

**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO  
PROSTŘEDÍ**

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

**VLIV POKROČILÝCH OXIDAČNÍCH PROCESŮ NA  
EKOTOXICITU PESTICIDNÍCH LÁTEK**

INFLUENCE OF ADVANCED OXIDATIVE PROCESSES ON ECOTOXICITY OF PESTICIDES

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTORPRÁCE**

AUTHOR

Bernadette Goma

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

doc. MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1458/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Studentka: **Bernadette Goma**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Vedoucí práce: **doc. MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Vliv pokročilých oxidačních procesů na ekotoxicitu pesticidních látek

### Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši vztahující se k problematice vlivu pokročilých oxidačních procesů (AOP) na toxicitu polutantů se zaměřením na pesticidní prostředky.
2. Vybrat zástupce pesticidních přípravků a AOP a prostřednictvím modelové vody posoudit vliv ošetření na její ekotoxicitu.
3. Zhodnocení dosažených výsledků.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

-----  
Bernadette Goma  
student(ka)

doc. MVDr. Helena Zlámalová  
Gargošová, Ph.D.  
vedoucí práce

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tématem této bakalářské práce je studium vlivu pokročilých oxidačních procesů na ekotoxicitu pesticidních přípravků Metazachlor a Chloridazon. Oba herbicidy jsou běžně využívány na ochranu zemědělských plodin, jako jsou řepka olejka, tuřín, mangold či řepa krmná proti celé škále nežádoucích jednoděložných a dvouděložných plevelných rostlin. Aplikace bývá nejčastěji na velkých plochách, a tudíž představují vysoké riziko pro jednotlivé složky životního prostředí. V práci byl sledován případný vliv na zástupce producentů a konzumentů akvatického ekosystému.

Roztoky pesticidních přípravků, které byly podrobeny vybraným způsobům ošetření pomocí pokročilých oxidačních procesů, byly otestovány na vodních organismech, a to konkrétně na korýši *Daphnia magna* a vodní rostlině *Lemna minor*. Z výsledků jednotlivých testů byly vypočteny ekotoxikologické hodnoty EC50 a IC50 a byla porovnána jejich ekotoxická a takto i efektivita oxidačních procesů při odstraňování polutantů z odpadních vod.

## **ABSTRACT**

The topic of this bachelor thesis is a study of the influence of advanced oxidation processes on the ecotoxicity of pesticides Metazachlor and Chloridazon. Both herbicides are commonly used to protect crops such as oilseed rape, turnips, chard or fodder beet against whole range of undesirable monocotyledonous and dicotyledonous plants. Application is most often on large areas and therefore pose a high risk to the quality of the environment. The possible influence on the representatives of producers and consumers of the aquatic ecosystem was monitored in the work.

Solutions of pesticides, which were subjected to selected methods of treatment using advanced oxidation processes, were tested on aquatic organisms, specifically on crustaceans *Daphnia magna* and aquatic plant *Lemna minor*. From the results of individual tests, the ecotoxicological values of EC50 and IC50 were calculated and their ecotoxicity and thus the efficiency of oxidation processes in the removal of pollutants from wastewater were compared.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Ekotoxická, pesticidy, herbicidy, ekotoxikologické testy, pokročilé oxidační procesy

## **KEYWORDS**

Ecotoxicity, pesticides, herbicides, ecotoxicology tests, advanced oxidation processes

GOMA, Bernadette. *Vliv pokročilých oxidačních procesů na ekotoxicitu pesticidních látek*. Brno, 2020. 50s. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124208>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Helena Zlámalová Gargošová.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně odcitovala. 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 Fakulty chemické VUT v Brně.

-----  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Tímto děkuji své vedoucí, MVDr. Heleně Zlámalové Gargošové, Ph.D., za poskytnuté rady, připomínky a čas. Dále děkuji rodičům, svým nejbližším a přátelům za podporu při studiu a psaní bakalářské práce.

## OBSAH:

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Pesticidy.....	8
2.1.1	Rozdělení pesticidů.....	9
2.1.2	Chemická struktura a vlastnosti pesticidů .....	10
2.1.3	Herbicidy .....	11
2.1.4	Legislativa týkající se pesticidů v ČR .....	14
2.2	Pokročilé oxidační metody .....	14
2.2.1	Rozdělení AOP .....	15
2.2.2	Využití AOP za účelem čištění odpadních vod .....	18
2.3	Ekotoxikologie .....	18
2.3.1	Ekotoxikologické biotesty .....	18
2.3.2	Akvatická ekotoxikologie.....	19
3	Experimentální část .....	22
3.1	Laboratorní příprava modelové vody.....	22
3.2	Vybrané ekotoxikologické testy a samotná příprava testů.....	23
3.2.1	Test toxicity na <i>Daphnia magna</i> .....	23
3.2.2	Test toxicity na <i>Lemna minor</i> .....	25
4	Přehled výsledků a diskuze .....	27
4.1	Testy na <i>Daphnia magna</i> .....	27
4.1.1	Chloridazon a Metazochlor před ošetřením AOP jednotkou.....	27
4.1.2	Chloridazon a Metazochlor před ošetřením AOP jednotkou (pro zředěné koncentrace) .....	27
4.1.3	Chloridazon a Metazochlor po ošetření H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	28
4.1.4	Chloridazon a Metazochlor po ošetření UV lampy s přídavkem 1 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ...	29
4.1.5	Chloridazon a Metazochlor po využití UV záření s přídavkem 2 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ...	30
4.1.6	Metazochlor před ošetřením UV .....	31
4.1.7	Metazochlor po 50 minutách při ošetření UV zářením .....	31
4.1.8	Chloridazon před ošetřením pomocí UV záření .....	32
4.1.9	Chloridazon po ošetření pomocí UV v době 50 minut.....	33
4.1.10	Metazochlor před použitím peroxidu .....	34
4.1.11	Metazochlor po ošetření H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> po uplynutí 50 minut .....	35

4.1.12	Chloridazon před použitím H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	36
4.1.13	Chloridazon v čase 50 minut po použití peroxidu vodíku.....	37
4.1.14	Srovnávací vzorek pro ošetření UV zářením.....	38
4.1.15	Srovnávací vzorek po ošetření peroxidem.....	38
4.1.16	Diskuze výsledků testování pro <i>Daphnia magna</i> .....	39
4.2	Testy na <i>Lemna minor</i> .....	39
4.2.1	Chloridazon a Metazachlor před a po ošetření AOP jednotkou .....	40
4.2.2	Chloridazon a Metazachlor po ošetření UV s přídatkem 1 a 2 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	40
4.2.3	Metazachlor, Chloridazon před ošetřením AOP jednotkou.....	41
4.2.4	Srovnávací vzorek pro UV a pro peroxid vodíku.....	42
4.2.5	Shrnutí výsledků testu <i>Lemna minor</i> .....	42
4.2.6	Diskuze výsledků testování pro <i>Lemna minor</i> .....	43
5	Závěr.....	45
6	Zdroje .....	46
7	Seznam použitých zkratk a symbolů .....	51

# 1 ÚVOD

Vlivem lidské činnosti stále častěji dochází ke kontaminaci životního prostředí. Jedním z kontaminantů jsou i pesticidy. Herbicidní látky, pesticidy používané k likvidaci nežádoucích rostlin, se do kontaktu se složkami životního prostředí dostávají po aplikaci například na zemědělské půdy, odsud se mohou pronikat do podzemních nebo povrchových vod a takto kontaminovat zdroje pitné vody. Tomu je potřeba předcházet, a proto veškeré zacházení s pesticidními látkami je legislativně ošetřeno a všechny složky životního prostředí podléhají neustálému monitoringu. Přijetí všech legislativních opatření za posledních 20 let vedlo k výraznému snížení koncentrací aplikovaných pesticidů, tedy i jejich reziduí vyskytujících se v půdách, vodních zdrojích, ale i ovzduší.

Pokročilé oxidační procesy se v technologiích úpravy pitných vod, popř. čištění odpadních vod aplikují kvůli oxidačně-reduktivnímu potenciálu a vysoké reaktivitě s organickými sloučeninami. Nejčastěji se využívají jako tzv. čtvrtý stupeň čištění v čistírnách odpadních vod. Ačkoli jsou tyto procesy zaměřeny na odstraňování polutantů není zcela jasné, do jaké míry jsou účinné a zda nevznikají látky, které mohou mít rovněž nepříznivý environmentální dopad. Z tohoto pohledu se testy ekotoxicity jeví jako vhodný nástroj pro posouzení případné ekotoxicity takto ošetřených vod.

Efekty látek na jednotlivé složky životního prostředí se dají předpovědět pomocí ekotoxikologických testů. Z toho důvodu byly ekotoxikologické testy zařazeny mezi základní laboratorní zkoušky kupříkladu právě pro vodárenské společnosti. Výsledky testů umožňují určit riziko spojené s použitím látek a následně zavést příslušná opatření ke snížení jejich negativních účinků na biosféru a rizika kontaminace.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Pesticidy

FAO (Food and Agriculture Organization, v českém znění Organizace pro výživu a zemědělství Organizace spojených národů) definuje pesticidy jako „sloučeniny nebo směsi sloučenin určené pro prevenci, ničení a potlačení, odpuzení či kontrolu škodlivých činitelů, čímž rozumíme nežádoucí mikroorganismy, rostliny a živočichy během produkce, skladování, transportu, distribuce a zpracování potravin, zemědělských komodit a krmiv“ [1].

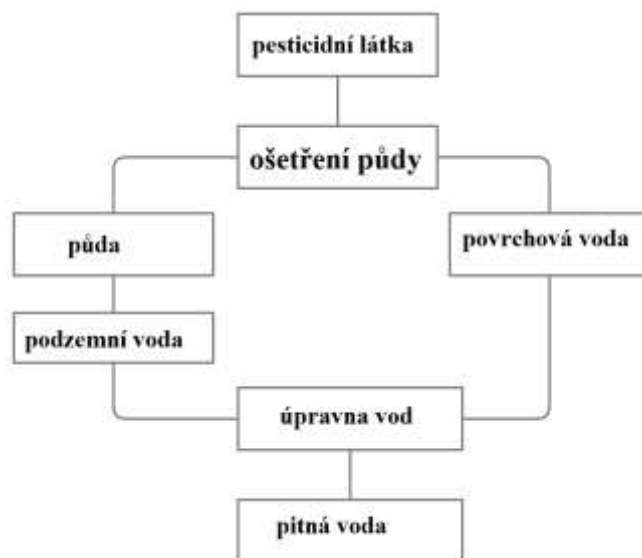
Pesticidy jsou běžně využívány v zemědělství jako ochrana užitkových rostlin proti škůdcům, v lesnictví, k ochraně dřevin proti biogenním škůdcům, mezi něž řadíme houby, plevele a některé druhy živočichů. Využití mají velmi pestré, proto jsou používány i ve vodohospodářství, kde našly své uplatnění jako prostředky k likvidaci nežádoucích vodních rostlin, případně k regulaci zooplanktonu [2].

Jedná se o velmi početnou skupinu organických látek. Dělíme je podle chemické struktury účinné látky, také podle jejich specifického biogenního účinku, nicméně některé látky mohou vykazovat více účinků současně. Mezi nejčastěji zmiňované pesticidy patří organické chlorované (organochlorové), organofosfátové (organofosforové) a karbamátové pesticidy [2, 3].

Zemědělská činnost patří k nejčastějším příčinám kontaminace povrchové a následně i pitné vody pesticidními látkami, což vedlo k přijetí legislativního opatření týkajícího se jejich používání [2, 3].

Pesticidy v povrchové vodě se mohou vyskytovat, jak rozpuštěné, tak i nerozpuštěné, taktéž se mohou sorbovat na látkách minerální nebo organické povahy, které ve vodě můžeme nalézt v krystalické formě (nerozpuštěné). To je jeden z důvodů, proč stanovení pesticidů v kapalně fázi není dostačující, a je tedy nutná i analýza okolních sedimentů a kalů [3, 4].

Kvůli nežádoucím účinkům na životní prostředí vyžadují pesticidy stálý monitoring. Například do podzemních vod se pesticidy dostávají pouze z části, a to díky tomu, že většina se jich sorbuje již v půdě [2].



Obrázek 1: Osud pesticidu –upraveno dle [5]

### 2.1.1 Rozdělení pesticidů

Pesticidy dělíme na anorganické a organické. Jako nejčastěji vyskytovanou aktivní složku pesticidů na anorganické bázi lze uvést arsen, rtuť, fluor či elementární síru. Avšak častěji jsou používané pesticidy organické, které mají na stejném principu i aktivní složku [2].

WHO (Světová zdravotnická organizace) pesticidy kategorizovala do čtyř základních tříd dle nebezpečnosti. Toto rozdělení vzniklo na základě laboratorního testování toxicity na potkanech při perorálním a dermatologickém testování. Již zmíněné čtyři kategorie jsou:

- 1a – extrémně nebezpečné,
- 1b – velmi nebezpečné,
- 2 – nebezpečné,
- 3 – málo nebezpečné.

Pesticidy se dále mohou dělit podle vlivu na organismy. Tyto látky mají specifické účinky, které působí jen na konkrétní druhy organismů. Jednotlivé pesticidy rozdělené dle cílové skupiny organismů jsou uvedeny v tabulce č. 1. Mezi nejvýznamnější patří herbicidy, fungicidy a insekticidy [2, 6].

Dále je možné dělit pesticidy dle funkční skupiny odpovědné za pesticidní účinek (viz tabulka č. 2)

**Tabulka č. 1: Dělení pesticidů dle cílové skupiny [6]**

Název skupiny	Zaměřeno na:
Insekticidy	Hmyz
Herbicidy	Plevely
Fungicidy	Plísně, cizopasně houby
Akaricidy	Roztoči
Moluskocidy	Měkkýši
Rodenticidy	Hlodavci
Talpicydy	Krtci a rejsci
Viricidy	Viry
Nematocidy	Kroužkovití červi
Regulátory růstu rostlin	Kulturní plodiny

**Tabulka č. 2: Dělení pesticidů dle funkční skupiny [8]**

Název skupiny	Funkční skupina
Organochlorové pesticidy	Chlor
Organofosfáty	Fosfor
Hexachlorcyklohexany	Chlor
Karbamáty	Kyselina karbamová
Pyrethoidy	Pyrethriny
Pesticidy na bázi močoviny	Močovina
Diazonové a Triazonové pesticidy	Diazonové a triazonové soli
Pesticidy na bázi kovů a síry	Těžké kovy a síra
Deriváty kyseliny chlorfenoxyoctové	Kyselina chlorfenoxyoctová

### 2.1.2 Chemická struktura a vlastnosti pesticidů

Díky rozmanité chemické struktuře pesticidů dochází k tomu, že mají velmi rozdílné fyzikálně chemické vlastnosti, například můžeme uvést rozpustnost [2].

Fyzikálně-chemické vlastnosti zřetelně ovlivňují distribuci, působení a následně i degradaci pesticidů v životním prostředí. Nejsou ale jedinými parametry určujícími osud těchto látek v prostředí [2].

#### 2.1.2.1 Rozpustnost

Rozpustnost udává rozšíření a stabilitu v jednotlivých složkách životního prostředí. Rozpustnost ve většině případů klesá s rostoucí molekulovou hmotností. Přípravky, které se rozpustí ve vodě, mají mnohem snadnější mobilitu v půdním prostředí. To stejné platí i pro pesticidní látky, a proto rozpuštěné pesticidy mohou pronikat půdními horizonty až do zdrojů pitné vody [9, 10].

#### 2.1.2.2 Adsorpce

Adsorpce jinak i přilnavost je schopnost pesticidů vázat se na půdní částice, což ovlivňuje rychlost jejich pohybu v zemině. K chemisorpci dochází díky chemické reakci mezi půdními částicemi a složkami postřiku. Rozsah přilnavosti se u přípravku liší, a to z mnoha důvodů, jedním z nich může být například obsah organických částic v půdě. Rovněž u půd s větším obsahem jílových částic (těžké půdy) je míra adsorpce vyšší [9].

Adsorpční koeficient (KOC), který udává míru afinity pesticidní látky vůči organickému materiálu, využíváme na vyjádření mobility látky v půdním horizontu. KOC patří mezi původní veličiny, ale v praxi se využívají i jiné. Je vyjádřen jako podíl hmotnosti látky adsorbované

v půdě a rovnovážné koncentrace látky v roztoku, vztahený na hmotnost organického uhlíku v půdě. Jako nejčastější jednotky uvádíme v  $\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$  nebo  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ . Hodnota tohoto koeficientu

poukazuje na mobilitu sledované látky v půdě, čím je koeficient vyšší, tím je látka méně mobilní a bude tedy i více vázaná na půdní částice. Tyto látky následně nemají tendenci se odpařovat, nevymývají se vodou a jsou hůře biodegradovatelné. Na druhou stranu, jestliže hodnoty adsorpčního koeficientu budou nízké, nebude mít pesticid velkou tendenci vázat se na organické půdní složky a může se dostávat až do zdrojů podzemních vod [11],12].

