupReady plodiny, které na glyfosát nereagují a ten naopak zničí jen okolní plevel. Roku 1996 byla vypěstována tzv. sója RoundupReady. Největšími pěstiteli jsou státy Jižní a Severní Ameriky. Tato sója je následně dovážena do Evropy, kde slouží jako krmivo pro vysokoužitková vyšlechtěná zvířata ve velkochovech [13–15]. Následně roku 1997 byla schválena kukuřice. Dále pak cukrová řepa, řepka olejná, bavlník a vojtěška.

2.4 Čištění odpadních vod

V čistírnách odpadních vod dochází k opětovnému získání čisté vody o určité kvalitě z vod odpadních. Tato voda je následně vypouštěna zpět do vodního prostředí [18]. Čištění odpadních vod je velice složitý proces, který probíhá ve dvou stupních:

- a) 1. stupeň – mechanické čištění
- b) 2. stupeň – biologické čištění

K vyčištění se využívají chemické, fyzikální a biologické podstaty [19]. Odpadní vody rozlišujeme na průmyslové (pivovarské, mlékárenské), splaškové (sociální zařízení, z domácností) a srážkové.

V první části čištění dochází k tzv. mechanickému čištění, kdy se voda přivádí hlavní stokou. Na jejím konci je upevněn lapák štěrku. Na odstranění hrubých plovoucích nečistot se v dalším stupni využívají česle. V následující části je umístěn lapák písku v kombinaci s lapákem tuku. Posledním zařízením k odstranění organických nerozpuštěných látek se používá usazovací nádrž. Na likvidaci zbylých částic (částic lehčích než voda) slouží různé odlučovače [18].

Biologické čištění využívá mikroorganismů, které odstraňují organické znečištění tak, že ho přeměňují na biologické vločky. Tento druh čištění se běžně používá na odstranění organických látek. Dojde k odstranění jen takového množství živin (solí fosforu a dusíku), které může být součástí buněčné hmoty. Využívá se aerobního (rostou mikroorganismy – tzv. tvorba kultury ve vznosu) a anaerobního rozkladu (pro silně znečištěnou vodu, běžný způsob likvidace kalu).

Nejčastějším způsobem čištění je aktivace (tzv. aktivovaný kal). Aktivovaný kal ve vodě vytváří suspendované vločky. Jedná se o děj aerobní. Je potřeba zajistit dostatečný přístup kyslíku. To se provádí pomocí intenzivního provzdušňování vody [18]. Z hlediska urychlení rozkladu organických látek je potřeba zajistit dostatečnou koncentraci aktivovaného kalu. Toho lze dosáhnout recirkulací většiny aktivovaného kalu.

2.4.1 Glyfosát v odpadních vodách

Z hlediska chemických vlastností glyfosátu (jeho polární charakter, nízká rozpustnost v organických rozpouštědlech a vysoké rozpustnosti ve vodě) je jeho stanovení oproti jiným herbicidům poměrně komplikované.

V roce 2002 vědci testovali vzorky vypouštěných odpadních vod do řek z 10 čistíren odpadních vod. V té době se jednalo o první výzkum, který poukazoval na přítomnost glyfosátu na výstupu z čistíren odpadních vod a může být určitým zdrojem znečištění ve vodních tocích.

Pomocí této studie vědci došli k závěru, že v odpadních vodách byla ve větší míře přítomna kyselina aminomethylfosfonová – metabolit glyfosátu. Zhruba 68 % vzorků obsahovalo AMPA a 18 % vzorků obsahovalo glyfosát [20].

Problematikou přítomnosti glyfosátu a AMPA na výstupu z čistíren odpadních vod se v současné době žádný výzkum nezabývá. Navzdory mnoha výzkumům stále převládá tvrzení, že glyfosát a AMPA jsou v čistírnách dobře odbourávány. Abychom toto tvrzení měli se stoprocentní jistotou, museli bychom vždy provádět vlastní analýzy.

2.5 Pokročilé oxidační procesy

Pokročilé oxidační procesy (AOP, tj. Advanced Oxidation Process) jsou studovány mnoho let kvůli jejich vhodnému užití pro čištění odpadních vod [21]. Poprvé se objevily v 50. letech 20. století při oxidaci fenolů v odpadních vodách. Těmito procesy se doplňují technologie ve stávajících metodách využívaných v čistírnách vod [22].

Jedná se o reakce látek rozpuštěných ve vodě s volnými radikály. Základním krokem těchto procesů je vznik reaktivních hydroxylových radikálů. Jedná se o velmi silná oxidační činidla s životností v řádu mikrosekund. Radikály jsou tvořeny v množství, které dokáže eliminovat anorganické i organické polutanty odpadních vod. Účinnost eliminace polutantů závisí na zvoleném AOP procesu, fyzikálních a chemických vlastnostech daného polutantu a daných podmínkách [21]. Za optimálních podmínek vzniká CO_2 a H_2O . Je ovšem důležité sledovat možný vznik vedlejších produktů s možnými toxickými vlastnostmi.

Mezi výhody AOP patří kompletní eliminace širokého spektra, neselektivní reakce, účinnost jako dezinfekce a rychlý proces [22]. Nevýhodou jsou vysoké finanční náklady, nedostatečná předpověď účinnosti procesu a vznik vedlejších nežádoucích produktů [23, 24].

2.5.1 Jednotlivé typy pokročilých oxidačních procesů

Obecně je možné pokročilé oxidační procesy rozdělit na dvě základní skupiny (tabulka 1) [25, 26].

Tabulka 1: Rozdělení pokročilých oxidačních procesů [26].

Metody	Reakční systém
Chemické	O_3 , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$
Fotochemické	$\text{O}_2 + \text{UV}$, $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV}$, $\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV}$, $\text{UV} + \text{TiO}_2$

Dá se také využít možnosti nízkoteplotního plazmatu generovaného za atmosférického tlaku, která vytváří UV záření a produkuje hydroxylové radikály. Jedná se o alternativu, která nevyžaduje použití UV lampy, chemikálií a uplatňují se v ní všechny uvedené procesy. V experimentální části se budeme touto možností zabývat.

2.6 Nízkoteplotní plazma

Plazma lze vytvořit z plynného prostředí zahřátím na vysokou teplotu, elektromagnetickými vlnami nebo silným elektrickým polem. Výsledkem je vždy rychlejší pohyb částic. Vlivem energie dojde k ionizaci molekul a vzniku plazmatu. Tímto pojmem je nejčastěji označuje čtvrté skupenství. Vlastnosti plazmatu jsou velmi odlišné od dalších skupenství [27]. Plazma je obecně definována jako ionizovaný kvazineutrální plyn vykazující kolektivní chování. Jedná se o směs převážně složenou z kladně nabitých iontů, elektronů a neutrálních částic. Kvazineutralita plazmatu znamená určitou neutralitu, protože v ionizovaném plynu se vyskytují záporně nabitě částice, které odpovídají množství kladně nabitých částic. Výsledný náboj plazmatu jako celku je tedy nulový.

Plazma se dělí na vysokoteplotní plně ionizované a nízkoteplotní plazma (NTP) a je rozdělována na základě několika parametrů: teploty, střední energie částic a stupně ionizace [28]. Stupeň ionizace většinou dosahuje 1–10 %. Molekuly plynu tedy zůstávají neutrální, proto je i celková teplota plazmatu nižší [28, 29]. Nízkoteplotní plazma se především využívá v oblasti degradace polutantů v odpadních vodách [28, 30].

2.6.1 Nízkoteplotní plazma v kapalinách

Nízkoteplotní plazma (NTP) má řadu uplatnění, například právě při eliminaci mikropolutantů v odpadních vodách. Voda je polární rozpouštědlo, které má na rozdíl od plynů vyšší hustotu, a má tedy i vyšší četnost srážek částic. Tím je tvorba plazmatu velmi zkomplikována [33]. Mezi další faktory ovlivňující hoření plazmatu patří ionty přítomné v roztoku a jejich různá pohyblivost v rozpouštědle. Při těchto podmínkách je potřeba pracovat s vyšším napětím (1 MV/cm) než u plynné fáze (30 kV/cm) [34, 35].

Pro vytvoření výboje v roztoku je možné použít různé druhy elektrod (hrot – hrot, hrot – rovina, koaxiální, kapilární, apod). Na elektrody se vkládá stejnosměrné napětí (DC) nebo střídavé napětí (AC). Je možné měnit i další parametry např. polarita elektrod a hodnoty napětí. Všechny tyto parametry ovlivňují účinnost plazmového reaktoru [36]. V našem případě bylo použito uspořádání elektrod jako hrot – rovina [35, 37]. Jelikož intenzita elektrického pole je určena vzorcem:

$$E = \frac{U}{r_c}, \quad (1)$$

kde U je velikost vkládaného napětí a r_c je poloměr křivosti hrotu. Anoda (hrot) je tvořena z wolframu. Ta je pokrytá kompaktní keramikou se štěrbinou na konci. Jako protielektroda byla použita v experimentu plochá hliníková elektroda (katoda) [38, 39].

2.7 Možnosti stanovení glyfosátu

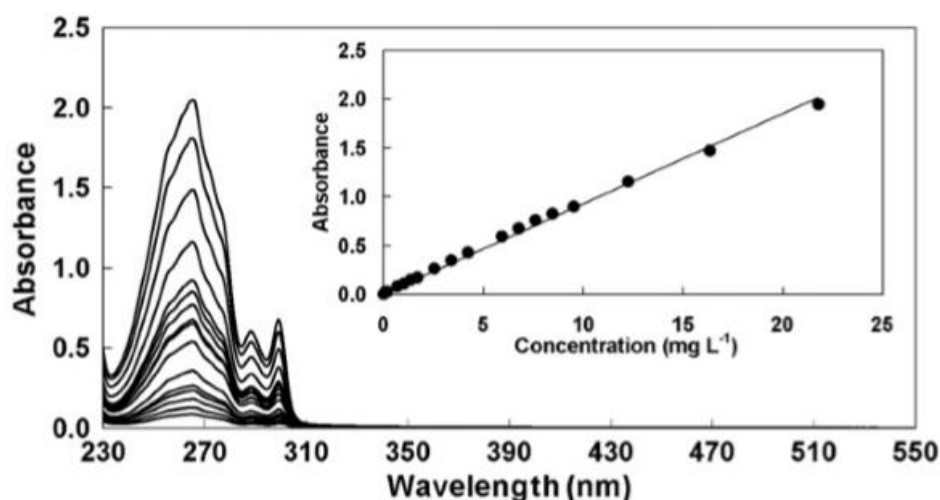
Vezmeme-li v potaz jeho polární charakter, nízkou těkavost, nízkou rozpustnost v organických rozpouštědlech a vysokou rozpustnost ve vodě je stanovení glyfosátu oproti ostatním herbicidům běžně se vyskytujících v zemědělství relativně komplikované. Vzhledem k jeho velkému využití ovšem existuje celá řada různých analytických metod a v této kapitole bude uveden přehled nejvýznamnějších z nich.