#### 2.1.2.3 Disociace

Stupeň disociace ionizovatelných skupin pesticidů se vyjadřuje tzv. disociační konstantou. Stupeň disociace určuje chování látek v běžných podmínkách ve vodném prostředí, jedná se o pH v rozmezí 5-8. Tímto je například myšlena míra rozpustnosti látek, rozsah fotolýzy nebo také o schopnosti pesticidů se adsorbovat [10].

#### 2.1.2.4 Biodegradabilita

Za biodegradabilitu se považuje proces rozkladu látky působením živých organismů, kterými mohou být například mikroorganismy (kvasinky, bakterie, plísně atd.) či hmyz. K biodegradaci může docházet jednak za nepřítomnosti kyslíku (tzv. za anaerobních podmínek) nebo naopak za přístupu kyslíku (za aerobních podmínek). K anaerobní biodegradaci může docházet například na skládkách, zatímco k aerobní pak dochází převážně v přírodě. V jistých případech může docházet kontinuálně k biodegradaci za anaerobních, tak i aerobních podmínek. Je tomu tak v případě správného kompostování či degradace látek v půdě [13].

#### 2.1.2.5 Perzistence

Schopnost chemické látky přetrvávat v prostředí ve své původní aktivní formě nazýváme perzistence. Tato vlastnost je závislá na reaktivitě, respektive i stabilitě v daném prostředí, a možnostech degradace pesticidní látky. K nejvýznamnějším procesům degradace patří hydrolyza, fotolýza a mikrobiální pochody [14].

#### 2.1.2.6 Toxicita pesticidů

Toxicitu pesticidů stanovujeme pro každý sledovaný pesticid samostatně. Tzv. akutní toxicita udává, jak by byl přípravek toxický v případě, že by byl jednorázově podán orálně, popř. působil dermálně či byl inhalován. Dále se stanovuje chronická toxicita, která udává, jaké by bylo poškození při opakovaném vystavení vlivů pesticidů po určité době.

Do chronické toxicity se zahrnují kritéria, kam patří například mutagenita, karcinogenita, reprodukční toxicita nebo neurotoxicita [15].

### 2.1.3 Herbicidy

Velmi často používanou skupinou přípravků na ochranu zemědělských plodin jsou herbicidy, jinak také nazývané přípravky využívané k likvidaci nežádoucích rostlin. Herbicidy ovšem slouží nejen na ošetření zemědělské půdy, ale také na udržování parků, zahrad či železničních tratí [16].

V historii našly herbicidy uplatnění i za války. Používaly se k odhalení úkrytu nepřátel, kdy jejich prostřednictvím byla zničena vyskytující se vegetace. Například ve Vietnamu to mělo za následek kontaminaci prostředí do té míry, že se i dnes místní obyvatelstvo dostává do kontaktu až s třicetkrát vyšší koncentrací herbicidních látek tady měla být uvedena směs

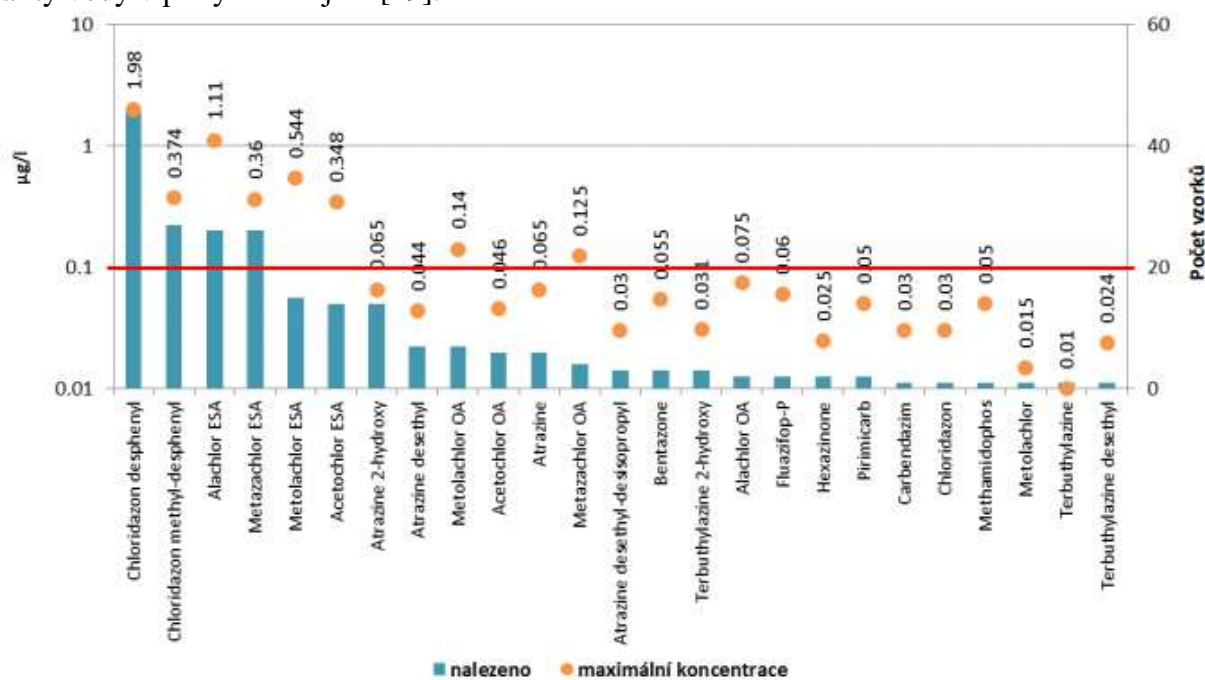
konkrétních herbicidů vyskytujících se v prostředí Agent orange, než běžný obyvatel Spojených Států [17].

Při výrobě herbicidů dochází ke vzniku vedlejších produktů, kupříkladu ke vzniku dioxinů, jejichž účinky mohou být pro člověka smrtelné. U většiny případů jde o látky perzistentní, se schopností akumulovat se především v živých organismech. Veškeré tyto poznatky vedou k tomu, že je nutné pesticidní látky v praxi bedlivě sledovat, zda nevyvolávají nežádoucí účinky, a jsou posuzovány z hlediska environmentálních i humánních rizik. Jsou to hlavně rezidua a metabolity dnes už zakázaných herbicidních látek, co vykazují nebezpečné účinky na savce a též všeobecně na živočišné organismy [6, 18].

Působí imunologické, dermatologické problémy, popř. mohou mít negativní vliv na nervový systém jedince. Právě u dioxinů byly všechny tyto vlivy zároveň s účinky na hormonální soustavu prokázány [18]. Mezi problémy spojené s aplikací herbicidních látek se dá zahrnout i fytotoxicita při neuvážené či nadměrné aplikaci [18].

Spotřeba herbicidních látek se každoročně v České republice zvyšuje. Data o spotřebě látek obsažených v přípravcích na ochranu zemědělských plodin jsou zpracovávána Ministerstvem zemědělství, Ministerstvem životního prostředí, správci vodních zdrojů a ČHMÚ. Tento monitoring je nutný z hlediska kontroly, zda některý z přípravků nekontaminuje životní prostředí [6].

V níže uvedeném grafu (viz Obrázek 2) jsou výsledky celorepublikového testování podzemních vod z vodárenských zdrojů. Testování provedl Český hydrometeorologický ústav na podzim roku 2016. Z grafu je možné vyčíst hodnoty koncentrací námi vybraných testovaných herbicidů a jejich modifikací, kdy u tří případů ze čtyř překročily limit  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Takovéto vysoké hodnoty jsou alarmující, neboť poukazují na možnost negativního ovlivnění kvality vody v pitných zdrojích [19].



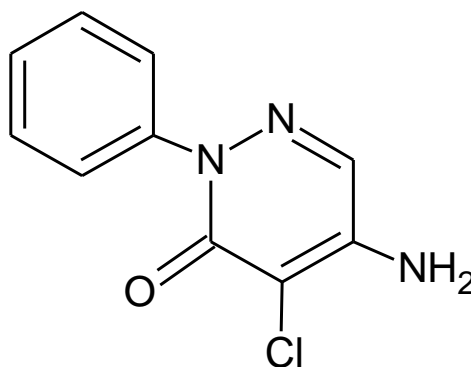
Obrázek 2: Koncentrace vybraných pesticidních látek v podzemních vodách – podzim 2016 [19]

### 2.1.3.1 Chloridazon – látky vybrané pro experimentální část

Chloridazon je účinná látka využívaná v herbicidech zaměřených na ochranu zemědělských plodin, jako je řepa krmná či salátová, mangold a cukrovka, proti plevelným rostlinám, například lipnice roční, heřmánky či plevelle dvouděložné jednoleté. Tato herbicidní látka se vyskytuje v přípravcích BETOXON 650 WDG, CHLORIDAN či PYRAMIN TURBO apod. [20].

V životním prostředí se perzistence chloridazonu pohybuje okolo 9-180 dní, ovšem perzistence jeho metabolitů (chloridazon-fenyl a chloridazon-fenyl-methyl) se pohybuje v řádu 100-150 dnů. Akutní toxicita jak mateřských látek, tak i jejich metabolitů je nízká, také u nich nebyly prokázány mutagenní a genotoxické vlastnosti nebo onkogenní a ani neurotoxický potenciál.

I přes to, že posouzení rizik chloridazonu na zdraví člověka, zvířat a životní prostředí vyšla negativně, tak četné nálezy jeho degradačního produktu (chloridazon-desfenyl) po celé České republice poukazují na nutnost monitorování jeho akumulace v životním prostředí. Díky tomu bylo zjištěno, že se jeho metabolit chloridazon-desfenyl vyskytuje i v podzemních vodách. To vedlo k zavedení patřičných opatření, proto se nyní nesmí jakékoliv prostředky obsahující účinnou látku chloridazon aplikovat na témže pozemku více než jednou za tři roky [22].



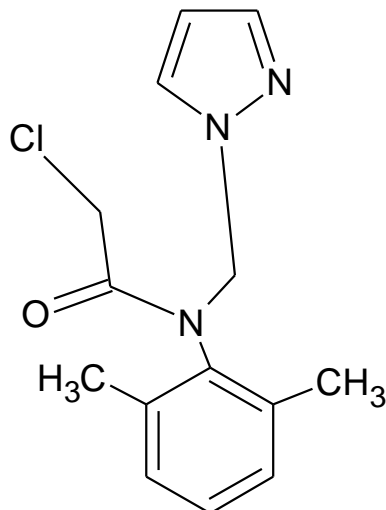
Obrázek 3: Struktura chloridazonu [autor]

### 2.1.3.1 Metazachlor– látky vybrané pro experimentální část

Příkladem herbicidních pesticidů obsahujících jako účinnou látku metazachlor je možné uvést značky AUTOR, BUTISAN FN, BUTISAN S či METAROCK. Nejčastěji bývá využíván pro ochranu zemědělských plodin, kam jsou řazeny řepka olejka ozimá, hořčice bílá, tuřím či zelenina brukvovitá, proti jednoděložným nebo dvouděložným plevelným rostlinám [20].

Metazachlor se řadí do skupiny chloracetamidů. Pesticidy obsahující účinnou látku metazachlor se do rostlin dostávají prostřednictvím kořenů, hypokotylem a kotyledony klíčících a nově vznikajících plevelů, a jejich aplikace probíhá buď preemergentně nebo postemergentně. Ve studii, kterou vypracovala australská veterinární správa, se vědci podrobněji zabývali působením na živé organismy, jako byly například myši. Nebyly zjištěny žádné mutagenní, genotoxické, popř. karcinogenní účinky. Při testování jeho degradability v půdě bylo zjištěno, že je snadno rozložitelný jak v přírodních, tak i laboratorních podmínkách. U provedených ekotoxikologických testů v akvatickém uspořádání bylo zjištěno, že herbicidy obsahující metazachlor vykazují mírně toxické účinky i na živočišné organismy, jako jsou ryby nebo vodní bezobratlí. Další testy byly provedeny rovněž na rostlinných

organismech, a to na zástupcích jednoděložných rostlin *Lemna gibba* a *Sparganium erectum*. Na závěr bylo konstatováno, že pro tyto organismy je naopak velmi toxický. Na základě provedených testů byla stanovena hodnota HC5 (koncentrace ohrožující 5 % organismů vystavených účinkům) na  $2,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Jedním z posledních zjištění bylo to, že metabolity metazachloru vykazovaly nižší toxické účinky než samotný metazachlor [22].



Obrázek 4: Struktura metazachloru [autor]

#### 2.1.4 Legislativa týkající se pesticidů v ČR

Za účelem ochrany jednotlivých složek životního prostředí musí být využívání pesticidů v ČR v souladu se směrnicí Rady a Evropského parlamentu 2009/128/ES, která „stanovuje pravidla pro udržitelné používání pesticidů, snížením jejich rizik pro lidské zdraví“. Také požaduje po členských státech EU, aby prováděly u institucí pro aplikaci pesticidů časté kontroly a revize. Zároveň se zmíněnou směrnicí byly Evropskou unií přijaty další předpisy, a to nařízení Rady a EP (ES) č. 1107/2009 a nařízením EP a Rady (ES) č. 1185/2009, které regulují schvalování a uvádění pesticidů na trh [4, 23].

K bezpečnému používání pesticidů byl přijat Český národní akční plán (NAP), jež je v souladu se směrnicí EP a Rady 2009/128/ES, je v platnosti od roku 2012 a v roce 2018 prošel aktualizací. Cílem je snížit nepříznivý vliv pesticidů na životní prostředí a zdraví člověka [24, 25].

Zákonem č. 369/2019 Sb. o rostlinolékařské péči ve znění zákona č. 626/2004, č. 444/2005, č. 131/2006, č. 249/2008, č. 490/2009, č. 102/2010, č. 245/2011, č. 503/2012, č. 279/2013, č. 243/2016, č. 299/2017 je jedním z dalších kroků přijatých českou vládou o snahu regulování pesticidů. Veškeré pesticidy, které se smí využívat jako prostředky pro ochranu rostlin, musí být uvedeny v Seznamu registrovaných prostředků na ochranu rostlin [26, 27].

## 2.2 Pokročilé oxidační metody

Poprvé se o oxidačních procesech začalo hovořit již na konci 19. století, kdy H. J. Fenton popsals oxidační rovnici, nyní známou jako tzv. Fentonova oxidace, která byla v 50. letech 20. století úspěšně využita k oxidaci fenolů v průmyslových odpadních vodách. Obecně se jedná o reakce, jež jsou schopny oxidovat značné spektrum toxických a často perzistentních polutantů vyskytujících se ve vodách, kam jsou řazeny i aromatické

uhlovodíky, již zmíněné pesticidy nebo těkavé organické sloučeniny. Proto našly své uplatnění v oblasti čištění odpadních vod a v posledních letech se začíná uvažovat i o jejich využití při úpravě pitné vody [28, 29, 30].

Pokročilé oxidační procesy (AOP, jinak také Advanced Oxidation Processes) jsou radikálové chemické reakce, které jsou definovány jako procesy k úpravě vody se vstupní energií.

Za vstupní energii můžeme považovat energii chemickou, elektrickou anebo radiační. Po dodání této energie do vodní fáze dochází ke vzniku velmi reaktivních hydroxylových radikálů, které působí jako silná oxidační činidla, jež následně reagují s přítomnými organickými sloučeninami schopnými oxidace za vzniku vody, oxidu uhličitého a anorganických látek [30,31].

Všeobecně by se dalo říct, že hlavní výhodou AOP je jejich energetická nenáročnost a šetrnost k životnímu prostředí, a to převážně díky tomu, že dokážou probíhat za normální teploty a tlaku, a také díky jejich variabilitě, kde nacházíme širokou škálu možností vytvoření  $\text{OH}^\cdot$  radikálů. Výše uvedené přispívá k tomu, že se považuje za vhodné kombinovat AOP s biologickými metodami čištění odpadních vod. Jako nevýhodu můžeme uvést vysokou pořizovací cenu oxidačních činidel, proto je zde snaha o zvýšení efektivity pomocí kombinace více typů AOP. Kombinací se dá totiž zvýšit rychlost oxidace látek v čistírenském procesu. Pokročilé oxidační procesy mohou být upořádány sekvenčně, a to v těch případech, kdy polutanty v odpadních vodách vykazují více úrovní reaktivity vůči AOP nebo mohou být zařazeny před samotný biologický stupeň čištění. V takovém případě zvýší biodegradabilitu a sníží toxicitu odpadní vody [28, 29, 30, 31, 32].