2.7.1 Spektrofotometrické metody stanovení

Spektrometrie patří mezi optické analytické metody. Pro stanovení glyfosátu byly využívány zejména metody založené na míře pohlcování (absorpci) záření o specifické vlnové délce [41, 42] neboli absorpční spektrometrie. Jednoduchá selektivní spektrofotometrická metoda byla vyvinuta pro stanovení glyfosátového herbicidu v enviromentálních a biologických vzorcích. Ke stanovení byl použit standartní zásobní roztok glyfosátu, amoniakální roztok dusičnanu měďnatého a roztok sirouhlíku smíchaný s chloroformem. Glyfosát po reakci se sirouhlíkem poskytoval dithiokarbamovou kyselinu. Poté byl ke směsi přidán amoniakální roztok mědi za vzniku komplexu s kyselinou dithiokarbamovou. Absorbance výsledného žlutě zbarveného komplexu byla měřena při vlnové délce 435 nm, při které byla pozorována maximální absorbance. Navržená metoda byla úspěšně použita pro stanovení glyfosátu ve vodě, půdě a pšenici. Testovaný způsob je jednoduchý, ve srovnání s jinými konstrukčně náročnějšími technikami, ale i poměrně citlivý. Bylo dosaženo poměrně nízkého detekčního limitu ($LD = 1,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ což odpovídá cca $6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$) [41].

Autoři Waiman a kol. využili pro stanovení glyfosátu jeho derivatizaci po reakci s FMOC-Cl (9-fluorenyl-methyloxycarbonyl chlorid). Produkt derivatizace obsahuje aromatické jádro a dochází tak k absorpci záření (maximum při 265 nm, obr. 2). Navržená metoda byla validována s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a dále byla využita pro konstrukci absorpčních izoterm glyfosátu v půdních vzorcích o různém pH.

Bylo ověřeno, že tato metoda je vhodná i pro samotné stanovení glyfosátu v rozmezí koncentrací 0,084 -21,8 mg /l (0,49 -128, 89 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) [41].



Obr. 2: Absorpční spektrum derivatizovaného glyfosátu o různé koncentraci ($0,084 - 21,8 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a vložená příslušná koncentrační závislost [41].

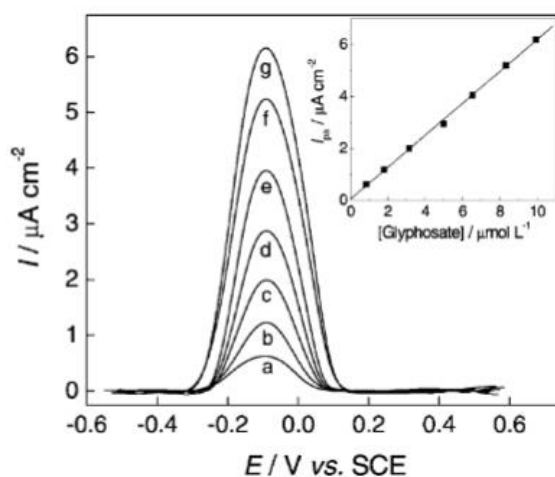
Spektrofotometrické metody jsou obecně časově nenáročné, potřebné analytické vybavení je oproti ostatním metodám levnější a příprava vzorků nebývá náročná (extrakce). Na druhou stranu jejich detekční možnosti bývají horší než u metod např. chromatografických, což může být zásadní nevýhoda. Koncentrace pesticidů jsou v ŽP obecně v nízkých koncentracích. Jak bylo popsáno v článku [41], tyto metody je možné využít kromě stanovení i pro studium chování glyfosátu v půdách, resp. v ŽP a poskytují tak neméně cenné informace.

2.7.2 Elektrochemické metody stanovení

Elektrochemie je jako spektrofotometrie jedna z dalších analytických metod. I proto byly různé druhy elektrochemických metod jako je voltametrie [43–46] nebo amperometrie [47] využity pro stanovení glyfosátu v několika typech vzorků.

Voltametrie se řadí mezi nejčastěji používanou elektrochemickou metodu. Na pracovní elektrodu se vkládá potenciál, který se lineárně mění podle zvolené rychlosti. Sleduje se proudová odezva v závislosti na potenciálu. Využívají se různé voltametrické techniky (cyklická, diferenční pulzní, square wave apod.) lišící se právě vkládaným napětím, které je vkládáno buď lineárně rostoucí nebo v pulzech (square wave) [48, 49].

Protože glyfosát není elektrochemicky redukovatelný nebo oxidovatelný musí se derivatizovat (po reakci s NaNO_3 se kvantitativně převádí v prostřední HCl na N – nitrosoglyfosát, který se dále redukuje) v případě sledování redukce na rtuťových elektrodách [43, 44], resp. tvorba komplexu s Cu^{2+} , který se oxiduje na pracovních elektrodách z uhlíku [45, 46].



Obr. 3: DP voltamogramy glyfosátu o různé koncentraci ($0,83 - 9,90 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) naměřené na modifikované uhlíkové elektrodě a vložená závislost koncentrace glyfosátu na výšce sledovaného oxidačního píku [45].

Amperometrie se řadí mezi metody, při kterých se na pracovní elektrodu vkládá konstantní potenciál a sledují se změny proudu mezi indikační (polarizovatelnou) a referentní (nepolarizovatelnou) elektrodou v závislosti na čase. Velikost tohoto proudu v přítomnosti analytu je mírou jeho koncentrace [48, 49]. Studie [47] prezentuje tuto metodu jako rychlý, citlivý a jednoduchý způsob přímého stanovení glyfosátu ve vzorku kukuřice. Výsledkem těchto stanovení bylo, že glyfosát působí jako reverzibilní inhibitor. Tyto inhibitory váží enzymy nekovalentními interakcemi (vodíkové a iontové vazby).

Z uvedených informací vyplývá, že elektrochemické metody jsou vhodné pro stanovení herbicidu glyfosátu. Velkou výhodou je kratší čas analýz, možnost levnějšího a nenáročného technického vybavení. Častým problémem bývá nízká selektivita.

2.7.3 Stanovení imunoanalytickou metodou

Princip těchto metod je založen na reakci antigen – protilátka, během které vzniká tzv. imunokomplex. Tato reakce je zejména specifická, což znamená, že protilátka váže daný antigen i v přítomnosti jiných látek. Pomocí těchto metod lze stanovit jak antigen, tak protilátku = analyt. Jejich další předností je vysoká citlivost a přednost. Za takovýchto podmínek můžeme stanovovat látky obsažené v koncentracích řádově 10^{-9} až 10^{-15} mol L^{-1} a to bez předchozí úpravy [50].

Nejznámější heterogenní enzymovou imunoanalýzou je ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Existuje mnoho variant této metody. Jejich společným znakem je zakotvení antigenu nebo protilátky na nerozpustném nosiči, což umožňuje separaci imunochemicky navázaných molekul [50].

Metoda ELISA byla využita např. při stanovení glyfosátu v přírodních a podzemních vodách ve vybraných lokalitách Maďarska [51]. Ke stanovení byla využita komerčně dodávaná sada ELISA (PN 500086) s následujícím pracovním postupem. Po derivatizaci byl vzorek aplikován do mikrotitračních jamek s vybranými protilátkami a směs byla inkubována při laboratorní teplotě. Následně byla směs třikrát promyta roztokem pufru, byl přidán chromofor a kolometrický substrát. Modré zbarvení bylo zastaveno přidáním zředěné kyseliny sírové po dosažení hodnoty optické hustoty 1 (měřeno při 620 nm). Bylo dále přeměřováno při 450 nm. Tato metoda detekuje i extrémně nízké hodnoty glyfosátu (nejnižší LOD = $0,05 \text{ ng mL}^{-1} = 0,3 \text{ nmol L}^{-1}$).

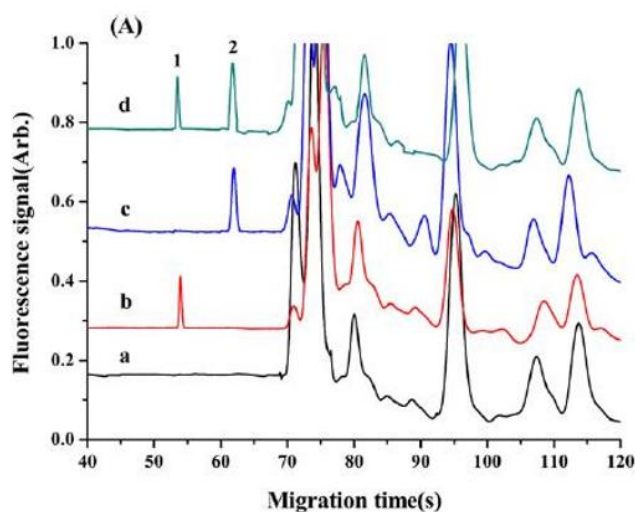
Z uvedeného postupu a přesnosti metody ELISA vyplývá, že tato metoda se dá tedy považovat za poměrně levný, citlivý a selektivní nástroj pro analýzu glyfosátu. Značnou výhodou je možnost zakoupení komerčních sad přímo pro konkrétní látky. Mezi nevýhody patří náročná příprava vzorku k měření vzhledem k poměrně dlouhé době inkubace.

2.7.4 Elektroforéza

Elektroforéza je jedna ze separačních metod, která izoluje molekuly o rozdílné hmotnosti nebo s odlišným elektrickým nábojem, využívající jejich odlišnou pohyblivost v elektrickém poli [48, 49]. Použití je doposud vzácné.

Následující měření se snaží dokázat, že použití této metody je vhodné zejména ke zjednodušené přípravě vzorku. Tato zjednodušená příprava zahrnuje zrychlení derivatizace, rychlou separaci, přesnost a vysokou citlivost. Použité zařízení je složeno ze čtyř částí – kanálového napájecího zdroje, detektoru určeného pro mikročip elektroforézy a příslušných elektronických obvodů pro řízení výkonu a proudu.

Mikročipový systém využívá laserem indukovanou fluorescenci isothyokyanátu (FITC) při 55 °C. Tato teplota se udržuje po dobu 20 minut. Jako nejvhodnější prostředí se používá směs borátového pufru (pH 9,0) a hydroxypropylcelulozy. Analýza se skládá ze dvou fází: nástřik vzorku a jeho oddělování. Do kapiláry je nasán vzorek a současně vloženo vysoké napětí v řádově desítkách kV. Separace vzorku probíhá v úzkých zónách. Detektor následně zaznamenává určité změny, které jsou poté vyhodnoceny. Metoda je validována pomocí standardních vzorků a bylo docíleno velmi dobrých statistických výsledků ($LD = 0,05 \mu\text{g L}^{-1} = 0,29 \text{ nmol L}^{-1}$). Navržená metoda byla úspěšně použita na testování například vzorků říční vody, brokolice obr. č. 4) a sóji.