### 2.2.1 Rozdělení AOP

Vlastnosti upravované vody jsou specifické. V závislosti na těchto vlastnostech musíme volit i vhodné oxidační procesy. Účinnost oxidačních procesů je dána mnoha faktory, jako jsou mechanismus, kinetika, kvalita vody apod. U většiny pokročilých oxidačních procesů je nutné dodat do systému energii, například v podobě UV záření. Proto byly zavedeny dva parametry, pomocí nichž je možné porovnat danou aplikaci na základě spotřeby elektrické energie [29]:

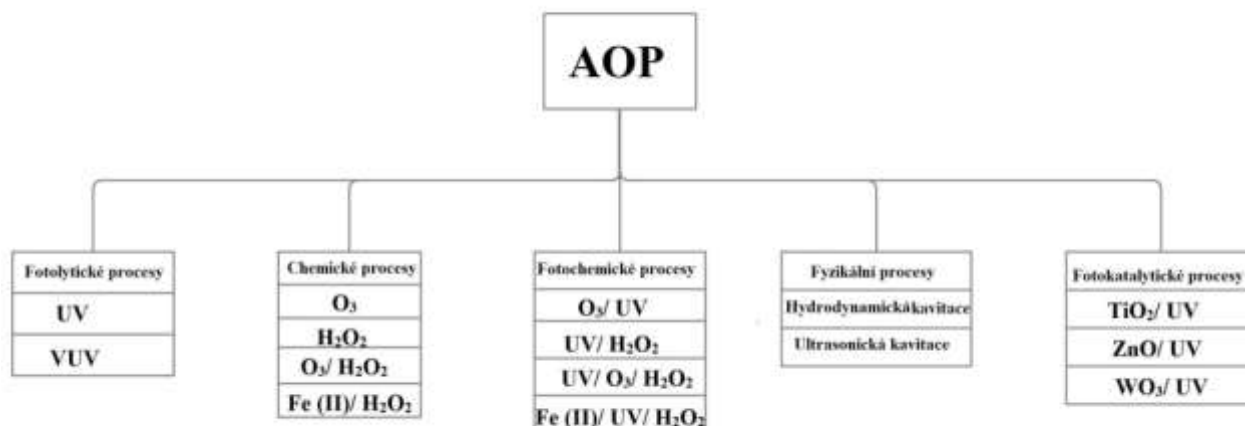
1. EED (Electrical Energy Dose) – vyjadřuje specifickou potřebu elektrické energie na  $1 \text{ m}^3$  upravené vody
2. EEO (Electrical Energy Order) – definuje spotřebu elektrické energie na  $1 \text{ m}^3$  při odstranění 90 % sledovaného znečištění na  $1 \text{ m}^3$

V souladu s postupem použitým pro vytvoření hydroxylových radikálů lze oxidační procesy

rozdělit na:

- a) Fotolytické procesy
- b) Chemické procesy
- c) Fotochemické procesy
- d) Fyzikální procesy
- e) Fotokatalytické procesy [29, 32].

(viz Obrázek 5) [33]



Obrázek 5: Rozdělení AOP

### 2.2.1.1 Fotolytická oxidace pomocí VUV

Jedním z oxidačních procesů řadících se do fotolytických procesů je vakuové UV záření, které je velmi účinné při degradaci mikropolutantů. Základem je oxidační proces vyvolaný vysoce reaktivními hydroxylovými radikály ( $\text{OH}^\bullet$ ) a dalšími částicemi ( $\text{H}^\bullet$ ,  $\text{e}_{\text{aq}}^-$ ,  $\text{HO}_2^\bullet$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), jež jsou generovány VUV fotony [34].

VUV záření se vyznačuje vlnovou délkou menší než 200 nm. Vysokoenergetické VUV fotony mohou být generovány několika zdroji, nejčastěji jsou využívány excimerové lampy nebo nízkotlaké Hg výbojky generující ozon [34].

### 2.2.1.2 Fotolýza pomocí UV záření

Principem fotolýzy UV zářením je přímá fotooxidace organických látek v systému UV/ $\text{O}_2$ . Po absorpci záření dochází k převedení organické látky do excitovaného stavu ( $\text{C}^*$ ), a pak k následnému přechodu z excitovaného stavu do základního pomocí přenosu elektronu ze substrátu na molekulární kyslík, po němž dochází k rekombinaci radikálových iontů, hydrolýze nebo homolýze vazby mezi uhlíkem a halogenem, kde pak nastává další reakce s kyslíkem.



Fotolýza pomocí UV záření se nejčastěji využívá při primární dezinfekci odpadní vody. Ve vodním prostředí je využití této metody poměrně omezené. Voda UV záření velmi účinně absorbuje, tím je dodání energie organickým látkám omezené. K rozložení organických látek musí být dodáno určité kvantum energie. Absorpcí záření vodou účinnost fotolýzy značně snižuje [28,30].

### 2.2.1.3 Fotolýza za využití UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

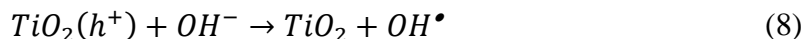
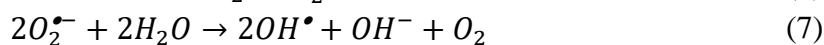
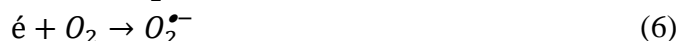
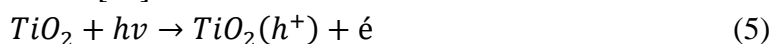
Fotolýza UV zářením za přítomnosti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Jedná o je jeden z nejprozkoumanějších procesů, který se aplikuje na úpravu pitné vody již od začátku 90. let, a to z toho důvodu, že představuje velmi účinný proces za předpokladu dodržení konkrétních podmínek – organické látky musí být rozpustné ve vodě, koncentrace peroxidu musí dosáhnout více než 0,1 % a vlnová délka UV záření je menší než 280 nm [28, 34].

Principem této metody je dávkování H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do vodného prostředí a následné ozařování UV zářením o vlnových délkách 200 až 280 nm. Ultrafialové záření během procesu štěpí O-O vazbu v peroxidu, což následně vede k vytvoření dvou hydroxylových radikálů. Reakcí hydroxylového radikálu s další molekulou peroxidu vodíku dochází ke vzniku superoxidového radikálu HO<sub>2</sub><sup>•</sup> [28, 34].

Metoda se často využívá při odstraňování barviv z odpadních vod textilního průmyslu. Ovšem rychlost odstranění barviv závisí mnohdy na celkovém pH, spektru použitého UV záření a množství použitého peroxidu [28,35].

### 2.2.1.4 Fotokatalytický proces TiO<sub>2</sub>/UV

Fotokatalytická oxidace TiO<sub>2</sub>/UV využívá oxidu titaničitého, jež slouží jako katalyzátor, a díky tomu zvyšuje oxidační vlastnosti kyslíku. Katalyzátor je producentem elektronů, které následně redukují ionty kovů a kyslík rozpuštěný ve vodě. Kyslík se tímto způsobem přeměňuje na superoxidový radikál [28]:



Tento proces prokázal dostatečný potenciál na odstraňování většího množství organických polutantů. Organické látky mohou být buď zcela degradovány anebo mineralizovány na oxid uhličitý, vodu a anorganické ionty. Proces jako takový se hojně využívá v oblasti čištění odpadních vod, a to z toho důvodu, že jednou z jeho hlavních výhod je možnost využití slunečního záření, dále i nízké pořizovací náklady jsou velkou výhodou [28, 36].

### 2.2.1.5 Oxidace pomocí ozonu

Ozon, jakožto velmi silné oxidační činidlo, má tendenci reagovat skoro se všemi oxidovatelnými látkami (sloučeninami), které se vyskytují ve vodě. Organickou látku vyskytující se ve vodě, je ozon schopen buď zoxidovat přímo, nebo pomocí hydroxylových radikálů (ty vznikají při rozkladu ozonu v neutrálním nebo bazickém prostředí). Jestliže bychom se snažili o přímou oxidaci ozonem, tak se organická látka musí nacházet v kyselém prostředí. V porovnání s využitím hydroxylových radikálů, se jedná o pomalejší reakci [28, 37].

Ve vodárenství je ozon považován za nejúčinnější prostředek k oxidaci, někdy bývá doplněn UV zářením, případně i přidávkem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> za účelem zrychlení a zefektivnění oxidační reakce. Jednou z dalších možností, jak urychlit oxidaci může být využití jak heterogenní, tak i homogenní katalýzy [28, 37].

## 2.2.2 Využití AOP za účelem čištění odpadních vod

Pokročilé oxidační procesy se využívají k čištění odpadních vod s obsahem látek, které jsou vysoce chemicky stabilní nebo mají nízkou biodegradabilitu. Ve většině případů jsou vzniklé vedlejší produkty méně toxické a lépe biologicky rozložitelné, než byla výchozí látka [38, 39].

V poslední době jsou AOP často asociovány s jejich využitím při odstraňování léčiv či léčivých přípravků z vody, a to z toho důvodu, že by měly být schopny tyto látky účinně odstranit. Většina studií na toto téma byla doposud provedena pouze na modelových vodách, odpadním vodám z farmaceutického průmyslu se bohužel zatím nedostává takové pozornosti [40].

Vědci se ovšem nezabývají jenom studiem odstranění léčiv z odpadních vod, ale také tím, jak bezpečně odstranit pesticidy z kontaminovaných vod. V práci Clarka a spol. z roku 2017 byl zkoumán vliv pokročilých oxidačních procesů na čtyři zvolené organofosfátové pesticidy – malathion, parathion, fenthion a ethion. Výsledkem bylo zjištění, že aplikace AOP na organofosfátové pesticidy může mít za následek vznik látek, které mohou vykazovat potenciální toxikologické riziko [41].

V další studii z roku 2020 byla řešena problematika odstranění organofosfátových pesticidů v akvatické matici za využití AOP například UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fotolýzy, fotokatalýzy či ozonu. Zkoumány byly především pesticidy diazinon a chlorpyrifos. Výsledky vedly ke zjištění, že se pesticidy po zásahu AOP procesů ochotně rozkládají [42].

## 2.3 Ekotoxikologie

Pojem ekotoxikologie byl poprvé definován v roce 1969 francouzským vědcem René Truhautem. Popsal ji jako: „odvětví toxikologie, která studuje toxický efekt přírodních a umělých sloučenin na živé organismy, bez rozdílu, zda se jedná o živočichy či rostliny a zda žijí ve vodě anebo na souši“ [43].

Ekotoxikologii rozumíme multidisciplinární vědní obor, který kombinuje poznatky z ekologie a toxikologie, ale dále také i odvětví lékařství či chemie. Ekotoxikologie bývá definována, jako obor zabývající se nepříznivými vlivy a monitoringem chemických, biologických i fyzikálních polutantů na ekosystém a živé organismy v něm [43, 44].

Zjištěné poznatky se následně využívají v mnoha dalších vědních oborech, a to zejména v chemii životního prostředí, zpracovatelském průmyslu, ale také díky své vypovídající hodnotě, jež vychází z reálných podmínek, mohou sloužit k zavedení opatření v podobě zákonů anebo legislativních opatření [45].

### 2.3.1 Ekotoxikologické biotesty

Za ekotoxikologické testy neboli biologické testy (biotesty) se považují experimenty s organismy, díky nimž je získána odpověď na otázku, jestli studovaná látka bude mít při daných koncentracích vliv na ekosystém a zda působením těchto látek může dojít k jeho narušení. Jedná se tedy o takové biotesty, které mohou být využity k predikci nebo také k odhadu environmentálních dopadů ve spojitosti s daným studovaným toxikantem v životním prostředí. Cílem ekotoxikologických testů je zjištění, jestli a při jakých koncentracích budou zkoumané látky negativně, nebo naopak i pozitivně ovlivňovat biologické funkce organismu [45].

K ekotoxikologickým testům dochází za přesně definovaných podmínek a sleduje se při nich odezva testovacího systému, kde nejčastěji testovacím systémem bývá živý organismus, tkáň, populace nebo společenstvo organismů. Toxikant může při určité koncentraci způsobit smrt organismu, zpomalit jeho vývoj či narušit funkci metabolismu. Na druhé straně, ne všechny látky musí organismus usmrtit či zpomalit jeho vývoj. Může dojít k tomu, že testovaná látka způsobí jeho nadměrný růst nebo inhibici růstu organismu. Tento efekt je také nežádoucí, proto je důležitá snaha jej eliminovat [45].

### 2.3.2 Akvatická ekotoxikologie

Při provádění ekotoxikologického testování látek patří akvatické testy mezi nejrozšířenější. Cílem testů na vodních organismech je zjištění účinku testované látky či vzorku na vodní ekosystém. Testy s vodními organismy se provádějí v nádobách, které jsou naplněny zkoumaným roztokem. Vzhledem k tomu, jak se testování provádí, je možné akvatické testy provádět pouze na látkách rozpustných ve vodě a vodních výluzích. Tato metodika se tedy využívá při testování chemických látek a přípravků, odpadních vod, ale i přírodních toxikantů [45].

Princip je u většiny prováděných akvatických testů stejný. Základem je příprava koncentrační řady testované látky a vpravení určitého počtu testovacího organismu do každé koncentrace.

Po uplynutí předepsané doby se odečtou endpointy příslušné danému testovacímu organismu, který byl vystaven účinku toxikantů [45].

Mezi nejčastěji využívané metodiky patří testy na rybách, koryšících či vodních rostlinách, řasách a bakteriích [45].

#### 2.3.2.1 Daphtoxkit F<sup>TM</sup>

Testovací organismus *Daphnia Magna*, jinak také *Hrotnatka velká*, je běžně využívaný modelový zástupce zooplanktonu v akutních a chronických testech. Taxonomicky se řadí do třídy koryšů (*Crustacea*), podtřídy lupenonožců (*Phyllopoda*), řádu perlooček (*Cladocera*) [46].

Tělo hrotnatky je velké asi 10 mm. Hrotnatky se vyskytují v hojných počtech ve sladkovodních vodách na severní polokouli, ale nevyskytují se ve větších počtech v podzemních vodách, či ve vodách se silnějším tokem. Výhodou využití těchto organismů je jejich vysoká citlivost vůči toxikantům, dále pak rychlá reprodukce a snadná kultivace. Ve vodárenských nádržích se považuje výskyt hrotnatek za žádoucí, jelikož svou přítomností pomáhají udržovat kvalitu vody, a tím pádem předcházet dalším technologickým problémům. [47, 48, 49, 50].

Testy na *D. magna* jsou v České republice standardizovány například normou ČSN ISO 6341 (757751) Kvalita vod – Zkouška inhibice na pohyblivost *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) či ČSN ISO 10706 (757752) o Kvalita vod – Stanovení chronické toxicity látek pro *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) [46].

Principem testu je zjištění vlivu toxikantu na pohyblivost či úmrtnost hrotnatek v závislosti na koncentraci. Výsledkem tohoto testu je stanovení střední efektivní koncentrace; tj. koncentrace testované látky, při které je 50 % jedinců imobilizováno, popř. usmrceno [51].

Testování probíhá v temném inkubátoru po dobu 48 hodin, kdy jsou organismy vystaveny toxikantu při teplotě  $20 \pm 2$  °C, bez přístupu kyslíku a potravy. Pro každou koncentraci testované látky se provádí tři paralelní testování, kdy do každé jamky testovací desky o obsahu 10 ml je vpraveno 10 kusů dafnií. Před zahájením testu je důležité připravit si ředící vodu z demineralizované či destilované vody, podle již zmíněné normy ČSN ISO 6341. Dafnie, které by měly být maximálně 24 hodin staré, je doporučeno přibližně 2 hodiny před testováním odlovit, přemístit do ředící vody a nakrmit (suspenze chlorokokální řasy) [51].

K vyhodnocení testu se využívá výpočet efektivní koncentrace EC50 po 24 a 48 hodinách (24hEC50 a 48hEC50) na základě počtu usmrcených, popř. imobilizovaných jedinců, kteří ani po 15 sekundách po promíchání roztoku nejsou schopni se pohybovat. Mezi takové jedince se započítávají i taci, jenž mohou pohybovat pouze tykadly. V rámci testu se kontroluje pH a teplota roztoku testované látky. Při zpracování výsledků se využívá tzv. probitová analýza. Pomocí probitové analýzy, se úmrtnostní data výhodným způsobem transformují

na tzv. probity, u nichž závislost na logaritmu příslušné koncentrace nabývá téměř lineární podoby. K převodu procentuálních úmrtnostních dat na probity se využívají převodní tabulky [45, 47, 51, 52, 53].