Obr. 4: Elektroforegramy vzorku brokolice (křivka **a**) a vzorku glyfosátu obohaceného o glyfosát (**b**), o glufosinát (**c**), o směs glyfosátu a glufosinát (**d**).

Závěrem byla tato metoda vyhodnocena jako velmi citlivá a velice přesná a mohla by být použita v místě aplikace herbicidu [52].

2.7.5 Plynová chromatografie

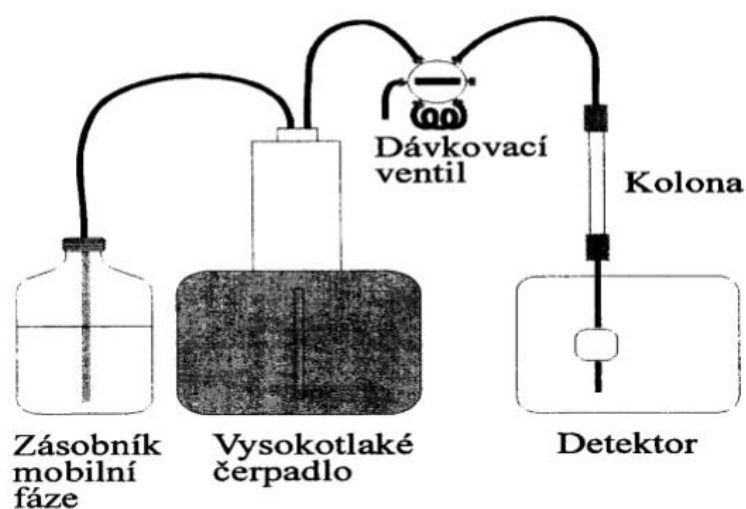
Plynová chromatografie je separační metoda, jejímž principem je rozdělení jednotlivých složek analyzované směsi mezi mobilní a stacionární fázi. Mobilní fáze je plynná a stacionární fáze nejčastěji na bázi polymeru nebo kapaliny nanesené na nosiči uvnitř kolony. Mobilní fázi je nejčastěji helium, dusík nebo vodík. Předpokladem pro úspěšnou analýzu je, že se zkoumané látky dají vypařit a jsou v tomto stavu stabilní. Plynovým chromatografem proudí plyn, který nadávkovaný vzorek na kolonu, která je uložena v prostoru (termostatu), ve kterém je možné nastavovat teplotu a řídit tak průběh analýzy.

Kolony se liší obsahem, buď se používají kolony náplňové (se sorbentem), nebo kapilární (velmi dlouhá stočená kapilára [48]). Tato technika má široké využití a jedním z nich je i možnost stanovení látek obsahujících fosfor, herbicid glyfosát a jeho metabolit AMPA a glufosinát v lidském séru pomocí plynové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Po vysrážení proteinů za použití acetonitrilu a extrakce na pevné fázi, byly vzorky séra derivatizovány a analyzovány pomocí plynové chromatografie. Jako nosný plyn bylo použito hélium. Bylo dosaženo následujících LOD pro jednotlivé analyty: AMPA, glyfosát a glufosinát 0,25, 0,25 resp. 0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (1,0, 1,5 resp. 0,27 $\mu\text{mol L}^{-1}$) v daném pořadí [49].

Výhodou plynové chromatografie je flexibilita, rychlost, nejvyšší separační účinnost, dobrá reprodukovatelnost, a především možnost využití selektivních detektorů. Není vhodná pro látky s malou těkavostí [52]. Dalším problémem bývají vysoké náklady na pořízení přístroje a potřebné znalosti a dovednosti obsluhujícího personálu.

2.7.6 Kapalinová chromatografie

Jedná se o druh chromatografie se zkráceným názvem HPLC [52]. Tato metoda pracuje podobně jako ostatní chromatografické přístroje. Uvnitř přístroje se nachází separační kolona naplněná vhodnou stacionární fází (nejčastěji silikagel modifikovaný C18) s definovanou velikostí částic. Tyto kolony bývají ocelové o průměru 2-5 mm a s délkou až do 300 mm. Zjednodušené schéma kapalinového chromatografu je znázorněno na obr. 5.



Obr. 5: Schéma přístroje pro HPLC [49].

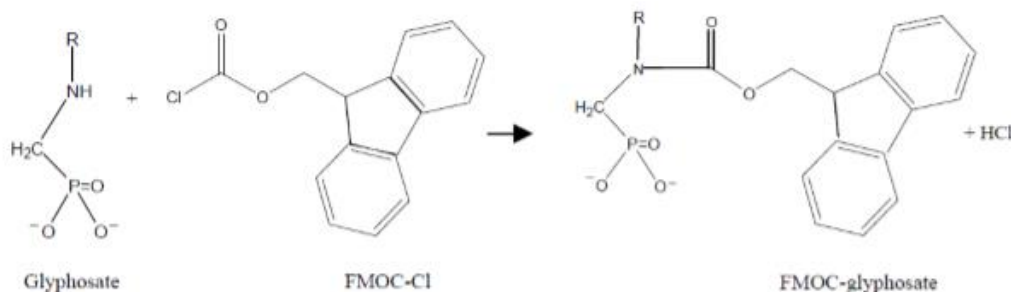
Stanovovaný vzorek se nastříkuje do toku mobilní fáze. Tok mobilní fáze zajišťuje vysokotlaké čerpadlo. V HPLC jsou využívány dva typy čerpadel. Jako první je lineární čerpadlo, u kterého je nevýhodou nemožnost změny složení mobilní fáze během analýzy. V dnešní době se však častěji používá gradientové čerpadlo. V tomto případě zle tedy zajistit stálý průtok mobilní fáze do kolony. Důležitým faktorem je správná volba detektoru. Nejčastěji jsou používány fotometrické detektory, které pracují na principu sledování absorbance látek opouštějících kolonu. Jako další je používán detektor s diodovým polem, nebo fluorimetrický detektor pro látky vykazující fluorescenci. Mezi často používané způsoby detekce patří i hmotnostní detektor vhodný na identifikaci látek podle jejich hmotnostních spekter.

V samotném optimalizačním procesu je pak důležitá volba mobilní fáze, která se na rozdíl od plynové chromatografie účastní samotné separace. Vždy je potřeba brát v potaz vzájemný vztah polarit separovaných látek a polarit mobilní a stacionární fáze. Jestliže se v průběhu analýzy mobilní fáze nemění, jedná se o izokratickou eluci látek. Naopak při složitějších analýzách je nutné složení mobilní fáze spojitě měnit, hovoříme tedy o tzv. gradientové eluci [49, 53].

2.1.1.1 Využití HPLC pro stanovení glyfosátu

U všech následujících příkladů je jako hlavní krok převedení molekuly glyfosátu na určitý detekovaný produkt (provádí se tzv. derivatizace). Tento produkt by měl být schopen pohlcovat UV záření (UV detektory) nebo fluoreskovat (fluorescenční detektory).

U stanovení glyfosátu metodou HPLC jsou nejčastěji použity dva typy derivatizace s p-toluenemsulfonyl chloridem (TsCl) [54, 55] kdy jsou využívány UV detektory [54, 55] nebo FMOC (obr. 5) [53, 56] s použitím fluorescenčního detektoru [55, 57]. Metoda využívající derivatizaci s TsCl není dostatečně citlivá pro stanovení stopových množství a je vhodná jen pro více koncentrované vzorky [51]. Navržená metoda byla aplikována pro ovocné džusy (pomeranč, grep, černý rybíz a jablko). U vzorku se upravovalo pH pomocí hydroxidu sodného.



Obr. 6: Reakce glyfosátu s FMOC – Cl a vzniklý detekovatelný derivát [52].

V další studii [54] bylo popsáno stanovení glyfosátu a jeho hlavního metabolitu AMPA pomocí HPLC s UV detektorem. Určitý objem vzorku obsahující glyfosát a AMPA se smísil s fosfátovým pufrům. V závěru měření bylo zjištěno, že fosfátový pufr dokáže výrazně ovlivnit chování při separaci a zlepšuje tzv. chvostování píků.

Článek od australských vědců [55] popisuje stanovení glyfosátu ve vodě a rostlinném materiálu (vzorky trávy) pomocí metody HPLC. K analýze bylo použito následující vybavení: HPLC systém složený z autosampleru a fluorescenčního detektoru. Dále dvě analytické kolony, prepínací ventil, kazety extrakce pevné fáze, otáčivá odparka a odsávač. Vzorky se nejprve zfiltrovaly. Glyfosát degraduje v přítomnosti chloru. Jestliže se ve vzorku vyskytoval chlor, musel být odstraněn přídatkem thiosíranu sodného. Následovala derivatizace pomocí FMOC – Cl a borátového pufru s následným převedením celkového objemu na 4 ml. Přebytečné množství FMOC – Cl se odstranilo extrakcí 1 ml ethylacetátu. Vzorky poté byly opět zfiltrovány a nástřikem převedeny do HPLC. Vzorky trávy byly nařezány, zmrazeny dusíkem a extrahovány methylenchloridem. Derivatizace probíhala stejně jako u vzorku vody. Pro stanovení glyfosátu a AMPA ve vzorcích vody bylo provedeno s použitím polymerní amino kolony s mobilní fází ze směsi acetonitrilu a fosfátového pufru nebo vody. Pro stanovení rostlinného materiálu bylo použito dvou polymerních amino kolon přes prepínací ventil.

V této studii autoři prokázali úspěšnou kombinaci derivatizace pomocí FMOC – Cl a separaci pomocí HPLC s použitím jednoduchých a kombinovaných polymerních kolon. Výhodou metody je použití pro široký rozsah pH a snadné regenerace polymerních kolon, které poskytují citlivou a zároveň stabilní metodu [55].

Dalším článkem využívajícím nepřímé stanovení glyfosátu je práce vědců z Číny [57]. Autoři využili DNBF pro derivatizaci tohoto materiálu a následně jej stanovili metodou HPLC v kombinaci s UV detekcí. Nejprve proběhla derivatizace glyfosátu, který byl následně oddělen na koloně a aplikován UV detekcí při 360 nm. Tato metoda byla použita ke kvantitativnímu stanovení glyfosátu ve vodě v oblasti životního prostředí [57].

Z uvedených článků vyplývá, že metoda HPLC je vhodná pro velmi citlivé stanovení glyfosátu. Vzhledem k tomu, že samostatná molekula je běžnými detektory velmi obtížně detekovatelná, je potřeba ji vždy před samotným stanovením převést na vhodný derivát. Největšími výhodami chromatografických metod je jejich selektivita, citlivost, robustnost, a především rychlost analýzy. Naopak jejich nevýhodou je náročná instrumentace a vysoké pořizovací náklady.

3 Experimentální část

Hlavním cílem experimentální části bylo ověření možnosti degradace glyfosátu po aplikaci plazmatu v modelových vzorcích vod s obsahem glyfosátu v neutrálním prostředí. K analýze vzorků byla zvolena analytická metoda LC/MS.

3.8 Použité přístroje a vybavení

- Přístroj na přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD, Academic
- Analytické váhy HR-120-EC, a & D Instruments Ltd.
- Generátor plazmatu v laboratoři paní doc. Ing. Zdenky Kozákové, Ph.D.
- pH metr InoLab WTW series, Nameko, ČR
- Konduktometr/pH metr GRYF 107 LP
- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series
- Kolona Restek Ultraaquacous C18 (150x2,1 mm)
- Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320
- Běžné laboratorní vybavení

3.9 Použitý software pro zpracování a interpretaci dat

- 6300 Series TrapControl Version 6.2
- 6300 Series DataAnalysis Version 6.2
- 6300 Series QuantAnalysis Version 6.2
- Microsoft Office Word 365
- Microsoft Office Excel 365

3.10 Použité chemikálie

3.10.1 Chemikálie

- Milli-Q voda
- Chlorid sodný o čistotě $\geq 99\%$, Sigma Aldrich
- Methanol – Chromasolv®, for HPLC o čistotě $\geq 99,9\%$, Sigma Aldrich
- Kyselina mravenčí o čistotě $\geq 98\%$, Sigma Aldrich
- Tetraboritan sodný, Chemapol
- Mravenčan amonný $\geq 99\%$, Sigma Aldrich
- Hydroxid sodný, Penta
- FMOc – Cl o čistotě 97% , Sigma Aldrich

3.10.2 Standard

- N – (Phosphomethyl)glycine o čistotě 96 %, Sigma Aldrich

3.11 Příprava vzorků

3.11.1 Zásobní roztoky glyfosátu

Na analytických vahách bylo s přesností na 4 desetinná místa naváženo 0,01 g glyfosátu. Navážené množství analyzované látky bylo kvantitativně převedeno do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno milli-Q vody po rysku baňky. Obsah baňky byl důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 1 mg/ml.

Z předchozího roztoku o koncentraci 1 mg/ml byl odpipetován 0,1 ml do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno milli-Q vodou po rysku baňky. Obsah odměrné baňky byl opět důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 10 µg/ml.

Z roztoku o koncentraci 10 µg/ml byl odpipetován 0,01 ml do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno milli-Q vodou po rysku baňky. Obsah odměrné baňky byl opět důkladně promíchán a byl získán roztok o koncentraci 0,1 µg/ml.

3.11.2 Kalibrační roztoky

Roztoky byly připraveny postupným ředěním zásobního roztoku glyfosátu o koncentraci 1 mg/ml pomocí milli-Q vody. Koncentrační řada pro glyfosát byla zvolena tak, aby odpovídala aplikaci plazmatu na modelové vzorky. Proto byly připraveny roztoky o koncentracích 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 µg/ml.

3.11.3 Modelový vzorek glyfosátu s neutrálním pH

Modelový vzorek o koncentraci 1 µg/ml byl připraven ze zásobního roztoku o koncentraci 1 mg/ml. Jako další byl připraven, navážením na analytických vahách 0,1 g glyfosátu, roztok o koncentraci 10 µg/ml. Poslední roztok o koncentraci 100 µg/ml byl připraven navážením 1,0 g glyfosátu.

Všechny modelové vzorky musely splňovat podmínku vhodné vodivosti ($400 \pm 10 \mu\text{S}$) z důvodu generování plazmatu. Určitá vodivost podpoří snadnější zapálení plazmatu. Podmínka vhodné vodivosti byla splněna vytvořením roztoku elektrolytu. Tento roztok se připravil navážením 0,216 g NaCl a rozpuštěním v 1,2 l milli-Q vody. Z tohoto roztoku byl odebrán vždy 1 l. Výsledný roztok vznikl smícháním 1 ml vzorku (každé koncentrace) a 1 l roztoku elektrolytu.

3.11.4 Reálné vzorky glyfosátu komerčně prodávaných přípravků

Jako vhodné komerčně prodávané přípravky byly vybrány 2 roztoky – Roundup Biaktiv a Glialka Hobby. Informační dokumentace přípravků uvádí koncentraci glyfosátu 480 g/l v případě produktu Roundup Biaktiv a 360 g/l glyfosátu v případě Glialka Hobby. Z obou přípravků byl odpipetován 1 ml a převeden do 10 ml odměrné baňky doplněné po rysku milli-Q vodou. Vzniklá koncentrace Roundup byla 0,048 g/ml. Koncentrace Glialka byla 0,036 g/ml. Z takto vytvořených roztoků byl odpipetován 1 ml vzorku a smíchán s 500 ml roztoku elektrolytu.

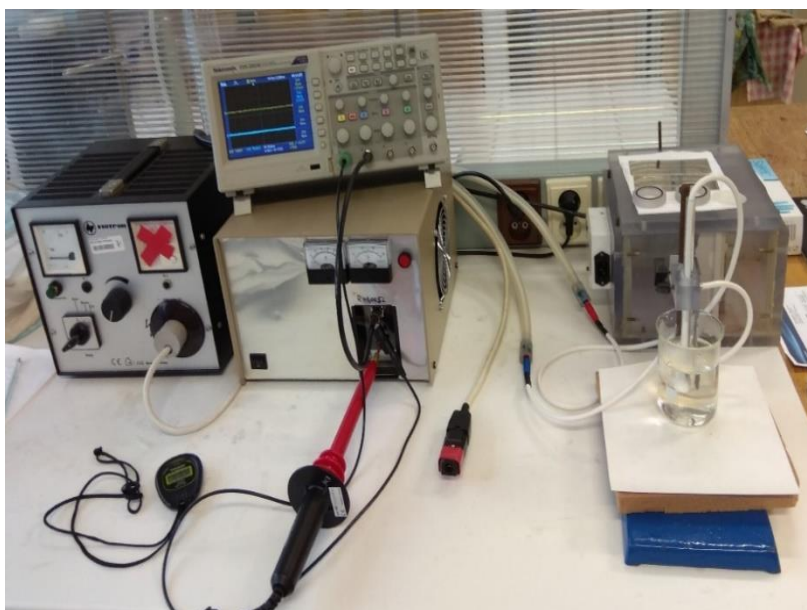
3.11.5 Modelový vzorek glyfosátu s FMOC – Cl činidlem

Vzorek byl připraven odpipetováním 0,5 ml roztoku o koncentraci 10 $\mu\text{g/ml}$ a naředěn 0,5 ml milli-Q vody. Z vzniklého roztoku, o koncentraci 0,5 $\mu\text{g/ml}$, bylo odpipetováno 0,3 ml do vialky. Dále bylo přidáno 0,6 ml borátového pufru o $\text{pH } 9 \pm 0,1$, který vznikl smícháním 4,75 $\pm 0,05$ g tetraborátu sodného dekahydrát s 250 ml milli-Q vody. Ovlivnění pH se provádělo přidávkou 0,05 M hydroxidu sodného. Na závěr se přidalo 0,5 ml připraveného derivatizačního roztoku FMOC – Cl. Následovala dvouhodinová derivatizace při pokojové teplotě. Po ukončení derivatizace bylo přidáno 0,06 ml kyseliny mravenčí.

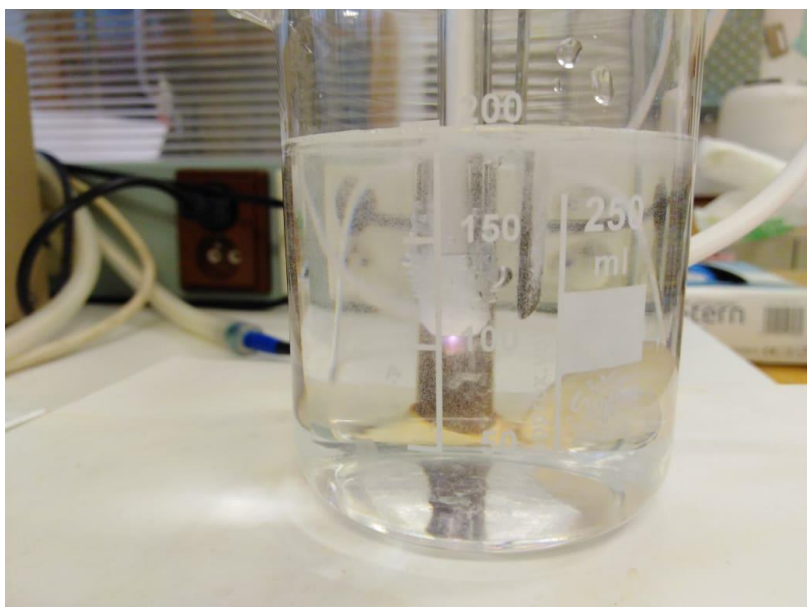
3.11.6 Ošetření modelových vzorků pomocí plazmatu

K ošetření modelových vzorků pomocí plazmatu byl použit reaktor, který byl zapojen do elektrické sítě o napětí 230 V. K reaktoru náležela kádinka, která obsahovala připravené modelové roztoky glyfosátu o různých koncentracích (200 ml). Do těchto roztoků byly ponořeny dvě elektrody (hlavní a protielektroda), mezi které se vkládalo stejnosměrné napětí (viz. obrázek 7 a 8).

Hlavní elektroda je složena z wolframového drátu v kompaktní keramické hlavici. Protielektrodu tvoří plochá hliníková elektroda. Jelikož keramická vrstva přesahuje délku wolframového drátu, dochází ke kombinaci výboje na štěrbině s korónovým výbojem. Výkon přiváděný na soustavu pravidelně dosahoval cca 50 W.



Obr. 7: Zapojení použitého stejnosměrného napětí.



Obr. 8: Přibližný pohled na reaktor.

V prvním kroku byla posouzena polarita hlavní elektrody podle účinnosti degradace glyfosátu pomocí dvou různých zapojení elektrod. Během ošetřování plazmatem byly prováděny odběry vzorku v čase 0; 30 a 60 sekund. Tento časový interval byl vybrán z důvodu možnosti vyhodnocení časové závislosti aplikace plazmatu na degradaci glyfosátu.