Obrázek 6: Dafnie Magna [54] – v textu nenacházím odkazy na obrázky

#### 2.3.2.2 Testy na *Lemna minor*

*Lemna minor*, českým názvem *okřehek menší*, se řadí do třídy jednoděložných rostlin (*Liliopsida*), řádu žabníkotvaré (*Alismatales*), čeledi áronovité (*Araceae*) [55].

Okřehek je volně plovoucí vodní rostlina tvořená jedním až třemi drobnými plochými listy o velikosti 1-8 mm, které leží na jednom volném kořínku o délce 1-2 cm. *L. minor* se vyskytuje převážně v pomale tekoucích a stojatých vodách od nížin až po horské vrchy. Velmi dobře se množí a vytváří tak díky tomu zelený pokryv na hladině, jež se tak stává domovem a potravou mnoha druhů ryb. Vzhledem ke své vysoké citlivosti na celou škálu toxikantů se začal okřehek využívat v akvatických ekotoxikologických testech [56, 57].

Test inhibice růstu na *L. minor* lze využít například na testování toxicity roztoků chemických látek, suspenzí, odpadních vod a mnoha dalších. Principem je zaznamenání růstu lístků okřehku v odlišných koncentracích roztoků, vytvořených z výživového média a toxikantu. Jako kontrola slouží rostliny nasazené v živném roztoku bez přítomnosti toxikantu [58, 59].

Testování se provádí po dobu 168 hodin (7 dní) za teploty  $24 \pm 1$  °C, pod zdrojem záření o intenzitě 6 500 až 10 000 lux. Po uplynutí 7 dní se zaznamená celkový počet lístků, kořínků

a následně se určí biomasa. Výpočet inhibiční koncentrace 168hIC50 se provádí podle rychlosti růstu a množství biomasy. V našem případě se účinek posuzoval dle rychlosti růstu okřehku menšího, kdy pro každou koncentraci testované látky a kontrolu byl odečten počet lístků

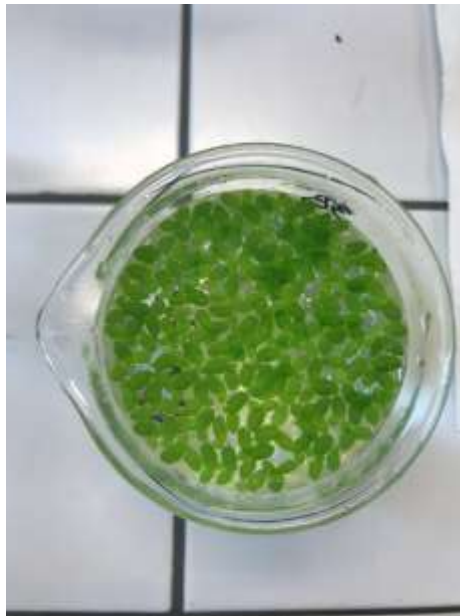
na konci testu. Ze získaných hodnot byla vypočtena růstová rychlost dle vztahu pro výpočet růstové rychlosti:

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}, \quad (10)$$

kde  $\mu$  je růstová rychlost,  $N_n$  označuje počet lístků na konci testování,  $N_0$  udává počet lístků na počátku testu a  $t_n$  udává dobu testování (hodnota je udávána v hodinách). Vypočtená růstová rychlost byla podkladem pro výpočet inhibice růstové rychlosti podle vztahu:

$$I_\mu = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \cdot 100, \quad (11)$$

kde  $I_\mu$  označuje inhibici okřehku (vždy pro danou koncentraci),  $\mu_c$  je pak růstová rychlost v referenčním vzorku a  $\mu_i$  je růstová rychlost pro danou koncentraci [58, 59, 60].



Obrázek 7: *Lemna minor* [autor]

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V rámci experimentální práce byly testovány modelové vody obsahující účinné látky herbicidních přípravků, které byly ošetřeny pomocí laboratorní jednotky AOP.

Pro účely zjištění vlivu procesu AOP na případnou ekotoxicitu testovaných látek, byly modelové vody testovány před a po provedení ošetření pomocí laboratorní jednotky AOP. Testovány byly účinné látky chloridazon (CH), metazachlor (M) v koncentracích  $5\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a jejich kombinace CH a M v koncentracích  $1000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $10\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  - (zásobní roztoky pro přípravu testovaných koncentračních řad). Tyto vzorky byly v rámci jiné diplomové práce podrobeny kvantitativní analýze ke zjištění účinnosti AOP při odstraňování zmíněných látek, testy ekotoxicity byly proto prováděny s výše uvedenými koncentracemi k získání komplexnějších informací o efektu použitých AOP.

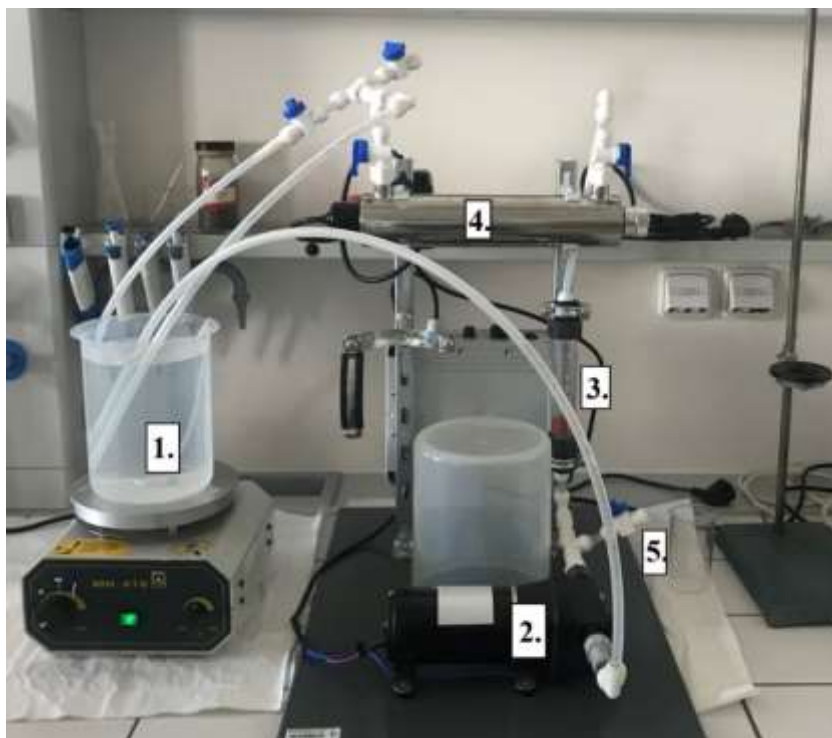
Z AOP byly využity metody ošetření prostřednictvím UV,  $\text{H}_2\text{O}_2$  po dobu 50 minut při průtoku 200 l za hodinu. Z testů byl vybrán test na organismu *L. minor* – zástupce producentů v akvatickém ekosystému a *D. magna* – zástupce konzumentů

#### 3.1 Laboratorní příprava modelové vody

Pro ošetření modelové vody byla využita laboratorní jednotka AOP. Doba ošetření pro všechny vzorky byla 50 minut.

Tato jednotka se skládala z:

- UV lampy typu Ultraviolet Water Sterilizer UV-HR 60, Aquaphor, USA (rtuťová výbojka emitující  $\lambda = 254\text{ nm}$ )
- Membránového čerpadla typu RM ECO 14 0.1 a peristalického čerpadla typu PCD 283BRS viz. Obr. 8



Obrázek 8: AOP jednotka (1. kádinka s roztokem, 2. čerpadlo, 3. průtokoměr, 4. UV lampa v pouzdře, 5. odtokový ventil) [autor]

### 3.2 Vybrané ekotoxikologické testy a samotná příprava testů

V této bakalářské práci byly použity testy akutní toxicity v akvatickém uspořádání, a to na organismu *D. magna*, jako zástupci bezobratlých organismů, a *Lemna minor*, jako zástupce rostlinných organismů.

Na začátku testu byla ředěním zásobních roztoků daného vzorku prostřednictvím ředící vody připravena koncentrační řada; 0, 6, 12, 25, 50 a 100 %.

#### 3.2.1 Test toxicity na *Daphnia magna*

Test účinku pesticidních látek na dafnii byl proveden dle standardního operačního protokolu, který je součástí testovací sady DAPHTOXKIT F<sup>TM</sup> MAGNA.

#### Postup práce:

Na přípravu ředící vody byly využity ampule zásobních roztoků obsažené v testovacím kitu pro dafnie. Ampule obsahovaly roztoky NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O a KCl o koncentracích specifikovaných v tabulce č. 3. Obsahy všech ampulek byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 2 dm<sup>3</sup>, která byla nejprve naplněna do poloviny destilovanou vodou, následně doplněna až po rysku a provzdušňována po dobu cca 15 minut.

Tabulka č. 3: Koncentrace složek pro přípravu ředící vody

Roztok	Mikrosložky [mg/2l]
I.	NaHCO <sub>3</sub> 129,5
II.	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 588
III.	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O 246,5
IV.	KCl 11,5



Obrázek 9: Ampulky s mikrosložkami pro *Daphnia magna* [autor]

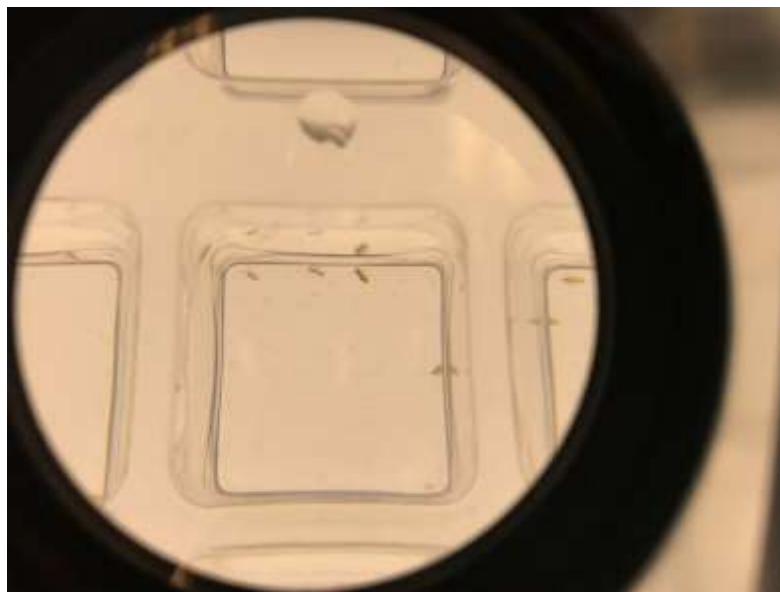
Při samotném testování byly využity hrotnatky jeden den staré.

Následně byla s využitím ředící vody připravena koncentrační řada z připravených zásobních roztoků pesticidů, o koncentraci 0, 6, 12, 25, 50 a 100 % do odměrných baněk o objemu 100 cm<sup>3</sup>. Poté, byly roztoky převedeny do testovacích desek, které jsou rovněž součástí testovacích sad. Každá z testovacích šachet byla naplněna 10 ml roztoku příslušné koncentrace testované látky a následně bylo do nich převedeno 5 vitálních testovacích organismů. Testování bylo po většinu času prováděno ve třech paralelních koncentracích

(někdy z důvodu nedostatku organismů pouze ve dvou). Nakonec byla celá testovací paletka překryta parafilmem, překryta plastovým víkem a vložena do „inkubátoru“ kde byly ponechány bez přístupu kyslíku, potravy či světla při teplotě  $20 \pm 2$  °C po dobu 48 hodin.

#### **Vyhodnocení testu:**

Odečty uhynulých nebo imobilizovaných organismů z každého testovaného roztoku byly provedeny po 24 a 48 hodinách. Odečet byl prováděn na světelné tabuli a pod lupou pro lepší viditelnost. Zlogaritmované hodnoty testovaných koncentrací byly vyneseny na osu  $x$ , na ose  $y$  pak byly vyneseny hodnoty uhynulých či imobilních hrotnatek vyjádřené v procentech (probity). Následně pak pomocí funkce lineární regrese byla vypočtena koncentrace, při níž byla dosažena 50% mortalita organismů. Aby mohly být výsledky testu považovány za validní, nesmí být mortalita či imobilizace organismů v kontrole vyšší než 10 %.



*Obrázek 10: Daphnia [autor]*



*Obrázek 11: Inkubace [autor]*

### 3.2.2 Test toxicity na *Lemna minor*

Veškeré testování na *L. minor* bylo provedeno v souladu s normou ČSN EN ISO 20079 (757745) platnou pro testování na okřehku.

#### Postup práce:

Nejdříve byla připravena ředící voda. Za živné médium neboli ředící vodu se v případě testu na okřehku považuje Steinbergův živný roztok, který byl v laboratoři připraven ze zásobních roztoků obsahujících mikro a makro složky, složení viz. tabulka č. 4.

**Tabulka č. 4: Koncentrace živných složek pro přípravu Steinbergova živného média**

Roztok	Makrosložky [g/l]	Roztok	Mikrosložky [mg/l]	
I.	KNO <sub>3</sub>	17,5	IV. H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	120
I.	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4,5	V. ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	180
I.	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,63	VI. Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	44
II.	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5,0	VII. MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	180
III.	Ca(NO <sub>3</sub> )·4H <sub>2</sub> O	14,75	VIII. FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	760
-	-	-	VIII. EDTA	1500

Následně bylo do odměrné baňky o objemu 2 dm<sup>3</sup> převedeno odměrným válcem 40 cm<sup>3</sup> ze zásobních roztoků pro makrosložky (tedy z roztoků I., II. a III.) a pipetou odměřeno 2 cm<sup>3</sup> ze zbylých zásobních roztoků mikrosložek. Odměrná baňka poté byla doplněna po rysku destilovanou vodou o laboratorní teplotě. Médium bylo uchováváno v ledničce, v případě potřeby bylo s časovým předstihem vyjmuta a po dosažení laboratorní teploty opět použito v testech

Po naředění vzorků v odměrných baňkách živným médiem do požadovaných hodnot koncentrační řady (v rozsahu 0, 6, 12, 25, 50 a 100 %), bylo potřebné množství převedeno do skleněných kádinek o objemu 100 cm<sup>3</sup>.

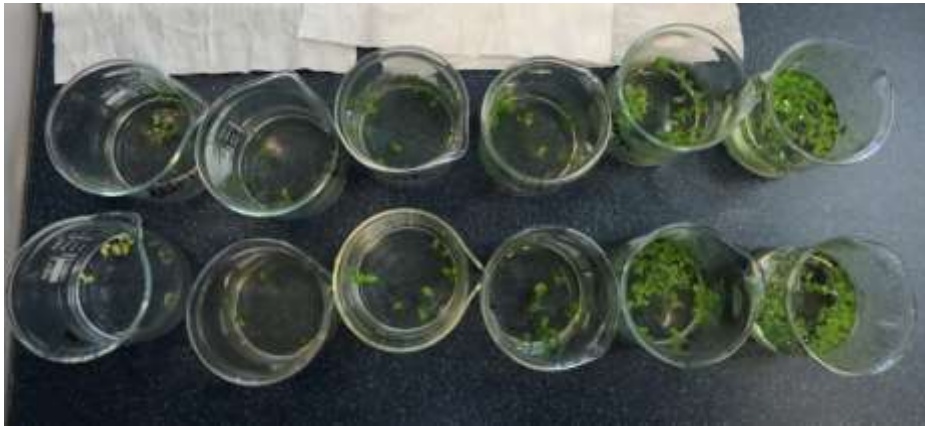
Poté byl okřehek pomocí plastové špachtličky nasazen do kádinek s roztoky. Každá koncentrace byla testována ve dvou paralelních testování. U všech připravených vzorků byl počet nasazených lístků ve stejném počtu. Kádinky s okřehkem pak byly vystaveny světlu o intenzitě 6 000 lux za laboratorní teploty po dobu 168 hodiny neboli po dobu 7 dní.

#### Vyhodnocení testu

Vyhodnocení testu bylo provedeno odečtením lístků okřehku po uplynutí jednoho týdne. Po odečtu lístků v ředící vodě, sloužící jako kontrola, byly spočítány lístky okřehku pro následné koncentrace. Poté byla vypočtena růstová rychlost okřehku dle rovnice uvedené v kapitole 2.3.2.2. Zlogaritmované hodnoty testovaných koncentrací byly vyneseny na osu *x* a na osu *y* pak byly vyneseny hodnoty inhibice růstové rychlosti vyjádřené v procentech. Pomocí počítačového softwaru MS Excel byla funkcí lineární regrese stanovena koncentrace, při které inhibice růstové rychlosti dosahovala 50 %, což byla námi hledaná hodnota 168hIC<sub>50</sub>.