U dalších měření bylo už vždy použito zapojení elektrod v kladné polaritě a ošetřování plazmatem probíhalo po dobu jedné minuty. Odběry vzorků se prováděly v čase 0; 15; 30; 45 a 60 sekund, aby bylo možné vyhodnotit časovou závislost aplikace plazmatu na degradaci glyfosátu. Reprodukovatelnost byla ověřena u kalibračního roztoku o koncentraci 0,8 µg/ml.

3.11.7 Stanovení glyfosátu v modelových vzorcích

Jako nejvhodnější analytická metoda pro stanovení koncentrace glyfosátu v modelových vzorcích byla zvolena metoda LC/MS. Daný kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem a připojeným počítačem je zobrazen na obr. 9. Pro stanovení glyfosátu v modelových vzorcích bylo potřeba vybrat vhodnou kolonu. Metoda byla již optimalizována. Parametry na kapalinovém chromatografu a hmotnostního spektrometru byly nastaveny podle uvedené tabulky 2.



Obr. 9: Kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem a počítačem.

Tabulka 2: Parametry pro kapalinový chromatograf.

Parametry pro kapalinový chromatograf		
Nástřik	10 μ l	
Průtok mobilní fáze	0,4 ml/ min	
Teplota kolony	25 °C	
Mobilní fáze	A: CH ₃ OH	
	B: 0,01 M HCOOH v MQ	
Gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	0	100
	3	100
	10	50
	15	100
Post time	6 minut	

3.11.8 Stanovení glyfosátu v reálných vzorcích komerčních produktů

Vhodnou analytickou metodou stanovení glyfosátu ve vzorcích komerčně prodávaných produktů je zvolená metoda LC/MS. Sestavení přístroje je shodné se stanovením glyfosátu v modelových vzorcích a je zobrazeno na obr. 9. Parametry nastavení kapalinového chromatografu a hmotnostního spektrometru byly použity podle tabulky 2.

3.11.9 Stanovení glyfosátu v modelovém vzorku pomocí činidla FMOC – Cl

Mezi vhodné metody stanovení glyfosátu ve vzorku se řadí zvolená metoda LC/MS. Sestavení přístroje je shodné se stanovením glyfosátu v modelových vzorcích a je zobrazeno na obr. 9. Byla použita optimalizovaná metoda pro analýzu glyfosátu. Parametry nastavení kapalinového chromatografu a hmotnostního spektrometru byly použity podle tabulky 3.

Tabulka 3: Parametry pro kapalinový chromatograf.

Parametry pro kapalinový chromatograf		
Nástřik	10 μ l	
Průtok mobilní fáze	0,4 ml/ min	
Teplota kolony	25 °C	
Mobilní fáze	A: CH ₃ OH	
	B: 0,01 M HCOOH v MQ	
Gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	1	100
	10	10
	15	100
Post time	6 minut	

4 Výsledky a diskuze

4.1 Kalibrační závislosti

Na začátku každého měření odebíraných vzorků během aplikace plazmatu byla měřena kalibrační závislost pro glyfosát o koncentraci 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 a 1,0 µg/ml. Z kalibrační závislosti byly následně vypočítané postupně ubývající koncentrace glyfosátu v modelových vzorcích po ošetření plazmatem.

Tabulka 4: Rovnice lineárních regresí kalibrací.

Koncentrace	Rovnice lineární regrese	R ²
1mg/l	$y = 9000000x - 374519$	0,99
10 a 100 mg/l	$y = 8000000x - 408195$	0,99
Reálné vzorky	$y = 8000000x - 408195$	0,99

Rovnice lineární regrese se mění v důsledku zvyšující se koncentrace glyfosátu. Interval spolehlivosti je při lineární závislosti u všech vzorků blízko hodnoty 1.

4.2 Modelové vzorky po aplikaci plazmatu

4.2.1 Modelový vzorek glyfosátu s FMOC – Cl činidlem

Tato analýza byla provedena z hlediska potřeby všech možných analýz glyfosátu pomocí kapalinové chromatografie. Cílem bylo najít řešení možného stanovení glyfosátu rychlou metodou za podmínek umožněných na fakultě, jelikož stavení glyfosátu za použití HILIC kolony nebylo úspěšné. Měření se provádělo pomocí připraveného roztoku glyfosátu s derivatizačním činidlem FMOC – Cl. Z hlediska úspory času a finančních nákladů bylo stanovení dále prováděno přímou analýzou glyfosátu na C18 koloně bez derivatizace, které pro naše sledování průběhu degradace po aplikaci plazmatu bylo dostačující.

4.2.2 Degradace glyfosátu podle polarity hlavní elektrody

V prvním měření bylo potřeba zjistit vliv polarity hlavní elektrody na účinnost degradace glyfosátu s neutrálním pH při ošetření plazmatem. Nejdříve byla hlavní elektroda zapojena tak, aby měla zápornou polaritu a následně kladnou polaritu. Podmínky, při kterých byl připravený modelový vzorek ošetřován plazmatem, odebírána v daných časech a získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Podmínky pro ošetření plazmatem.

Změřené parametry		Před aplikací	Po aplikaci
pH	+	7,48	6,91
	-	7,48	6,92
Vodivost [μ S]	+	330	380
	-	330	380
Teplota [$^{\circ}$ C]	+	12,4	33,6
	-	12,4	44,5
Objem vzorku [ml]	200		
Odběry [s]	Po 15 s (0 až 1 minuta)		
Výkon [W]	50		

Při záporné polaritě hlavní elektrody docházelo k většímu ohřevu analyzovaného vzorku než při zapojení na kladné polaritě.

Z měření tedy vychází, že v případě, kdy je hlavní elektroda zapojena v kladné polaritě, jsou výsledky degradace glyfosátu ve vzorcích výraznější než při záporné polaritě. Další analýzy byly prováděny v tomto zapojení i se stejnými podmínkami (cca 50 W).

4.2.3 Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o $c = 1 \mu\text{g/ml}$

Přichystaný modelový vzorek glyfosátu s neutrálním pH byl ošetřen plazmatem. Podmínky, při kterých byl připravený modelový vzorek ošetřován plazmatem, odebíráán v daných časech a získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Podmínky pro ošetření plazmatem.

Změřené parametry	Před aplikací	Po aplikaci
pH	6,93	6,90
Vodivost [μS]	403	477
Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	17,2	33,2
Objem vzorku [ml]	200	
Odběry [s]	Po 15 s (0 až 2 minut)	
Výkon [W]	50	

Tabulka 7: Výsledné koncentrace roztoků.

Čas [s]	Výsledná koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,0507
15	0,0448
30	0,0433

Na začátku byl připraven roztok o koncentraci $1 \mu\text{g/ml}$. Pomocí analýzy na kapalinovém chromatografu byla zjištěna mnohem nižší koncentrace ($0,05 \mu\text{g/ml}$) již v čase 0, než v původním připraveném roztoku. Tato změna je způsobena možnou sorpcí glyfosátu na sklo, plast a kovové materiály přístroje [58].

Ozařování pomocí plazmy bylo dále aplikováno po dobu 75 sekund. Výsledná koncentrace glyfosátu ve vzorku byla už od 45. sekundy nulová. Nejvyšší účinnost degradace glyfosátu o koncentraci 1 µg/ml je v prvních 15 sekundách.

4.2.4 Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o $c = 10 \mu\text{g/ml}$

Přichystaný modelový vzorek glyfosátu s neutrálním pH byl ošetřen plazmatem. Podmínky, při kterých byl připravený modelový vzorek ošetřován plazmatem, odebírán v daných časech a získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 8. Ukázkový pík je zobrazen na obrázku č. 10.

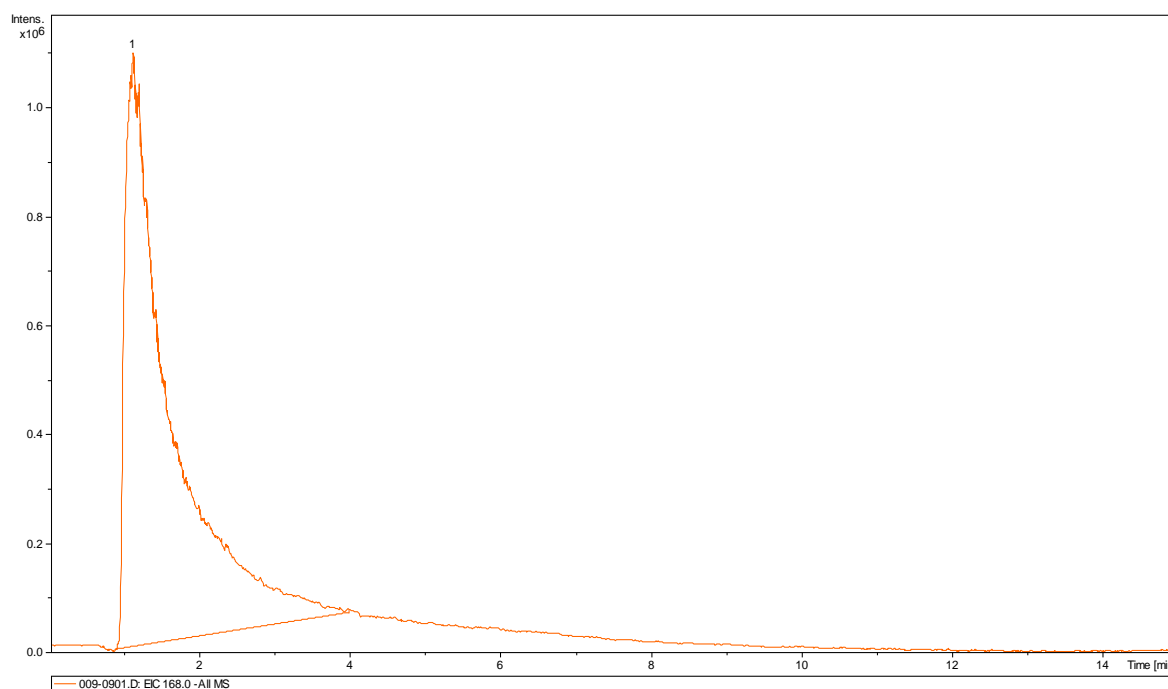
Tabulka 8: Podmínky pro ošetření plazmatem.