*Obrázek 12: Nasazení testu Lemna minor [autor]*



*Obrázek 13: Pozorovatelné účinky na Lemna minor v závislosti na koncentraci [autor]*

## 4 PŘEHLED VÝSLEDKŮ A DISKUZE

Cílem bakalářské práce bylo posouzení účinnosti pokročilých oxidačních procesů při odstraňování pesticidů z modelových vod pomocí testů ekotoxicity. Ekotoxicita laboratorně připravené modelové vody byla vyhodnocena pomocí dostupných testů ekotoxicity uvedených a popsanych v experimentální části, viz kapitoly 3.2.1 a 3.2.2. U většiny připravených vzorků modelové vody, které byly ošetřeny na AOP laboratorní jednotce metodou UV či H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, byly provedeny testy toxicity na organismu *D. magna* a vodní rostlině *L. minor*. Výsledky jednotlivých testů pro lepší přehlednost a názornost byly zpracovány do tabulek a byly vyneseny do grafů.

### 4.1 Testy na *Daphnia magna*

Na organismech *D. magna* byly provedeny testy imobilizace pro jednotlivé vzorky modelové vody.

V následujících tabulkách jsou uvedeny počty a následně i procenta imobilizovaných či mrtvých jedinců při jednotlivých koncentracích daných testovaných látek. Porovnání účinků látek v grafech je uvedeno při odečtu počtu imobilizovaných jedinců po uplynutí 24 a 48 hodin dle stanovené normy. Z grafů vyplývá, že při využití peroxidu a vyšších koncentracích herbicidů byla úmrtnost dafnií vyšší, než při ošetření UV zářením a nižších koncentracích.

#### 4.1.1 Chloridazon a Metazochlor před ošetřením AOP jednotkou

V tabulce č. 5 jsou uvedeny počty imobilizovaných nebo usmrcených jedinců nasazených při testu akutní toxicity do směsi herbicidů obsahující účinnou látku chloridazon a metazachlor (100% koncentrace testovaných látek v této modelové vodě byla 1000 mg·l<sup>-1</sup>), tato byla následně ředěna.

Jak se z výsledků této tabulky dá vyčíst, již po 24 hodinách došlo k 100% mortalitě při všech koncentracích. V kontrole přežily všechny testovací organismy, proto je možné považovat výsledky testu za validní.

Hodnota EC<sub>50</sub> tedy nemohla být stanovena jak pro 24hodinovou, tak i pro 48hodinovou expozici.

**Tabulka č. 5: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon a metazachlor před ošetřením AOP jednotkou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	60	125	250	500	1000
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	0/0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

#### 4.1.2 Chloridazon a Metazochlor před ošetřením AOP jednotkou (po zředění)

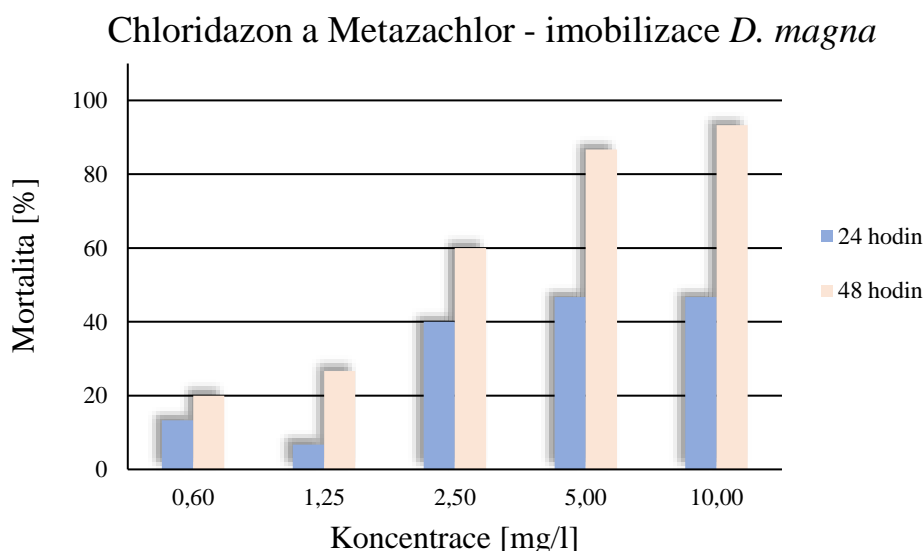
Jelikož výsledky předběžných testů ukázaly 100% mortalitu i v nejnižší koncentraci 6% (koncentrace 6 mg·l<sup>-1</sup>) bylo nutné provést další test. Z tabulky č. 6 je možné vyčíst počet organismů imobilizovaných či uhynulých po zředění modelové vody. Počáteční koncentrace modelové vody, která byla dále ředěna, byla 10 mg·l<sup>-1</sup>.

V grafu č. 1, je pak následně vyobrazena závislost zvyšující se mortality (vyjádřené procentuálně) na zvyšující se koncentraci roztoku.

V tomto případě již bylo možné vypočítat hodnotu ekotoxikologického indexu 24hEC50, která činila 8,57 mg·l<sup>-1</sup> a 48hEC50, jež byla 2,26 mg·l<sup>-1</sup>.

**Tabulka č. 6: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon a metazachlor po zředění a před ošetřením AOP jednotkou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,6	1,25	2,5	5	10
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/1	2/3	3/3	3/4
	0/0	1/2	0/1	2/3	2/5	2/5
	0/0	1/1	1/2	2/3	2/5	2/5



Graf č. 1: Porovnání mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách

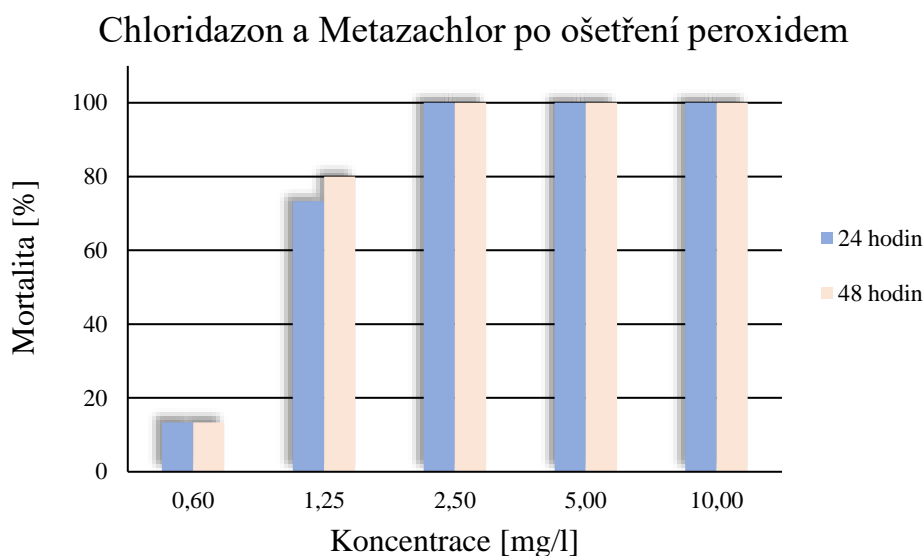
#### 4.1.3 Chloridazon a Metazochlor po ošetření H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Z tabulky č. 7 je možno vyčíst, že při ošetření roztoku chloridazonu a metazachloru pomocí peroxidu vodíku docházelo k vysokým hodnotám mortality již při 12% zředění (koncentrace 1,25 mg·l<sup>-1</sup>). Tato skutečnost je pak nadále graficky znázorněna pomocí grafu č. 2.

Z důvodu nadměrné mortality už při relativně nízkých koncentracích tedy nemohla být stanovena koncentrace EC50 jak pro 24 hodin tak ani pro 48 hodin.

**Tabulka č. 7: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon a metazachlor po ošetření peroxidem**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,6	1,25	2,5	5	10
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	1/4	5/5	5/5	5/5	5/5
	0/0	1/3	2/5	5/5	5/5	5/5
	0/0	0/5	4/5	5/5	5/5	5/5



*Graf č. 2: Porovnání mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách*

#### 4.1.4 Chloridazon a Metazochlor po ošetření UV lampy s přidavkem 1ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

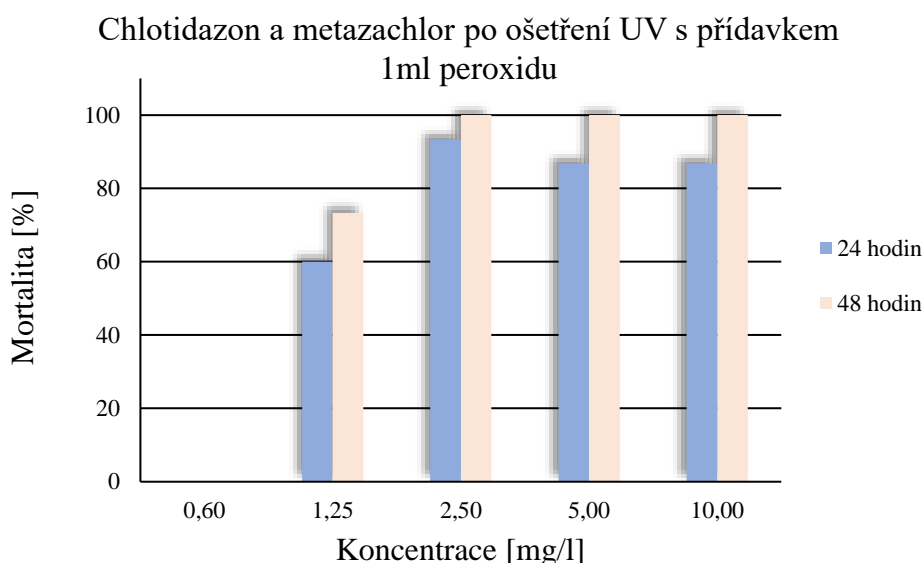
Nasazené koncentrace chloridazonu a metazachloru po ošetření UV a s přidavkem 1 cm<sup>3</sup> peroxidu vodíku vykazovaly při 24hodinovém intervalu částečně nižší mortalitu než při využití pouze samotného peroxidu.

Po 48 hodinách vykazoval vzorek od 12procentní zředění (odpovídá koncentraci 1,25 mg·l<sup>-1</sup>) mortalitu, přičemž při vyšších koncentracích byla tato mortalita téměř totožná. Tuto skutečnost je možné vyčíst z tabulky č. 7 a tabulky č. 8, kam byly výsledky zapsány pro lepší přehlednost.

Ani zde tedy nebylo možné, kvůli vysokým hodnotám mortality, stanovit ekotoxikologický index EC50.

**Tabulka č. 8: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon a metazachlor po ošetření UV lampy a s přidavkem 1 ml peroxidu**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,6	1,25	2,5	5	10
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	3/3	5/5	3/5	3/5
	0/0	0/0	3/5	4/5	5/5	5/5
	0/0	0/0	3/3	5/5	5/5	5/5



Graf č. 3: Porovnaní mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách

#### 4.1.5 Chloridazon a Metazochlor po využití UV záření s přídavkem 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

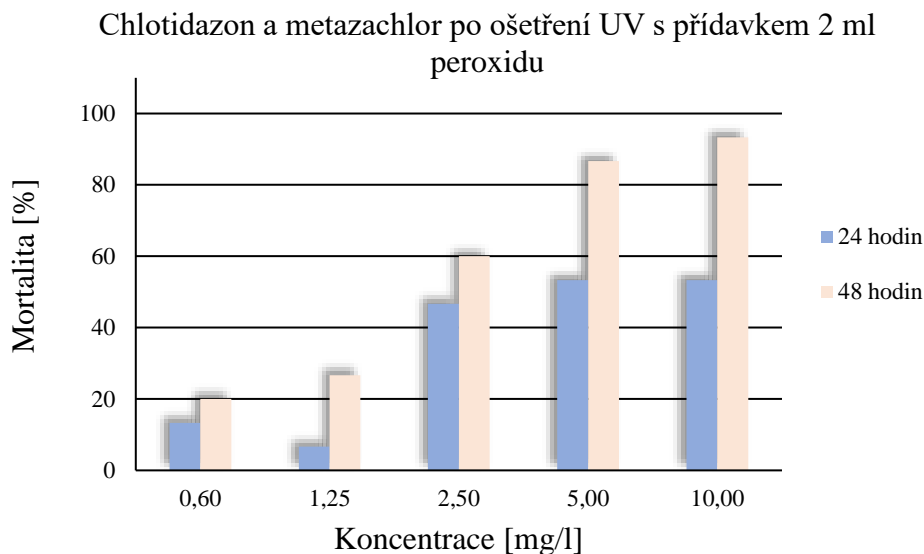
Tabulka č. 9 uvádí počty imobilizovaných nebo usmrcených organismů dafnie nasazených do testu akutní toxicity. Z grafického znázornění je možné vyčíst vzrůstající tendenci mortality se zvyšující se koncentrací použitého vzorku.

Ve srovnání s využitím kombinace UV lampy a přídavku 1 ml peroxidu vykazoval vzorek menší procentuální hodnoty úmrtnosti nasazených dafnií.

Mortalita zde byla zaznamenána jak po 24 hodinách, tak i po 48 hodinách. Bylo tedy možné stanovit hodnotu EC<sub>50</sub> **5,94 mg·l<sup>-1</sup>** pro 24hodinové i **2,26 mg·l<sup>-1</sup>** při 48hodinové expozici.

#### Tabulka č. 9: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon a metazachlor po ošetření UV lampy a s přídavkem 2 ml peroxidu

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,6	1,25	2,5	5	10
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/1	2/3	3/3	2/4
	0/0	1/2	0/1	2/3	2/5	2/5
	0/0	1/1	1/2	3/3	3/5	4/5



Graf č. 4: Porovnání mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách

#### 4.1.6 Metazochlor před ošetřením UV

Jak je možné vyčíst z tabulky č. 10, metazachlor vykazoval minimální mortalitu dafnie při nasazení do testu akutní toxicity. Smrt některých jedinců byla nejspíše způsobena nižší rezistencí vůči testované látce.

Z důvodu takto nízkých hodnot mortality nebylo možné stanovit ekotoxikologické indexy 24hEC50 a 48hEC50.

**Tabulka č. 10: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro metazachlor před ošetřením UV lampou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	0/0	0/1	0/0	0/1	0/1	0/1
	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/1

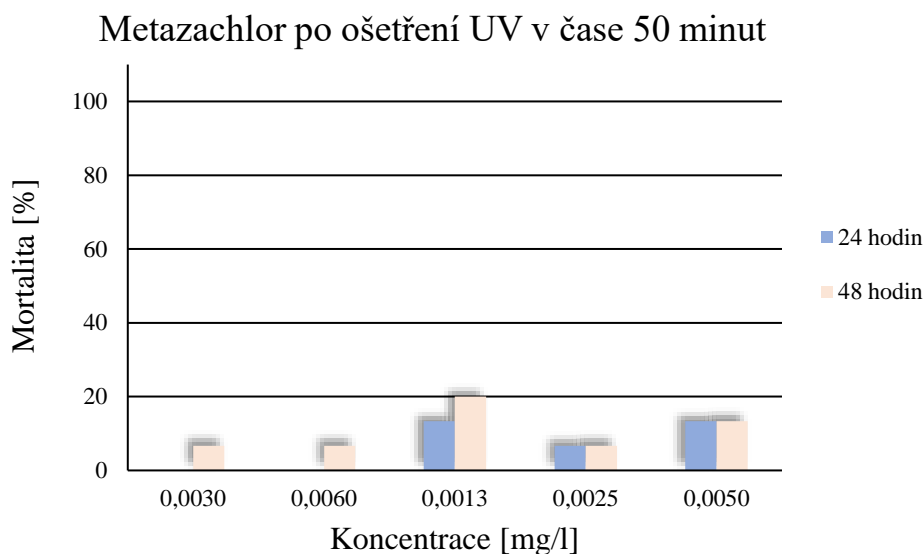
#### 4.1.7 Metazochlor po 50 minutách při ošetření UV zářením

Při porovnání výsledků v tabulce č. 10 a č. 11 před ošetřením metazachloru UV zářením po dobu 50 minut a po jeho ošetření, byly získány téměř totožné hodnoty mortality. Je tedy pravděpodobné, že organismus není citlivý na působení testované látky a ošetření UV rovněž nezpůsobilo změny, které by ovlivnily efekty na organismy.

Na základě toho, že se nejvyšší procentuální mortalita pohybovala na hranici 20 procent, jak lze z Graf č. 5: Porovnání mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách vypočítat, nebylo možné vypočítat hodnoty pro indexy 24hEC50 a 48hEC50.