Změřené parametry	Před aplikací	Po aplikaci
pH	5,61	5,4
Vodivost [μS]	340	350
Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	12,8	21,0
Objem vzorku [ml]	200	
Odběry [s]	Po 15 s (0 až 1 minuta)	
Výkon [W]	50	

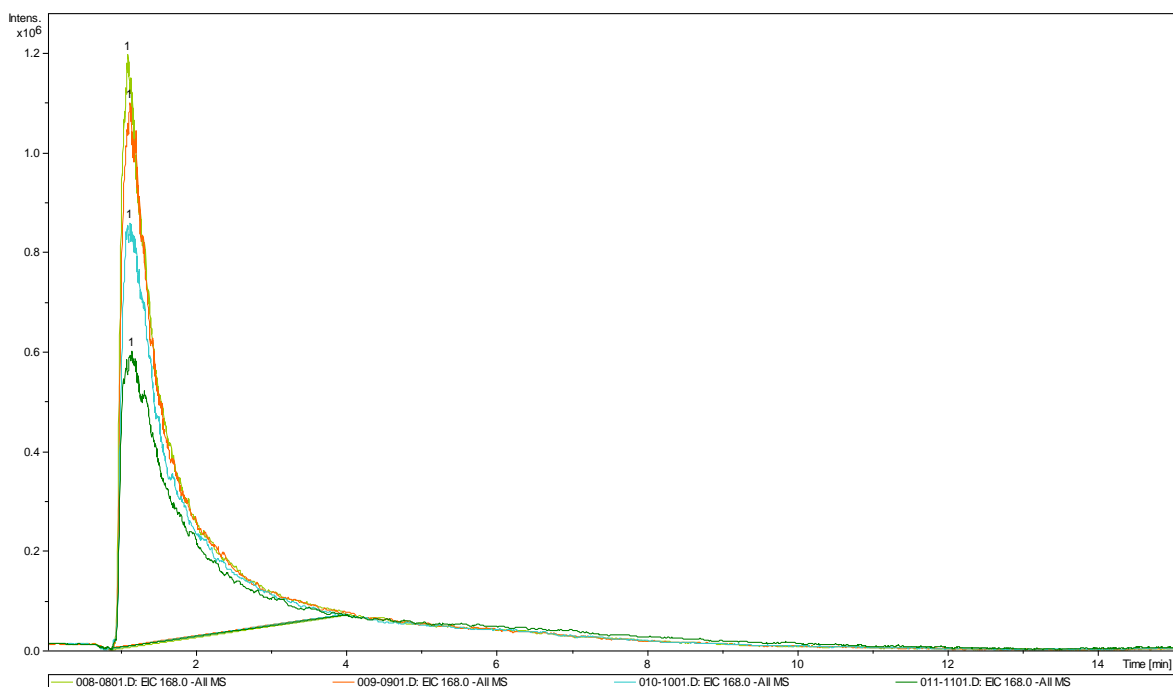
Tabulka 9: Výsledná koncentrace roztoků.

Čas [s]	Výsledná koncentrace [μg/ml]
0	0,1974
15	0,2001
30	0,1874
45	0,1574
60	0,1251

Při koncentraci glyfosátu 10 μg/ml dochází k rovnoměrné degradaci od 30. sekundy o přibližně 0,03 μg/ml v intervalu po 15 sekundách.



Obr. 10: Pík glyfosátu o koncentraci 10 μg/ml po ošetření plazmatem po 15 s.



Obr. 11: Píky po postupném odebrání vzorků při ošetření plazmatem ($c=10 \mu\text{g/ml}$).

4.2.5 Modelový vzorek glyfosátu v neutrálním prostředí o $c=100 \mu\text{g/ml}$

Přichystaný modelový vzorek glyfosátu s neutrálním pH byl ošetřen plazmatem. Podmínky, při kterých byl připravený modelový vzorek ošetřován plazmatem, odebrán v daných časech a získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 10. Ukázkový pík je zobrazen na obrázku č. 12.

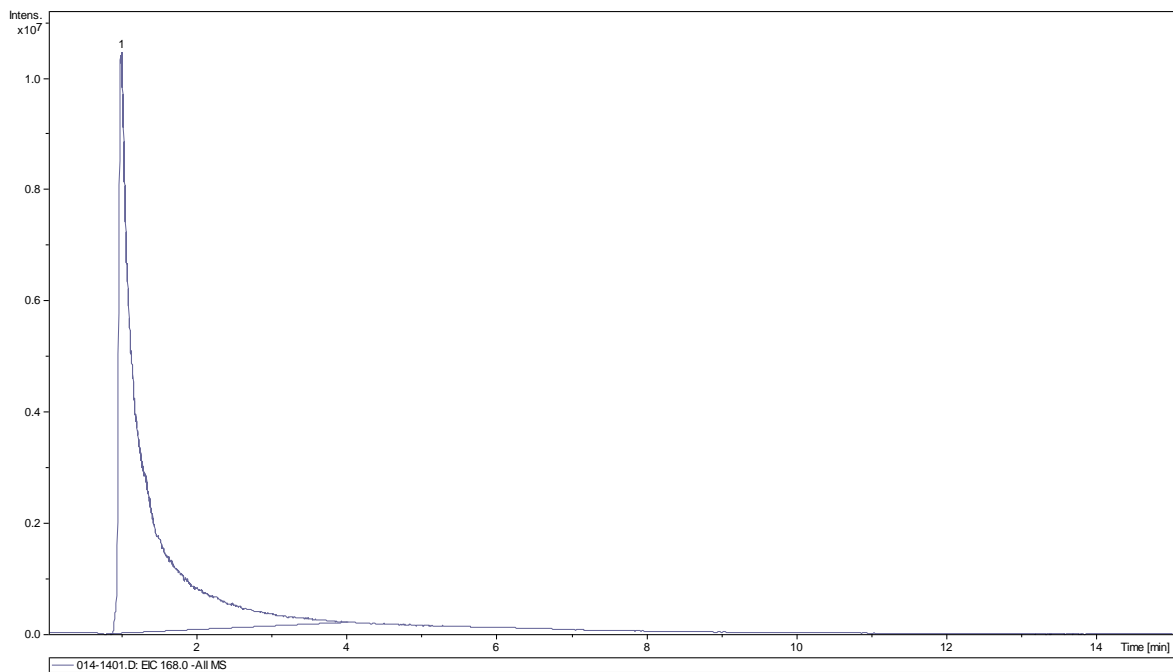
Tabulka 10: Podmínky pro ošetření plazmatem.

Změřené parametry	Před aplikací	Po aplikaci
pH	4,2	4,3
Vodivost [μS]	490	544
Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	14	21,7
Objem vzorku [ml]	200	
Odběry [s]	Po 15 s (0 až 1 minuta)	
Výkon [W]	50	

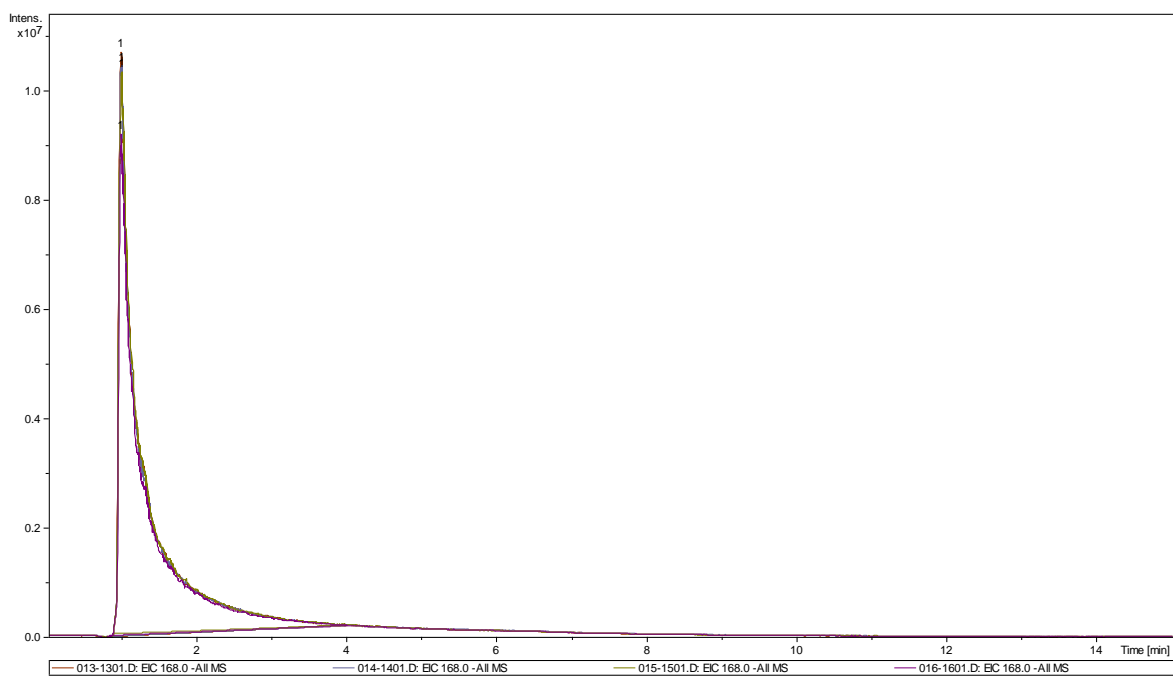
Tabulka 11: Výsledná koncentrace roztoků.

Čas [s]	Výsledná koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]
0	1,3730
15	1,3885
30	1,3567
45	1,3381
60	1,1983

Při koncentraci glyfosátu 100 $\mu\text{g/ml}$ dochází k degradaci od 30. sekundy o přibližně 0,02 $\mu\text{g/ml}$ v intervalu po 15 sekundách.



Obr. 12: Pik glyfosátu o koncentraci 100 $\mu\text{g/ml}$ po ošetření plazmatem po 15 s.



Obr. 13: Píky po postupném odebrání vzorků při ošetření plazmatem ($c=100 \mu\text{g/ml}$).

4.2.6 Reálné vzorky glyfosátu v komerčních produktech

Dále bylo provedeno testování účinnosti degradace glyfosátu po ošetření plazmatem na reálných prodejních prostředcích Roundup o koncentraci 0,048 g/ml a Glialka o koncentraci 0,036 g/ml. Podmínky, při kterých byly vzorky ošetřovány plazmatem, odebírány v daných časech a získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 12.

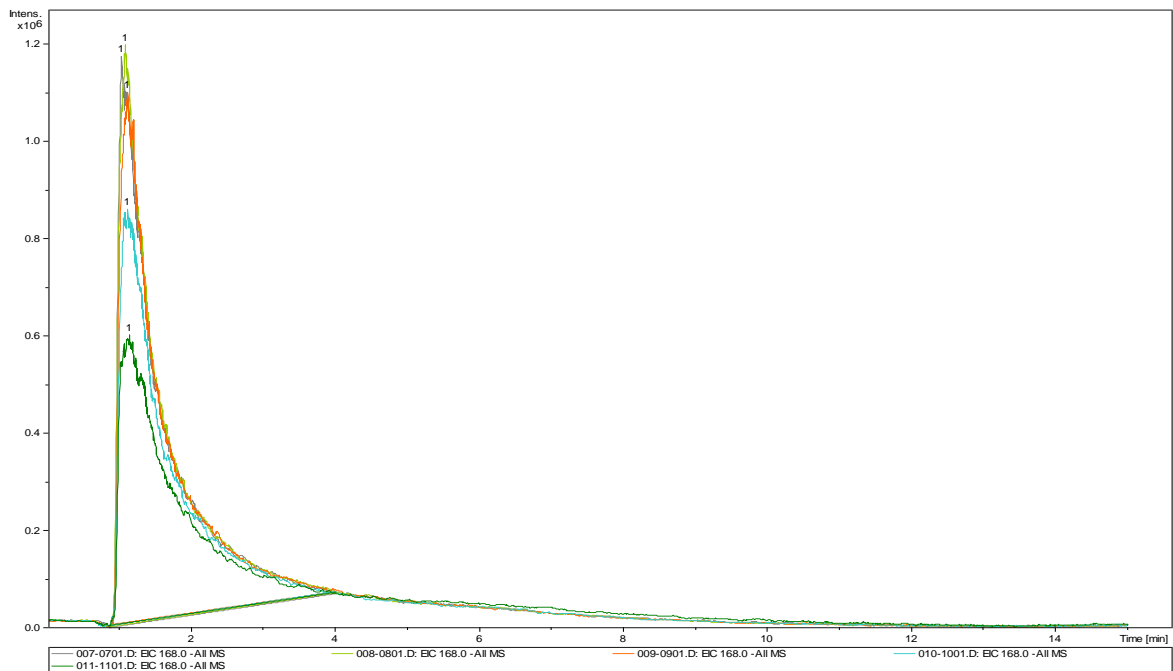
Tabulka 12: Podmínky pro ošetření plazmatem.

Změřené parametry	Roundup		Glialka	
	Před aplikací	Po aplikaci	Před aplikací	Po aplikaci
pH	6,95	6,47	6,53	6,6
Vodivost [μS]	559	577	435	478
Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	22,6	29,1	22,6	29,1
Objem vzorku [ml]	200			
Odběry [s]	Po 15 s (0 až 1 minuta)			
Výkon [W]	50			

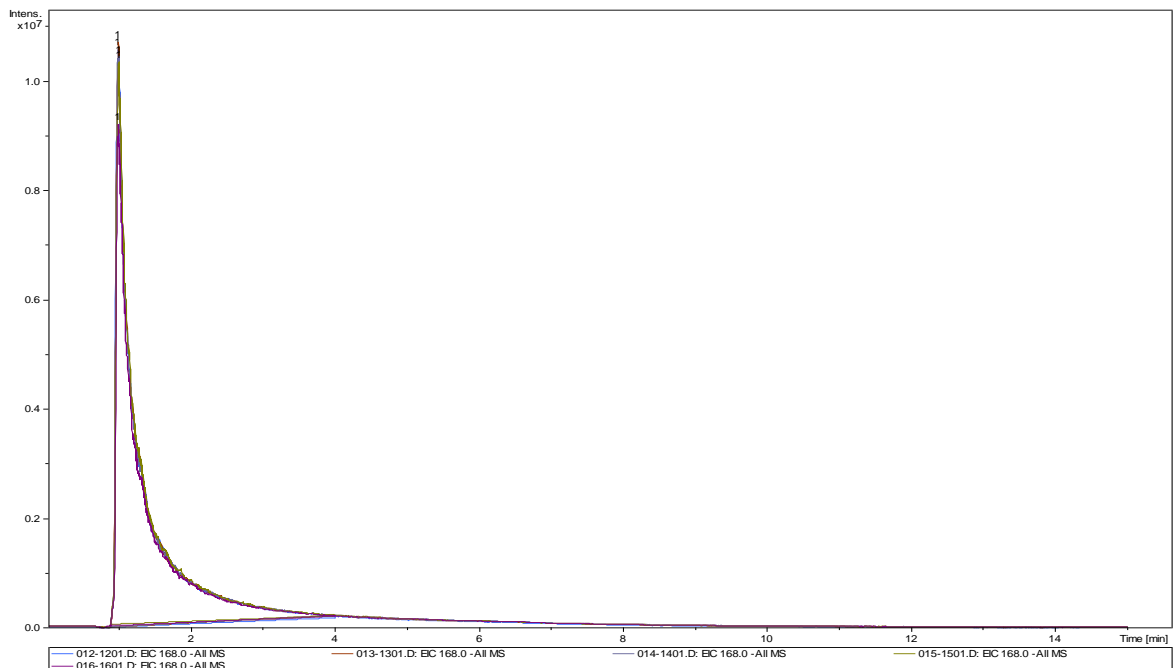
Tabulka 13: Výsledná koncentrace roztoků.

	Roundup	Glialka
Čas [s]	Výsledná koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]	Výsledná koncentrace [$\mu\text{g/ml}$]
0	0,1974	1,3730
15	0,2001	1,3885
30	0,1874	1,3567
45	0,1574	1,3381
60	0,1251	1,1983

Účinnost degradace glyfosátu pomocí plazmatu byla vyšší u roztoku Roundup po 30. sekundě v porovnání s roztokem Glialka, kde byla účinnost efektivnější po 45. sekundě.



Obr. 14: Píky po postupném odebrání reálného vzorku Roundup při ošetření plazmatem.



Obr. 15: Píky po postupném odebrání reálného vzorku Glialka při ošetření plazmatem.

5 Závěr

Glyfosát je hojně využívaný herbicid v zemědělství, jehož efektivní odstranění z povrchových vod nebylo doposud podrobně zkoumáno. Ke stanovení degradace glyfosátu ve vzorcích vody byla využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Pro kompletní stanovení glyfosátu touto metodou bylo provedeno měření za pomoci derivatizačního činidla FMOC – Cl k získání kompletního stanovení glyfosátu na kapalinovém chromatografu s kolonou C18. Z důvodu finanční a časové náročnosti se měření dále provádělo na koloně Restek Ultraaqueous C18.

V případě roztoku o koncentraci 1 µg/ml byla prokázána nejvyšší účinnost degradace v prvních 15 sekundách působení plazmatu. U roztoků o koncentraci 10 a 100 µg/ml byla zjištěna nejvyšší účinnost degradace od 30. sekundy. U vzorků komerčně prodávaných produktů byla zjištěna nejvyšší účinnost degradace od 45. sekundy. Degradace glyfosátu byla znatelně vyšší u roztoku Roundup ve srovnání s roztokem Glialka. To může být způsobeno možnou přítomností dalších látek v produktu Glialka.

U většiny vzorků došlo ke snížení hodnot koncentrací v čase 0. To je pravděpodobně způsobeno sorpcí glyfosátu na kovové materiály a stěny kapiláry chromatografu. Je možné, že také dochází k sorpci na stěny skleněných nádob, ve kterých jsou roztoky uchovávány.

Vyšší účinnost plazmatu byla prokázána u roztoků glyfosátu s nižší koncentrací. U všech vzorků byl úbytek glyfosátu variabilní v závislosti na čase působení plazmatu.

6 Literární zdroje

- [1] HRUDOVÁ, Eva a Jana VÍCHOVÁ. *Ochrana zeleniny a ovoce před chorobami a škůdci: kapsní příručka pro zahrádkáře*. Velké Bílovice: TeMi CZ, 2009. ISBN 978-80-87156-38-4.
- [2] Obenberger Jan a Trojan Václav. *Příručka chemické ochrany rostlin*. Praha: SNTL, 1976. ISBN L16-B2-III-31/61876.
- [3] Šuta Miroslav. *Chemické látky v životním prostředí a zdraví*. 1. vyd. Brno: ZO ČSOP Veronica, 2008. ISBN 978-80-87308-00-4.
- [4] Česká republika. Zákon č.350/2011 Sb., o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*, 2011
- [5] Česká republika. Zákon č.326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*, 2004.
- [6] Česká republika. Vyhláška č.32/2012 Sb., o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin. In: *Sbírka zákonů České republiky*, 2012.
- [7] Rod Jaroslav. *Choroby zeleniny a brambor*. Vyd. 1. Praha: Květ, 1997. ISBN 80853-6230-9.
- [8] *Aplikovaná botanika BOT/ABP* [online]. Univerzita Palackého v Olomouci. [cit.2015-03-25]
- [9] *The Herbicide Handbook: Guidance on the use of herbicides on nature conservation sites*. Wetherby: English Nature, 2003. ISBN 1 85716 746 5.
- [10] Gasnier, Céline, et al. "Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines." *Toxicology* 262.3 (2009): 184-191
- [11] Romano, Renata Marino, et al. "Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology." *Archives of Toxicology* 84.4 (2010): 309-317
- [12] *The Herbicide Handbook: Guidance on the use of herbicides on nature conservation sites*. Wetherby: English Nature, 2003. ISBN 1 85716 746 5.
- [13] George, Jasmine, et al. "Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin: A proteomic approach." *Journal of proteomics* 73.5 (2010): 951-964
- [14] Guyton KZ, et al. (May 2015). "Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate". *The Lancet. Oncology* 16 (5): 490–1
- [15] *Vnitřní lékařství*. Brno: Medica Healthworld, 2009. ISSN 0042-773X.
- [16] Cressey Daniel. Widely used herbicide linked to cancer. *Nature*. 2015. DOI: 10.1038/nature.2015.17181.
- [17] *Journal of internal medicine*. Edinburgh, U.K.: Blackwell Publishing, 2006. ISSN 0954-6820
- [18] JAN BINDZAR A KOLEKTIV. *Základy úpravy a čištění vod*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. ISBN 978-807-0807-293.
- [19] STUETZ, Richard, STEPHENSON, Tom, ed. *Principles of Water and Wastewater Treatment processes*. 1. London: IWA Publishing, 2009. ISBN 978-1843390268.