**Tabulka č. 11: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro metazachlor po ošetření UV lampou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/0	1/2	1/1	1/1
	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	1/1
	0/0	0/1	0/0	1/1	0/0	0/0



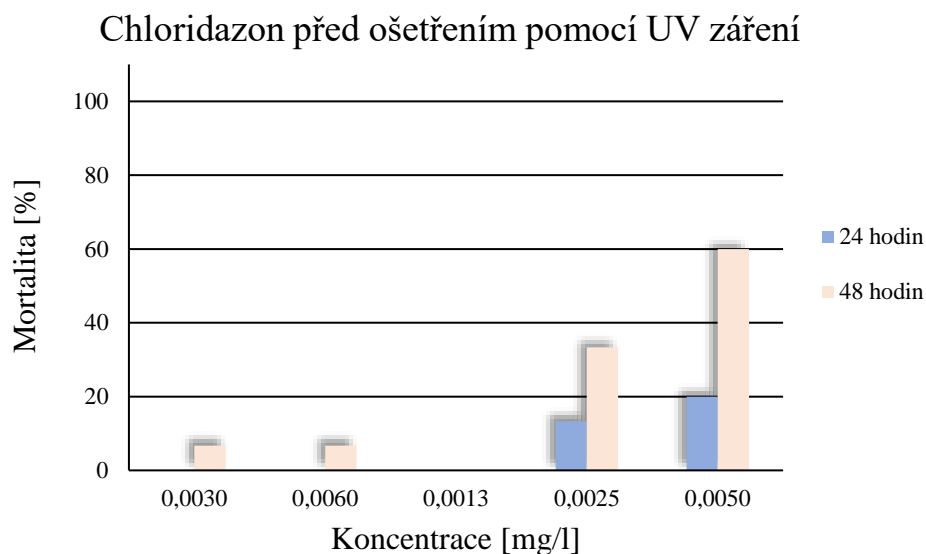
*Graf č. 5: Porovnání mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách*

#### 4.1.8 Chloridazon před ošetřením pomocí UV záření

Nasazené organismy do připravených koncentrací chloridazonu před ošetřením vzorku za pomoci UV záření, vykazovaly nepravidelnou odezvu v podobě mortalit (viz tabulka č. 12). Proto ani zde nebyla jako u předchozích vzorků, které nevykazovaly lineární závislost, stanovena hodnota EC50.

**Tabulka č. 12: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* pro chloridazon před ošetřením UV lampou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/5
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2
	0/0	0/1	0/1	0/0	2/5	2/2



*Graf č. 6: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

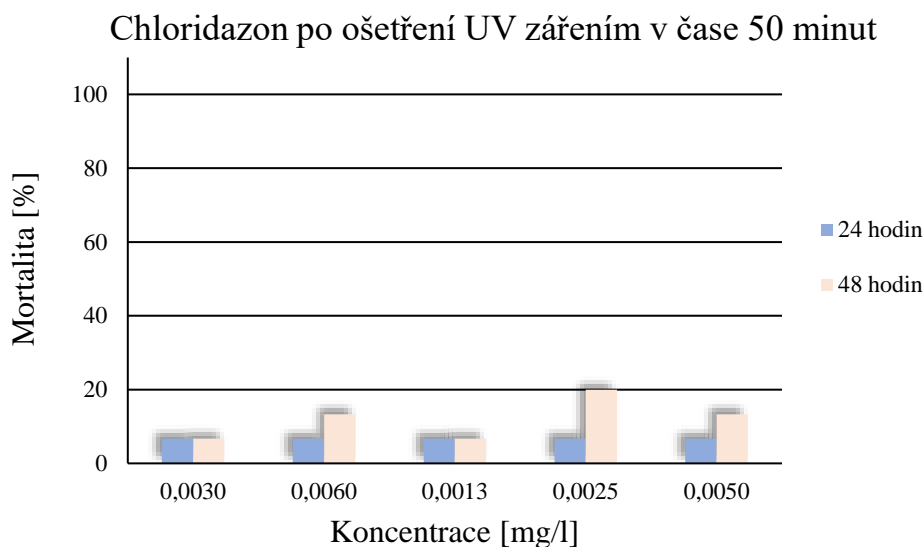
#### **4.1.9 Chloridazon po ošetření pomocí UV v době 50 minut**

Z tabulky č. 13 lze vyčíst, že hodnoty mortality dafnie jsou v některých případech nižší než před ošetřením vzorku UV zářením (tabulka č. 12).

Největší mortalita pak nastala při 50procentním zředění testovaného roztoku (odpovídá koncentraci 0,0025 mg·l<sup>-1</sup>) chloridazonu. Veškeré závislosti byly vyneseny pro lepší přehlednost do grafu č. 7.

**Tabulka č. 13: Počet imobilizovaných organismů D. magna pro chloridazon po ošetření UV lampou**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1	0/1
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	1/1
	0/0	1/1	0/1	0/0	0/0	0/0



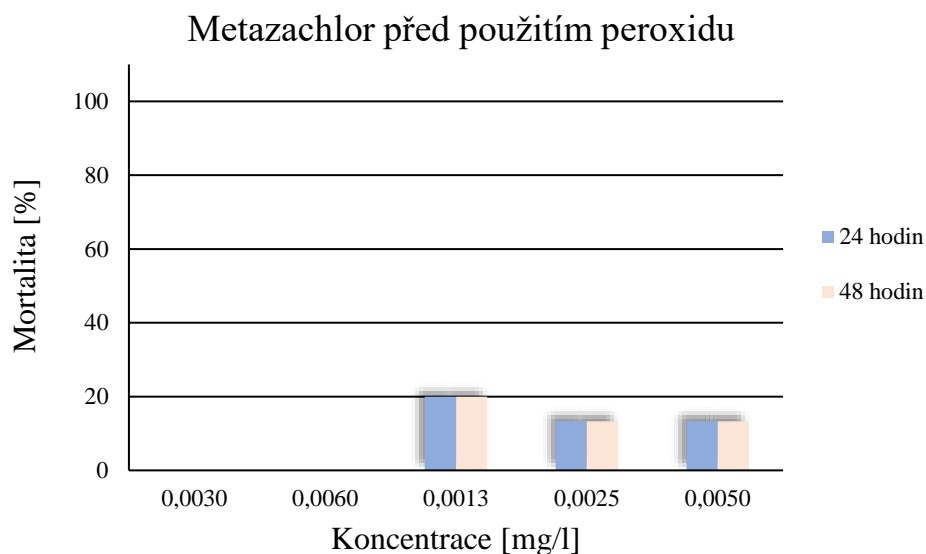
*Graf č. 7: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

#### **4.1.10 Metazachlor před použitím peroxidu**

Mortalita organismu v roztoku metazachloru před použitím peroxidu se začala projevovat až při 25% zředění (odpovídá koncentraci 0,0013 mg·l<sup>-1</sup>), jak je možno vyčíst z tabulky č. 14 popřípadě grafu č. 8. Při vyšších koncentracích již nebyl pozorován nárůst mortality testovacích organismů.

**Tabulka č. 14: Počet imobilizovaných organismů D. magna pro metazachlor před použitím peroxidu**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	2/2
	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	0/0
	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0



*Graf č. 8: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

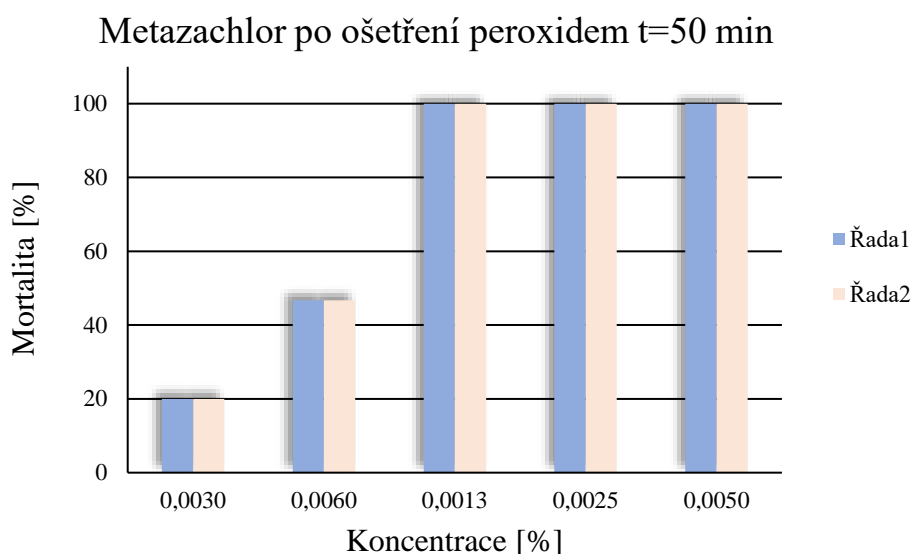
#### 4.1.11 Metazachlor po ošetření H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> po uplynutí 50 minut

Z vynesení závislosti mortality na koncentraci (viz graf č. 9) je na první pohled patrné, že na rozdíl od testovaného vzorku před použitím H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (tabulka č. 14), se procentuální mortalita pohybuje v mnohem vyšších hodnotách. Již od 25 % zředění koncentrace (odpovídá koncentraci 0,0013 mg·l<sup>-1</sup>) totiž dochází k 100procentní úmrtnost organismu.

Získaná data byla uvedena do přehledné tabulky č. 15.

**Tabulka č. 15: Počet imobilizovaných organismů D. magna pro metazachlor po použití peroxidu**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	1/1	3/3	5/5	5/5	5/5
	0/0	1/1	2/2	5/5	5/5	5/5
	0/0	1/1	2/2	5/5	5/5	5/5



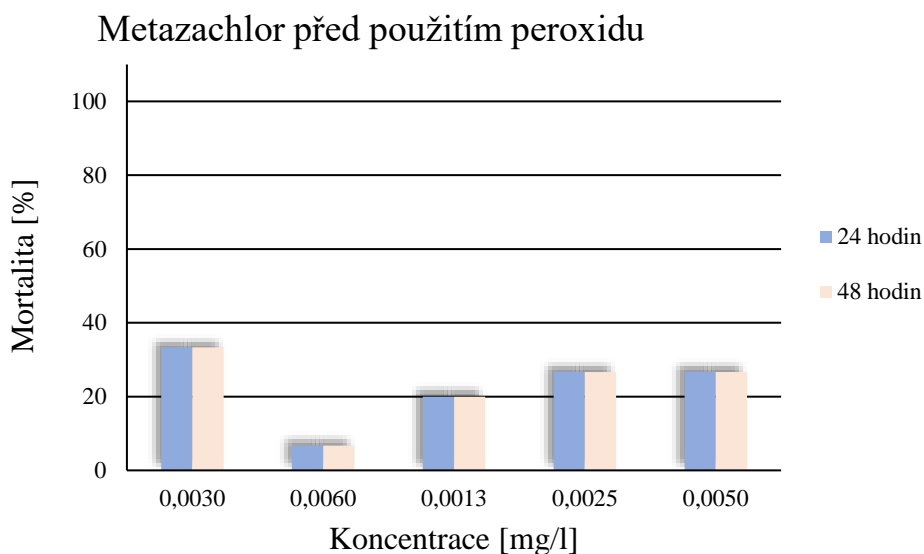
*Graf č. 9: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

#### **4.1.12 Chloridazon před použitím H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Vzorek chloridazonu, který nebyl ošetřen peroxidem vykazoval nelineární závislost mortality na koncentraci roztoku, což je možné pozorovat v grafu č. 10. Z tohoto důvodu nemohla být stanovena hodnota indexu EC<sub>50</sub> jak pro testování po 24 hodinách, tak i po 48 hodinách. Veškeré získané hodnoty mortality byly zapsány do tabulky č. 16.

**Tabulka č. 16: Počet imobilizovaných organismů D. magna pro chloridazon před použitím peroxidu**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	1/1	1/1	3/3	1/1	2/2
	0/0	3/3	0/0	0/0	3/3	1/1
	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1



*Graf č. 10: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

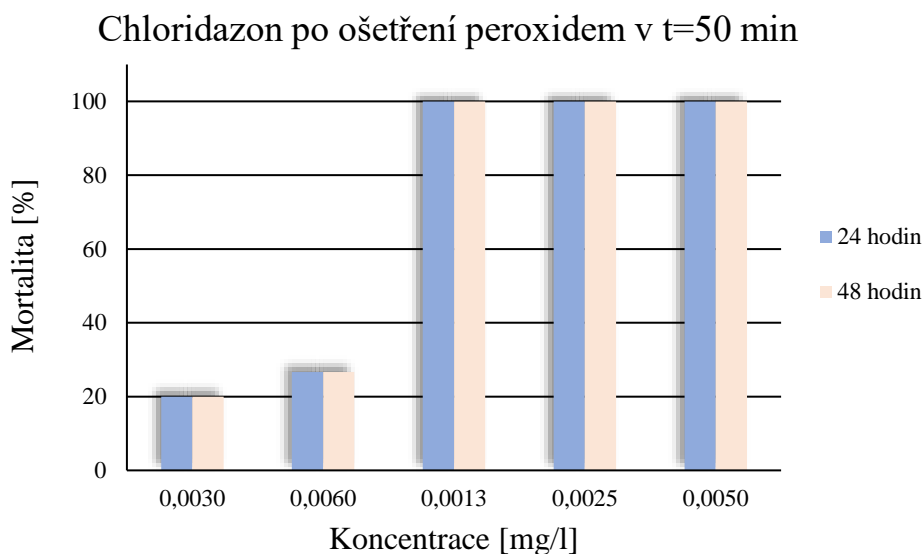
#### **4.1.13 Chloridazon v čase 50 minut po použití peroxidu vodíku**

Při porovnání hodnot mortality organismu z tabulky č. 16 a 17, je na první pohled vidět, že vzorek po ošetření H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> po dobu trvání 50 minut, vykazuje výrazně vyšší hodnotu úmrtnosti testovacího organismu, která dosahuje až 100 procent, a to již při koncentraci 0,0013 mg·l<sup>-1</sup> testovaného roztoku.

Z důvodu až takto vysokých hodnot mortality tedy nemohla být stanovena hodnota EC50 ani pro jeden časový interval odečtu. Vše je pak následně vyobrazeno pomocí grafu č. 12.

**Tabulka č. 17: Počet imobilizovaných organismů D. magna pro chloridazon po použití peroxidu**

KONCENTRACE [mg·l <sup>-1</sup> ]	0	0,0003	0,0006	0,0013	0,0025	0,005
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	2/2	5/5	5/5	5/5
	0/0	3/3	0/0	5/5	5/5	5/5
	0/0	0/0	2/2	5/5	5/5	5/5



*Graf č. 11: Porovnání mortality D. magna po 24 a 48 hodinách*

#### **4.1.14 Srovnávací vzorek pro ošetření UV zářením**

Jako srovnávací vzorek je označena destilovaná voda, která byla ošetřena stejným procesem jako testovaná látka, a to z toho důvodu, aby bylo možné posoudit vliv samotného AOP na případnou ekotoxicitu ošetřované vody. Srovnávací vzorek ošetřený UV lampou po dobu 50 minut nevykazoval mortalitu při žádné koncentraci. Jelikož zde nebyla zjištěna žádná závislost úmrtnosti dafnie na zvyšující se koncentraci, nebylo možné vynést data do grafu. Výsledky měření byly zapsány do tabulky č. 18.

**Tabulka č. 18: Počet imobilizovaných organismů D. magna po použití UV lampy**

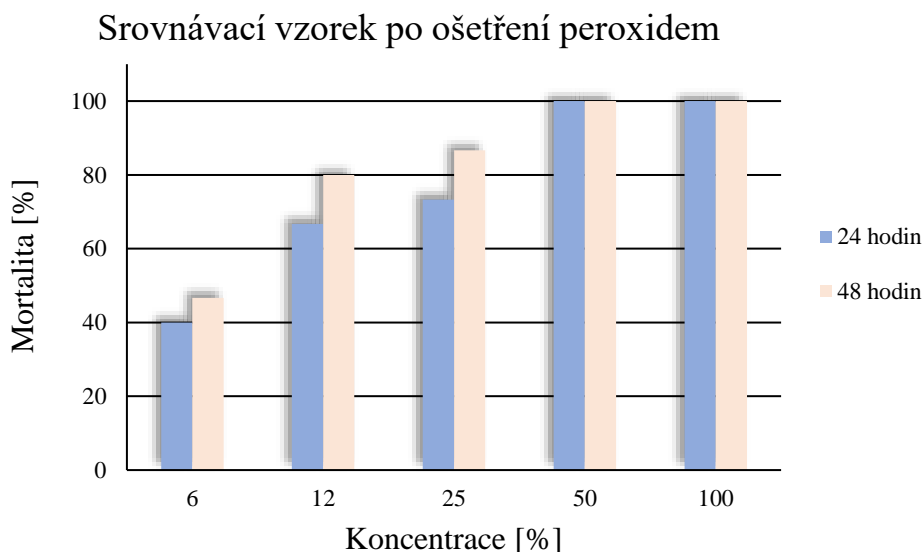
KONCENTRACE [%]	0	6	12	25	50	100
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

#### **4.1.15 Srovnávací vzorek po ošetření peroxidem**

Srovnávací vzorek skládající se z destilované vody ošetřené pomocí peroxidu, na rozdíl od předchozího srovnávacího vzorku (viz tabulka č. 18) vykazuje vysokou mortalitu již při nízkých koncentracích roztoku. Veškeré hodnoty mortality v závislosti na koncentraci byly vyneseny do grafu č. 12.