- [20] KOLPIN, Dana W., E. Michael THURMAN, Edward A. LEE, Michael T. MEYER, Edward T. FURLONG a Susan T. GLASSMEYER. Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Science of The Total Environment* [online]. 2006, 354(2-3), 191-197 [cit. 2016-03-17]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2005.01.028. ISSN 00489697
- [21] DENG, Yang a Renzun ZHAO. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. *Current Pollution Reports* [online]. 2015, 1(3), 167-176 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1007/s40726-015-0015-z. ISSN 2198-6592.
- [22] KURT, Ayse, Berna Kiril MERT, Nihan ÖZENGİN, Özge SIVRIOĞLU a Taner YONAR. Treatment of Antibiotics in Wastewater Using Advanced Oxidation Processes (AOPs). *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery* [online]. InTech, 2017, 2017-05-03 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.5772/67538. ISBN 978-953-51-3129-8.
- [23] Beneš J.: Pokročilé oxidační procesy - AOP. Sborník konference Pitná voda 2008, s. 135-140. W&ET Team, Č. Budějovice 2008. ISBN 978-80-254-2034-8
- [24] FABIÁŇSKA, Aleksandra, Anna BIAŁK-BIELIŇSKA, Piotr STEPŇOWSKI, Stefan STOLTE a Ewa Maria SIEDLECKA. Electrochemical degradation of sulfonamides at BDD electrode: Kinetics, reaction pathway and eco-toxicity evaluation. *Journal of Hazardous Materials*[online]. 2014, 280, 579-587 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.08.050. ISSN 03043894.
- [25] MACSEK, T.; ŠVESTKOVÁ, T.; ÚTERSKÝ, M.; LANDOVÁ, P.; HLAVÍNEK, P.; VÁVROVÁ, M. Removal of pharmaceuticals from drinking water matrix in a flow-through AOPs reactor. In 15th International Conference on Environmental Science and Technology. Proceedings of the International Conference on Environmental Science and Technology. Athens, Greece: International Conference on Environmental Science and Technology, 2017. s. 1-5. ISBN: 978-960-7475-53-4. ISSN: 1106-5516.
- [26] KOPRIVANAC, Natalija a Hroje KUSIC. AOP as an effective tool for the minimization of hazardous organic pollutants in colored wastewater ; chemical and photochemical processes. *Hazardous materials and wastewater: treatment, removal and analysis*. New York: Nova Science Publishers, c2007, s. 149-199. ISBN 1-60021-257-3.
- [27] KULHÁNEK, Petr. Úvod do teorie plazmatu. Praha: AGA, 2011. ISBN 978-80904582-2-2.
- [28] Kubinova, Sarka & Drahošová, Michala & Bezděk, Daniel & Churpita, Oleksandr & Musil, Radek & Hanzálek, Tomáš & Soldánová, Martina & Berka, Pavel & Dejneka, Alexandr. (2016). NÍZKOTEPLTNÍ PLAZMA VE VETERINÁRNÍ MEDICÍNĚ – KAZUISTIKY NON-THERMAL PLASMA IN VETERINARY MEDICINE – CASE STUDIES. *Veterinární lékař*. 14. 75-81.
- [29] MARTIŠOVITŠ, Viktor. Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium. Bratislava: Vydavateľstvo UK, 2006. ISBN 80-223-1983-X.

- [30] MAGUREANU, M., D. PIROI, N.B. MANDACHE, V. DAVID, A. MEDVEDOVICI, C. BRADU a V.I. PARVULESCU. Degradation of antibiotics in water by non-thermal plasma treatment. *Water Research* [online]. 2011, 45(11), 3407-3416 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1016/j.watres.2011.03.057. ISSN 00431354.
- [31] KOZÁKOVÁ, Zdenka. *Chempoint* [online]. 2011 [cit. 2019-03-04].
- [32] MAGUREANU, M., D. PIROI, N.B. MANDACHE, V. DAVID, A. MEDVEDOVICI, C. BRADU a V.I. PARVULESCU. Degradation of antibiotics in water by non-thermal plasma treatment. *Water Research* [online]. 2011, 45(11), 3407-3416 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1016/j.watres.2011.03.057. ISSN 00431354.
- [33] THAGARD, Selma Mededovic, Kazunori TAKASHIMA a Akira MIZUNO. Plasma Chemistry in Pulsed Electrical Discharge in Liquid. *Transactions of the Materials Research Society of Japan* [online]. 2009, 34(2), 257-262 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.14723/tmrj.34.257. ISSN 1382-3469.
- [34] UAMRAN, Duaa A. Simulations of the Propagation of Streamers in Electrical Discharges in a 5mm Water Filled Gap [online]. 2017, 9(4) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.19080/CTBEB.2017.09.555767. ISSN 25721151.
- [35] ŠUNKA, Pavel. Pulse electrical discharges in water and their applications. *Physics of Plasmas* [online]. 2001, 8(5), 2587-2594 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1063/1.1356742. ISSN 1070-664X.
- [36] VANRAES, Patrick, Anton Y. NIKIFOROV a Christophe LEYS. Electrical Discharge in Water Treatment Technology for Micropollutant Decomposition. *Plasma Science and Technology - Progress in Physical States and Chemical Reactions* [online]. InTech, 2016, 2016-04-20 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.5772/61830. ISBN 978-953-51-2280-7.
- [37] KRČMA, F, Z KOZÁKOVÁ, V MAZÁNKOVÁ, J HORÁK, L DOSTÁL, B OBRADOVIĆ, A NIKIFOROV a T BELMONTE. Characterization of novel pin-hole based plasma source for generation of discharge in liquids supplied by DC non-pulsing voltage. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2018, 27(6) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/1361-6595/aac521. ISSN 1361-6595.
- [38] MALIK, Muhammad Arif, Abdul GHAFAR a Salman Akbar MALIK. Water purification by electrical discharges. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2001, 10(1), 82-91 [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/10/1/311. ISSN 0963-0252.
- [39] BRUGGEMAN, P J, M J KUSHNER, B R LOCKE, et al. Plasma–liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2016, 25(5) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002. ISSN 1361-6595.
- [40] BRUGGEMAN, Peter a Daan C SCHRAM. On OH production in water containing atmospheric pressure plasmas. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2010, 19(4) [cit. 2019-03-04]. DOI: 10.1088/0963-0252/19/4/045025. ISSN 0963-0252.

- [41] Jan, M. Rasul, Jasmin Shah, Mian Muhammad a Behisht Ara. Glyphosate herbicide residue determination in samples of environmental importance using spectrophotometric method. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, 169(1-3): 742745. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.04.003.
- [42] Kataoka, Hiroyuki, SunhiRyu, Norihisa Sakiyama a Masami Makita. Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection. *Journal of Chromatography A* . 1996, 726(1-2): 253-258. DOI: 10.1016/0021-9673(95)01071-8.
- [43] Teófilo, Reinaldo F., Reis Efraim L., Reis César, da Silva Gilmore A., Paiva José F. a Kubota Lauro T. Glyphosate Determination in Soil, Water and Vegetables Using DPV Optimized by Response Surface Methodology. *Portugaliae Electrochimica Acta* 2008, 26(4): 325-337.
- [44] Teófilo, Reinaldo F., Reis Efraim L., Reis César, da Silva Gilmore A. a Kubota Lauro T. Experimental Design Employed to Square Wave Voltammetry Response Optimization for the Glyphosate Determination. *Journal of Brazilian Chemical Society* 2004, 15(6): 865-871.
- [45] Moraes, Fernando C., Mascaro Lucia H., Machado Sérgio S. A. a Brett Christopher M. A. Direct Electrochemical Determination of Glyphosate at Copper Phthalocyanine/Multiwalled Carbon Nanotube Film Electrodes. *Electroanalysis* 2010, 22(14): 1586-1591. DOI: 10.1002/elan.200900614.
- [46] Pintado, Sara, Montoya Mercedes Ruiz, Rodríguez-Amaro Rafael, Mayén a Mellado José Miguel Rodríguez. Electrochemical Determination of Glyphosate in Waters Using Electrogenated Copper Ions. *International Journal of Electrochemical Science* 2012, 7(3): 2523-2530.
- [47] Songa, Everly A., Vernon S. Somerset, Tesfaye Waryo, Priscilla G. L. Baker a Emmanuel I. Iwuoha. Amperometric nanobiosensor for quantitative determination of glyphosate and glufosinate residues in corn samples. *Pure and Applied Chemistry* 2009, 81(1): 123-139.
- [48] Opekar František, Jelínek Ivan, Rychlovský Petr, Plzák Zdeněk. *Základní analytická chemie*. Praha: Nakladatelství Karolinum, 2003. ISBN 80-246-0553-8.
- [49] MOTOJYUKU, M, T SAITO, K AKIEDA, H OTSUKA, I YAMAMOTO a S INOKUCHI. Determination of glyphosate, glyphosate metabolites, and glufosinate in human serum by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 2008, 875(2): 509-514. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.10.003.
- [50] KARLÍKOVÁ, Marie (ed.) a Ondřej TOPOLČAN (ed.). *Principy imunoanalytických metod pro mediky (Skripta – Investice do rozvoje vzdělávání)* [online]. Plzeň: 2013. Dostupné z: <http://www.imunovyuka.cz/studijniotazky.html>.]
- [51] Mörtl, Mária, Gyöngyi Németh, Judit Juracsek, Béla darvas, Lisa Kamp, Fernando Rubio, a András Székács. Determination of Glyphosate residues in Hungarian water samples by immunoassay. *Microchemical Journal* 2013, 107: 143-151

- [52] Popl Milan a Jan Fähnrich. Analytická chemie životního prostředí. Vyd. 3. přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-708-02383.
- [53] NEDELKOSKA, T. V a G.K-C LOW. High-performance liquid chromatographic determination of glyphosate in water and plant material after precolumn derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate. *Analytica Chimica Acta*. 2004, 511(1): 145-153 DOI: 10.1016/j.aca.2004.01.027.
- [54] Khrolenko, Maxim V. a Piotr P. Wieczorek. Determination of Glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid and fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A* 2005, 1093: 111-117.
- [55] KAWAI, Satohsi, Bunji UNO a Masafumi TOMITA. Determination of glyphosate and its major metabolite aminomethylphosphonic acid by highperformance liquid chromatography after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography*, 1991, 540: 411-415 DOI: 10.1016/S00219673(01)88832-4. ISSN 00219673.
- [56] ROSEBOOM, H. a C.J. BERKHOFF. Determination of the herbicide glyphosate and its major metabolite aminomethylphosphonic acid by highperformance liquid chromatography after fluorescence labelling. *Analytica Chimica Acta* 1982, 135(2): 373-377 DOI: 10.1016/S0003-2670(01)93923-6.
- [57] Qian, Kun, Tao Tang, Tianyu Shi, Fang Wang, Jianqiang Li a Yongsong Cao. Residue determination of Glyphosate in environmental water samples with high performance liquid chromatography and UV detection adter derivatization with 4—chloro-3,5-dinitrobenzotrifluoride. *Analytica Chimica Acta* 2009, 635: 222226.
- [58] J. Václavíková. Jak se řeší LC vývoj a inovace v komerčních laboratořích: Analýza glyfosátu a pesticidů. Přednáška. Zaječí: Česká chromatografická škola HPLC 2019. 13.05.2019

7 Seznam použitých zkratk

AOP	pokročilé oxidační procesy
LC	kapalinová chromatografie
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometr
ČR	Česká republika
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
USA	Spojené Státy Americké
AMPA	kyselina aminomethylfosfonová
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
WHO	Světová zdravotnická organizace
GMO	geneticky modifikované organismy
NTP	nízkoteplotní plazma
DC	stejnoseměrné napětí
AC	střídavé napětí
LD	detekční limit
ŽP	životní prostředí
FITC	laserem indukovaná fluorescence
UV	ultrafialové záření
FMOC – Cl	9-fluorenyl-methyloxycarbonyl chlorid