**Tabulka č. 19: Počet imobilizovaných organismů *D. magna* po použití peroxidu**

KONCENTRACE [%]	0	6	12	25	50	100
ČAS ODEČTU	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H	24/48 H
POČET UHYNULÝCH ORGANISMŮ	0/0	2/2	3/4	4/5	5/5	5/5
	0/0	2/3	3/3	3/4	5/5	5/5
	0/0	2/2	4/5	4/4	5/5	5/5



*Graf č. 12: Porovnaní mortality *D. magna* po 24 a 48 hodinách graf popis osy x %*

#### **4.1.16 Diskuze výsledků testování pro *Daphnia magna***

Při porovnání výsledků získaných při testech na drobných korýších je zřejmé, že roztoky o nižší koncentraci vykazovaly nižší ekotoxicitu než roztoky s vyšší koncentrací. Ovšem u vzorků, které byly ošetřeny peroxidem, docházelo v mnoha případech až k enormní mortalitě dafnie.

V porovnání s výsledky testování skupiny autorů M. Bessa de Silvy a kol. z podzimu roku 2016, kdy při testování efektů herbicidů na *D. magna* s herbicidy v reálnějších koncentracích, než byly využity v bakalářské práci, se dá konstatovat, že se výsledky zas tak výrazně nelišily od jimi použitých pesticidů, kdy při koncentracích okolo 280  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  docházelo po 48 hodinách k 50procentní imobilizaci či mortalitě dafnií [61].

#### **4.2 Testy na *Lemna minor***

U většiny připravených vzorků byl proveden předběžný test inhibice růstu rostliny *L. minor*. Při tomto testu byly použity totožné koncentrace, jak při předchozím testování na organismu *D. magna*. Výsledky byly zpracovány do tabulek (uvedených níže v 4.2.1) a následně vyneseny do společného grafu č. 13.

Hodnoty  $168\text{hIC}_{50}$  jednotlivých testů byly získány podle metody popsané v kapitole 3.2.2. Výsledky všech testů jsou uvedeny v tabulkách č. 20 - č. 27.

#### 4.2.1 Chloridazon a Metazachlor před a po ošetření AOP jednotkou

Počáteční 100% koncentrace testovaného roztoku byla  $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , tento byl dále ředěn. Jak je možné vyčíst z tabulky č. 20, průměrná růstová rychlost okřehku se se zvyšující koncentrací snižovala.

**Tabulka č. 20: Chloridazon a Metazachlor před ošetření  $\text{H}_2\text{O}_2$**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	10	10	102	95	0,0136	0
6	10	10	55	60	0,0104	23,53
12,5	10	10	30	27	0,0062	54,21
25	10	10	20	19	0,0040	70,80
50	10	10	16	17	0,0030	78,11
100	10	10	11	13	0,0011	92,03

Při srovnání vypočítaných hodnot inhibice okřehku před a po ošetření vzorků peroxidem (viz tabulka č. 20 a tabulka č. 21) si pak následně můžeme povšimnout, vyšších hodnot vypočtené inhibice u vzorku ošetřeného  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Z toho můžeme vyvodit závěr, že peroxid negativně ovlivnil ekotoxikologickou vlastnost připraveného vzorku.

**Tabulka č. 21: Chloridazon a Metazachlor po ošetření  $\text{H}_2\text{O}_2$**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	10	10	97	99	0,0136	0
6	10	10	20	16	0,0035	74,25
12,5	10	10	16	15	0,0026	80,80
25	10	10	15	15	0,0024	82,24
50	10	10	13	12	0,0013	90,22
100	10	10	11	10	0,0003	97,86

Hodnota  $168\text{hIC}_{50}$  pro vzorek chloridazonu a metazachloru před ošetřením laboratorní AOP jednotkou byla stanovena na  $12,43 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Pro vzorek po ošetření pomocí peroxidu pak na  $5,00 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Stanovené hodnoty  $168\text{hIC}_{50}$  jsou graficky znázorněny v grafu č. 13 a více okomentovány v kapitole 4.2.5.

#### 4.2.2 Chloridazon a Metazachlor po ošetření UV s přidavkem 1 a 2 ml $\text{H}_2\text{O}_2$

Při porovnání hodnot z Tabulka č. 22 Tabulka č. 23, je na první pohled patrné, že přidavek 1 ml peroxidu neměl až tak razantní vliv na změnu inhibice a růstové rychlosti. Z tabulek je také možné vyčíst, že již při 6% zředění koncentrací (to odpovídá  $6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) roztoku nastala téměř 60% inhibice.

**Tabulka č. 22: Chloridazon a Metazochlor po ošetření UV s přídavkem 1ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	5	5	50	51	0,0138	0
6	5	5	13	13	0,0057	58,68
12,5	5	5	10	12	0,0047	65,91
25	5	5	7	6	0,0016	88,65
50	5	5	5	5	0	100
100	5	5	5	5	0	100

**Tabulka č. 23: Chloridazon a Metazochlor po ošetření UV s přídavkem 2ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	5	5	53	49	0,0138	0
6	5	5	14	13	0,0059	57,23
12,5	5	5	11	12	0,0050	64,14
25	5	5	6	7	0,0016	88,70
50	5	5	5	5	0	100
100	5	5	5	5	0	100

Hodnota 168hIC<sub>50</sub> pro okřehek u vzorku směsi chloridazonu a metazachloru po ošetření UV lampou s přídavkem 1 ml peroxidu byla stanovena na **6,21 mg·l<sup>-1</sup>** a pro vzorek na který bylo využito UV záření s přídavkem 2 ml peroxidu na **6,39 mg·l<sup>-1</sup>**.

Stanovené hodnoty 168hIC<sub>50</sub> byly graficky znázorněny v grafu č. 13 v kapitole 4.2.5.

#### 4.2.3 Metazachlor, Chloridazon před ošetřením AOP jednotkou

V tabulce č. 24 jsou uvedena data pro vzorek skládající se ze samotného metazachloru a v Tabulka č. 25 pak pro samotný chloridazon.

**Tabulka č. 24: Metazochlor před ošetřením AOP jednotkou**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	5	5	67	69	0,0155	0
0,0030	5	5	48	52	0,0137	11,78
0,0060	5	5	34	37	0,0117	24,90
0,0013	5	5	26	26	0,0098	36,83
0,0025	5	5	15	21	0,0076	50,92
0,0050	5	5	5	5	0	100

Metazachlor vykazoval nepatrně vyšší procentuální inhibici lístků okřešku.

**Tabulka č. 25: Chloridazon před ošetřením AOP jednotkou**

Koncentrace [mg/l]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0	5	5	59	55	0,0145	0
0,0030	5	5	50	47	0,0135	6,64
0,0060	5	5	36	34	0,0116	20,04
0,0013	5	5	27	23	0,0096	33,87
0,0025	5	5	18	15	0,0071	50,94
0,0050	5	5	5	5	0	100

Veškeré stanovené hodnoty 168hIC50 jsou uvedeny v kapitole 4.2.5 a graficky znázorněny pomocí grafu č. 13.

#### 4.2.4 Srovnávací vzorek pro UV a pro peroxid vodíku

Při provedení testů na srovnávacích vzorcích bylo z naměřených hodnot zjištěno, že vzorek destilované vody ošetřené pouze UV lampou (tabulka č. 26) vykazoval výrazně nižší inhibici růstu než vzorek ošetřený peroxidem (viz tabulka č. 27).

**Tabulka č. 26: Srovnávací vzorek pro UV**

Koncentrace [%]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0 %	4	4	31	33	0,0124	0
6 %	4	4	25	30	0,0115	7,29
12 %	4	4	23	26	0,0108	12,84
25 %	4	4	18	21	0,0094	23,82
50 %	4	4	14	17	0,0081	34,86
100 %	4	4	4	4	0	100

**Tabulka č. 27: Srovnávací vzorek pro peroxid vodíku**

Koncentrace [%]	Počet lístků ve dvou opakováních				Průměrná rychlost	inhibice [%]
	0 den (1)	0 den (2)	7 den (1)	7 den (2)		
0 %	4	4	20	22	0,0099	0
6 %	4	4	12	10	0,0060	39,00
12 %	4	4	7	9	0,0041	58,20
25 %	4	4	5	4	0,0007	92,90
50 %	4	4	4	4	0	100
100 %	4	4	4	4	0	100

Zde se hodnoty 168hIC50 nestanovovaly, neboť se jednalo o srovnávací vzorky a koncentrace jsou vyjádřeny v procentech.

#### 4.2.5 Shrnutí výsledků testu *Lemna minor*

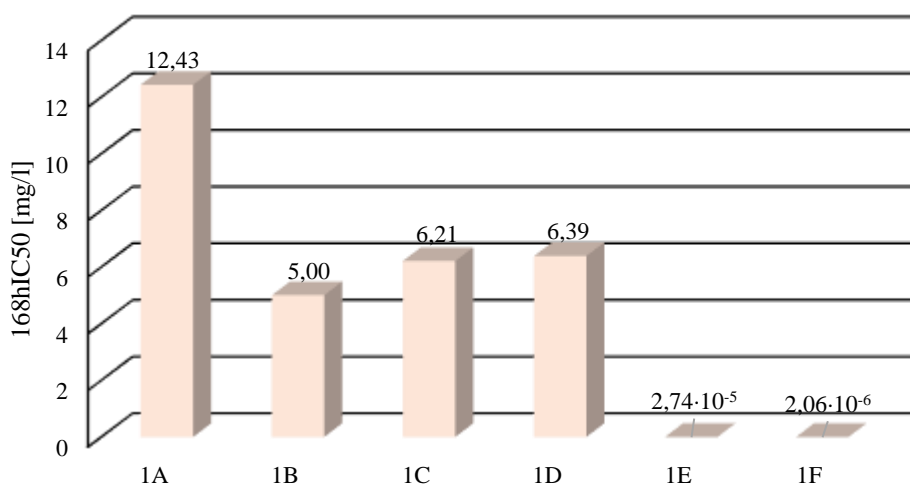
Jak je možné z tabulek č. 20–27, ale i z grafického znázornění vyčíst, největší inhibice nastala u vzorku skládajícího se ze směsi chloridazonu a metazachloru před ošetřením jakoukoliv AOP metodou.

Významy zkratk ke grafu č. 13 jsou uvedeny v tabulce č. 28.

**Tabulka č. 28: Vysvětlivky zkratk ke grafu**

Označení	Odpovídající vzorek
1A	Chloridazon a Metazachlor před ošetřením jednotkou AOP
1B	Chloridazon a Metazachlor po H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
1C	Chloridazon a Metazachlor po UV s 1 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
1D	Chloridazon a Metazachlor po UV s 2 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
1E	Metazachlor před ošetřením
1F	Chloridazon před ošetřením

**Hodnota 168hIC<sub>50</sub> pro testované vzorky**



*Graf č. 13: Test inhibice růstu na okřehku*

Výpočtem z hodnot inhibice růstové rychlosti byla získána hodnota koncentrace 12,43 mg·l<sup>-1</sup> pro směs chloridazonu a metazachloru před samotným ošetřením. Pro vzorek chloridazonu a metazachloru po ošetření peroxidem byla hodnota koncentrace stanovena na 5,00 mg·l<sup>-1</sup>, což v porovnání s hodnotou před ošetřením vykazuje patrný nárůst hodnot mortality. Výsledky měření jsou zapsány v tabulkách č. 20 a č. 21.

U ošetření roztoku pomocí UV s přídatkem 1 ml peroxidu byla vypočtena hodnota 168hIC<sub>50</sub> na 6,21 mg·l<sup>-1</sup> (výsledky viz tab. č. 22) a pro vzorek ošetřený UV lampou s přídatkem 2 ml peroxidu na 6,39 mg·l<sup>-1</sup>. Hodnoty se tedy příliš neodlišují.

Hodnota 168hIC<sub>50</sub> pro metazachlor před ošetřením byla stanovena na  $2,74 \cdot 10^{-5}$  mg·l<sup>-1</sup>

V porovnání s metazachlorem pak samotný chloridazon (získaná data byla zapsána do tabulek č. 23 a č. 24) vykazoval 50procentní inhibici růstu při koncentraci  $2,06 \cdot 10^{-6}$  mg·l<sup>-1</sup>. Z výsledků je tedy možné usoudit, že peroxid je efektivnější v případě odstranění polutantů, ale sám o sobě vykazuje vysokou ekotoxicitu pro testovací vodní organismy.

#### **4.2.6 Diskuze výsledků testování pro *Lemna minor***

Při porovnání výsledků je na první pohled vidět, že roztoky obsahující obě aktivní herbicidní látky vykazují výrazně nižší inhibice růstu okřehku než samotné aktivní látky. Dále

pak při porovnání samotných aktivních látek vykazoval chloridazon nižší hodnotu 168hIC50. Z takových to výsledků můžeme tedy vyvodit závěr, že v kombinaci metazachloru s chloridazonem vykazuje chloridazon mnohem vyšší ekotoxicitu. Při ošetření vzorků peroxidem je za ekotoxicitu pravděpodobně zodpovědný i samotný peroxid nebo ji alespoň podporuje.

V práci z roku 2007, kdy se skupina okolo pana Mohra zabývala účinkem samotného metazachloru na akvatické organismy, zjistili, že již při koncentracích nižších (méně než  $5\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), než použitých v této bakalářské práci byly pozorovány negativní účinky herbicidů [62]. Což by se dalo říci, že při porovnání výsledků v bakalářské práci jsme došli podobného závěru.

## 5 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce se zabývala problematikou pokročilých oxidačních procesů (AOP) běžně využívaných v čistírenských technologiích. Proto byla na začátku zpracována rešerše na tuto tematiku a následně na to byla zvolena vhodná série testů ekotoxicity k posouzení účinnosti těchto procesů. V práci byly posuzovány vzorky modelové vody jak neošetřené, tak ošetřené pomocí předem zvolených metod AOP.

Při využití obvyklých postupů čištění odpadní vody nedochází k dokonalému odstranění mnohých organických polutantů, jako jsou například léčiva, ale i právě pesticidy. Ty se pak následně v nezměněné, avšak i přeměněné formě dostávají do okolí, kde mohou působit toxicky na organismy žijících ve vodním prostředí.

V této práci bylo popsáno několik metod pokročilých oxidačních procesů, které umožňují alespoň částečné odstranění již zmíněných polutantů, jako je například ozonizace, využití UV a VUV záření či využití  $H_2O_2$ . Modelové vzorky byly ošetřeny na pilotní jednotce AOP dvěma metodami, jednak za využití peroxidu a za druhé za využití UV světla. Na neošetřených i ošetřených vzorcích byly provedeny testy ekotoxicity pomocí zvolené baterie testů. Ty byly tvořeny testem akutní toxicity na organismu *Daphnia magna* a testem inhibice růstu rostliny *Lemna minor*. Na většině testovacích organismů se neprojeví výrazné negativní účinky vzorku ošetřeného UV zářením, nebo jen v minimální míře při vyšších koncentracích. Na druhou stranu vzorky, které byly ošetřeny peroxidem, vykazují enormně vysokou mortalitu a inhibici testovacích organismů. Z toho je možné usuzovat, že peroxid pravděpodobně podporuje nebo i způsobuje ekotoxicitu upravených vzorků.

## 6 ZDROJE

- [1] LOUČKA, Tomáš. Chemie životního prostředí [online]. Ústí nad Labem: Univerzita J. E. Purkyně v Ústí n. Labem, Fakulta životního prostředí, 2014 [cit. 2020-04-16]. ISBN 978-80-7414-840-8. Dostupné z: [http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/skripta/20e\\_final\\_tisk.pdf](http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/skripta/20e_final_tisk.pdf)
- [2] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4. vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2009. ISBN 978-80-7080-928-0.
- [3] Ekotoxikologické hodnocení vytěžených sedimentů a tuhých odpadů a legislativní změny. Odpadové fórum 2009, HOFMAN, J., VÁCHA, R., KULOVANÁ, M.
- [4] NOVÁK, Pavel. Sanace zdrojů hromadného zásobování pitnou vodou o [online]. Praha: VÚMOP, 2016 [cit. 2020-04-16]. ISBN 978-80-87361-61-0. Dostupné z: <https://knihovna.vumop.cz/files/827>
- [5] KOŽÍŠEK, F., ČADEK, V., Léčiva v pitných vodách. In. Pitná voda 2008. České Budějovice: W & ET Team, 2008, s. 77-87. ISBN 978-80-254-2034-8.
- [6] Spotřeba přípravků na ochranu rostlin (POR) a dalších prostředků (DP) a spotřeba účinných látek obsažených v POR a DP. ÚKZÚZ [online]. [cit. 2020-07-22]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/ucinne-latky-vpor-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or>
- [7] HERČÍK, Miloslav a Vojtech DIRNER. Základy environmentalistiky. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2007. ISBN 978-80-248-1392-9.
- [8] HAYES, Wayland J., KRIEGER, Robert, ed. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, Volume 1*. 3. edition. the University of Michigan: Academic Press, 2010. ISBN 978-00-8092-201-0.
- [9] CREMLYN, Richard J. a Reiner SEIFERT. *Pesticidy*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1985.
- [10] HAJŠLOVÁ, Jana, Jana TICHÁ a Vladimír KOCOUREK. Rezidua pesticidů v ovoci a zelenině, možnosti minimalizace. Praha: VŠCHT Praha, 2006. Dostupné také z: [http://www.phytopsanitary.org/projekty/2005/VVF\\_11\\_2005.pdf](http://www.phytopsanitary.org/projekty/2005/VVF_11_2005.pdf)
- [11] Washington State Department of Ecology: Cleanup Levels and Risk Calculations (CLARC). In: *Washington State Department of Ecology* [online]. USA: Washington State Department of Ecology, 2012 [cit. 2020-07-26]. Dostupné z: <https://ecology.wa.gov/Regulations-Permits/Guidance-technical-assistance/Contamination-clean-up-tools/CLARC>
- [12] *Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES a o změně nařízení (ES) č. 1907/2006 (Text s významem pro EHP)*. In: . Brusel: Evropská unie, 2008, L 353/1, 1272/2008. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32008R1272>
- [13] KROISOVÁ, Dora. Biodegradovatelné polymery - úvod do problematiky. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009. ISBN 978-80-7372-468-9
- [14] GREENHALGH, R. DEFINITION OF PERSISTENCE IN PESTICIDE CHEMISTRY. In: INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY [online]. Ontario: Chemistry & Biology Research Institute, Canada, 1980, 2563—2566 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://publications.iupac.org/pac/1980/pdf/5211x2563.pdf>

- [15] PESTICIDY A ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ. In: [Http://dspace.vsb.cz](http://dspace.vsb.cz) [online]. Ostrava: Vysoká škola Báňská - Technická univerzita Ostrava, 2020 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [http://dspace.vsb.cz/bitstream/handle/10084/87012/HRD092\\_HGF\\_B2102\\_3904R022\\_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.vsb.cz/bitstream/handle/10084/87012/HRD092_HGF_B2102_3904R022_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [16] ŠUTA, Miroslav. Chemické látky v životním prostředí a zdraví. 1. vyd. Brno: ZO ČSOP Veronica, 2008. ISBN 978-80-87308-00-4.
- [17] FUSEK, Josef a Vladimír MĚRKA. Nebezpečné herbicidy. Vojenské zdravotnické listy [online]. Hradec Králové: Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně v Hradci Králové, 2003, 72(6), 262-269. [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: [http://www.pmfhk.cz/VZL/VZL6\\_2003/03.pdf](http://www.pmfhk.cz/VZL/VZL6_2003/03.pdf)
- [18] ČSN EN ISO 20079. Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (Lemna minor) - Zkouška inhibice růstu okřehek. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [19] KODEŠ, Vít. Aktuální výsledky celostátního monitoringu výskytu pesticidů v podzemních vodách. In: *Česká společnost rostlinolékařská, z.s.* [online]. ČR: Česká společnost rostlinolékařská, 2017 [cit. 2020-07-22]. Dostupné z: <http://www.rostlinolekari.cz/sites/default/files/2017-11/A>
- [20] *Seznam povolených přípravků a pomocných prostředků na ochranu rostlin.* Praha: Česká společnost rostlinolékařská, 2018. ISBN 978-80-0202782-9.
- [21] PESTICIDY. *Life2water* [online]. ČR: Mamba company, 2014 [cit. 2020-05-05]. Dostupné z: [http://www.life2water.cz/znecistení\\_chemicals.html](http://www.life2water.cz/znecistení_chemicals.html)
- [22] PUBLIC RELEASE SUMMARY on the evaluation of the new active metazachlor in the product Butisan Herbicide. In: *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority* [online]. Austrálie: Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2016, s. 1-53 [cit. 2020-05-07]. ISBN 978-1-925390-60-5. ISSN 1443-1335. Dostupné z: <https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/26306-prs-butisan-herbicide.pdf>
- [23] Úřad pro publikace. Pesticidy v EU – zajištění jejich udržitelného používání. EUR-Lex [online]. Luxembourg: Publications Office, 2016 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/cs/LSU/?uri=CELEX%3A32009L0128&fbclid=IwAR02lj87vLc3\\_wW4u0bJ3X4uodbli3u5NDmAX8pN6wycVFjt7ezaemtKZA\\_g](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/cs/LSU/?uri=CELEX%3A32009L0128&fbclid=IwAR02lj87vLc3_wW4u0bJ3X4uodbli3u5NDmAX8pN6wycVFjt7ezaemtKZA_g)
- [24] Národní akční plán ke snížení používání pesticidů v ČR (2012). Databáze strategií [online]. Praha: Národní síť Zdravých měst ČR, 2012 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://www.databaze-strategie.cz/cz/mze/strategie/narodni-akcni-plan-ke-snizeni-pouzivani-pesticidu-v-ceske-republice?fbclid=IwAR2ni28tR6m9HdprOEX2C-V6IyhXkO8KDSSCJ8GA5-BgIHUXuZC7Zp4sbeY>
- [25] NÁRODNÍ AKČNÍ PLÁN K BEZPEČNÉMU POUŽÍVÁNÍ PESTICIDŮ V ČESKÉ REPUBLICE PRO 2018 - 2022. In: EAGRI [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2019, s. 3-42 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/zivotni-prostredi/udrzitelne-pouzivani-pesticidu/>
- [26] ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon o rostlinolékařské péči. In: . Praha: Sagit, 2019, ročník 2019, 153/2019, číslo 369. Dostupné také z: <https://www.sagit.cz/info/sb19369>

- [27] Registr přípravků na ochranu rostli. EAGRI [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2020 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/>
- [28] DUŠEK, Libor. Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály. Chemické Listy [online]. 2010, 104, 846–854 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010\\_09\\_846-854.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_09_846-854.pdf)
- [29] BENEŠ, Jiří. Pokročilé oxidační procesy - AOP. In: Sborník konference Pitná voda 2008. České Budějovice: W&ET Team, 2008, s. 135–140. ISBN 987-80-254-2034-8.
- [30] LUKESŠ, Petr. Water Treatment by Pulsed Streamer Corona Discharge. Praha: Institute of Plasma Physics, 2001. ISBN 80-902724-6-0.
- [31] DENG, Yang a Renzun ZHAO. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. Current Pollution Reports [online]. 2015, 1(3), 167–176 [cit. 2020-04-16]. ISSN 2198-6592. Dostupné z: doi:10.1007/s40726-015-0015-z
- [32] MAZILLE, Félicien a Dorothee SPUHLER. Advanced Oxidation Processes. 62 Sustainable sanitation and water management [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://www.sswm.info/sswm-university-course/module-6-disaster-situationsplanning-and-preparedness/further-resources-0/advanced-oxidation-processes>
- [33] Classification of advanced oxidation processes. In: ResearchGate [online]. San Francisco: ResearchGate, 2019 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Classification-of-advanced-oxidation-processes\\_fig4\\_280599293](https://www.researchgate.net/figure/Classification-of-advanced-oxidation-processes_fig4_280599293)
- [34] DUCA, Clara. Effect of water matrix on Vacuum UV process for the removal of organic micropollutants in surface water. University of British Columbia, 2015. Thesis/Dissertation. Vancouver : University of British Columbia Library.
- [35] REZAEI, Abbas, Mohammad Taghi GHANEIAN, Sayed Jamalodin HASHEMIAN, Gholamreza MOUSSAVI, Ali KHAVANIN a Ghader GHANIZADEH. Decolorization of Reactive Blue 19 Dye from Textile Wastewater by the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Process. Journal of Applied Sciences [online]. 2008, 8(6), 1108–1112 [cit. 2020-04-16]. ISSN 18125654. Dostupné z: doi:10.3923/jas.2008.1108.1112
- [36] STASINAKIS, A S. Use of Selevtes Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Wastewater Treatment – A Mini Review. Global NEST Journal [online]. 2008, 10(3), 376–385 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: [https://journal.gnest.org/sites/default/files/Journal Papers/376-385\\_598\\_Stasinakis\\_10-3.pdf](https://journal.gnest.org/sites/default/files/Journal Papers/376-385_598_Stasinakis_10-3.pdf)
- [37] MUNTER, Rein. Advanced Oxidation Processes - Current Status and Prospect. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences [online]. 2001, 50(2), 59–80. ISSN 0009286X. Dostupné z: doi:10.1002/9780470561331.ch18
- [38] POYATOS, J. M., M. M. MUÑO, M. C. ALMECIJA, J. C. TORRES, E. HONTORIA a F. OSORIO. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. Water, Air, and Soil Pollution [online]. 2010, 205(1–4), 187–204 [cit. 2020-04-16]. ISSN 0049-6979. Dostupné z: doi:10.1007/s11270-009-0065-1
- [39] KLAVARIOTI, Maria, Dionissios MANTZAVINOS a Despo KASSINOS. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation

- processes. *Environment International* [online]. 2009, 35(2), 402–417 [cit. 2020-04-16]. ISSN 0160-4120. Dostupné z: doi:10.1016/J.ENVINT.2008.07.009
- [40] CALZA, P., V.A. SAKKAS, C. MEDANA, C. BAIOCCHI, A. DIMOU, E. PELIZZETTI a T. ALBANIS. Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO<sub>2</sub> suspensions. *Applied Catalysis B: Environmental* [online]. 2006, 67(3–4), 197–205 [cit. 2020-04-16]. ISSN 0926-3373. Dostupné z: doi:10.1016/J.APCATB.2006.04.021
- [41] Kinetic studies of the AOP radical-based oxidative and reductive destruction of pesticides and model compounds in water. *Chemosphere* [online]. 2018, 2018(197), 193-199 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653517321689>
- [42] MALAKOOTIAN, Mohammad, Armita SHAHESMAEILI, Maryam FARAJI, Hoda AMIRI a Susana Silva MARTINEZ. Advanced oxidation processes for the removal of organophosphorus pesticides in aqueous matrices: A systematic review and meta-analysis. *Process Safety and Environmental Protection* [online]. 2020, (134), 292-307 [cit. 2020-05-07]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0957582019316672>
- [43] Vodní ekotoxikologie. Kiwi.mendelu [online]. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=2301&typ=html](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=2301&typ=html)
- [44] ANDĚL, Petr. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*. Liberec: Evernia, 2011. ISBN 978-80-903787-9-7.
- [45] KOČÍ, V. a K. MOCOŤOVÁ. *Ekotoxikologie pro chemiky*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2009, 199 s. ISBN 978-80-7080-699-9
- [46] Experimentální modely ekotoxicity pro bezobratlé živočichy. In: Informační systém Masarykovy univerzity [online]. Brno: FI MU, 2010 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Bi5620/um/Ekotoxbiotesty-Bezobratli.pdf>
- [47] AMBROŤOVÁ, Jana. *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. 2. vyd., VŠCHT Praha, Praha 2003, 198 s., ISBN 80-70808-521-8.
- [48] SUKOP, Ivo: *Ekologie vodního prostředí*. 1. vyd. Mendelova zemědělská a lesnická fakulta v Brně, 2006. 199 s. ISBN 80-7157-923-8.
- [49] AMBROŤOVÁ, Jana. *Mikroskopické praktikum z hydrobiologie* [online]. 2010 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z www: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-80-7080-496-3/pages-img/obalka-1.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-496-3/pages-img/obalka-1.html)
- [50] SVOBODOVÁ Zdeňka, MÁCHOVÁ Jana a kol. *Ekotoxikologie- praktická cvičení část II*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2000. 134 s. ISBN 80-85114-89-5.
- [51] PROKEŠ, Josef a kolektiv. *Základy toxikologie I.: Obecná toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova, Vydavatelství Karolinum Praha 1, 1997. 165 s. ISBN 80-7184-418-7.
- [52] Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů. [online]. 2009 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z www: [http://www.mzp.cz/osv/edice.nsf/390334EFF595E8B9C1256FC000440F3C/\\$file/Z\\_12ekotoxicita.html](http://www.mzp.cz/osv/edice.nsf/390334EFF595E8B9C1256FC000440F3C/$file/Z_12ekotoxicita.html)

- [53] National Institute of Chemical Physics and Biophysics. Microbiotests for the unspecific toxicity analysis [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z [www: http://www.kbfi.ee/?id=213&lang=eng](http://www.kbfi.ee/?id=213&lang=eng)
- [54] 14[https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.vutbr.cz%2Fwww\\_base%2Fzav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php%3Ffile\\_id%3D30698&psig=AOvWaw1GqSSK0EhDroqEaWix0pzs&ust=1585227605394000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCKCxwpLXtegCFQAAAAAdAAAAABAD](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.vutbr.cz%2Fwww_base%2Fzav_prace_soubor_verejne.php%3Ffile_id%3D30698&psig=AOvWaw1GqSSK0EhDroqEaWix0pzs&ust=1585227605394000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCKCxwpLXtegCFQAAAAAdAAAAABAD)
- [55] Common Duckweed: *Lemna minor* [online]. United Kingdom: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources., 2018 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <https://www.iucnredlist.org/species/164057/120125670>
- [56] Okřehek malý - *Lemna minor*. Shrimp.cz [online]. Slovensko: Ondrej Svoboda, 2020 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <https://www.shrimp.cz/lemna-minor>
- [57] TARALDSEN, James E. a Teresa J. NORBERG-KING. New method for determining effluent toxicity using duckweed (*Lemna Minor*). In: Society of Environmental Toxicology and Chemistry [online]. USA: Wiley, 1990, s. 761-767 [cit. 2020-04-29]. DOI: 10.1002/etc.5620090610. Dostupné z: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/etc.5620090610>
- [58] SVOBODOVÁ, Zdeňka. Ekotoxikologie: praktická cvičení. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2000. ISBN 80-851-1495-X.
- [59] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. Aplikovaná a technická hydrobiologie. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-708-0521-8.
- [60] ČSN EN ISO 20079. Jakost vod - Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (*Lemna minor*) - Zkouška inhibice růstu okřehku. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [61] Effects of dietary exposure to herbicide and of the nutritive quality of contaminated food on the reproductive output of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* [online]. 2016, **187**, 1-7 [cit. 2020-07-29]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166445X16302260>
- [62] Effects of the herbicide metazachlor on macrophytes and ecosystem function in freshwater pond and stream mesocosms. *Aquatic Toxicology* [online]. 2007, **84**(2), 73-84 [cit. 2020-07-29]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166445X07000550>

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

FAO	Food and Agriculture Organization
WHO	The World Health Organization
KOC	Adsorpční koeficient
CHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
ER50	Účinná dávka, 50 %
NOEL	Úroveň bez pozorovaného účinku
HC5	Koncentrace ohrožující 5 % vystavených organismů
EU	Evropská unie
EP	Evropský parlament
NAP	Český národní akční
AOP	Advanced Oxidation Processes
OH•	Hydroxylový radikál
UV	Ultrafialové záření
EED	Electrical Energy Dose
EEO	Electrical Energy Order
VUV	Vakuové ultrafialové záření
C*	Excitovaný uhlík
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxid vodíku
TiO <sub>2</sub>	Oxid titaničitý
EC50	Efektivní koncentrace pro inhibici 50% testovaných organismů
IC50	Inhibiční koncentrace pro 50% testovaných organismů
$\mu$	Růstová rychlost
$N_n$	Počet lístků na konci
$N_0$	Počet lístků na začátku testování
$t_n$	Doba testování
$I_\mu$	Inhibice
$\mu_c$	Růstová rychlost
$\mu_i$	Růstová rychlost pro danou koncentraci
CH	Chloridazon
M	Metazachlor
%	Procenta