VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STAVEBNÍ
FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

ÚSTAV CHEMIE
INSTITUTE OF CHEMISTRY

CHOVÁNÍ PESTICIDNÍCH LÁTEK ZA DENITRIFIKAČNÍCH PODMÍNEK
BEHAVIOUR OF PESTICIDES UNDER DENITRIFYING CONDITIONS

TEZE DIZERTAČNÍ PRÁCE
DOCTORAL THESIS – SHORT VERSION

AUTOR PRÁCE Ing. KRISTÍNA PASTOREK PÁNIKOVÁ
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE doc. Ing. JITKA MALÁ, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2024

KLÍČOVÁ SLOVA
Denitrifikace, adsorpce, biochemický rozklad, metodika testování, inhibice, alachlor, atrazin, terbuthylazin, tebuconazol, metolachlor

KEYWORDS
Denitrification, adsorption, biochemical decomposition, methodology of testing, inhibition, alachlor, atrazine, terbuthylazine, tebuconazole, metolachlor

MÍSTO ULOŽENÍ RUKOPISU
Vysoké učení technické v Brně
Fakulta stavební – Ústav Chemie
Veveří 331/95
602 00 Brno

OBSAH

1 ÚVOD 1

2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE 1

3 VÝVOJ A OPTIMALIZACE METODIKY 2

3.1 Princip testu 2

3.2 Optimalizace metodiky 4

3.2.1 Krátkodobý test 4

3.2.2 Dlouhodobý test 6

3.3 Navržená metodika testu 8

3.3.1 Postup krátkodobého testu 8

3.3.2 Postup dlouhodobého testu 9

4 PESTICIDNÍ LÁTKY ZA DENITRIFIKAČNÍCH PODMÍNEK 10

4.1 Terbuthylazin 10

4.1.1 Podmínky denitrifikace 10

4.1.2 Inhibice procesu denitrifikace 11

4.1.3 Chování terbuthylazinu během procesu denitrifikace 12

4.2 Tebuconazol 13

4.2.1 Podmínky denitrifikace 13

4.2.2 Inhibice procesu denitrifikace 13

4.2.3 Chování tebuconazolu během procesu denitrifikace 14

4.3 Alachlor 15

4.3.1 Podmínky denitrifikace 15

4.3.2 Inhibice procesu denitrifikace 16

4.3.3 Chování alachloru během procesu denitrifikace 17

4.4 Metolachlor 17

4.4.1 Podmínky denitrifikace 17

4.4.2 Inhibice procesu denitrifikace 18

4.4.3 Chování metolachloru během procesu denitrifikace 19

4.5 Atrazin 20

4.5.1 Podmínky denitrifikace 20

4.5.2 Inhibice procesu denitrifikace 21

4.5.3 Chování atrazinu během procesu denitrifikace 21

4.6 Souhrné porovnání testovaných pesticidů 22

5 ZÁVĚR 23

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ 24

SEZNAM ODBORNÉ AKTIVITY AUTORA 26

ŽIVOTOPIS AUTORA 28

ABSTRACT 29

1 ÚVOD

S vývojem civilizace se snažili lidé zlepšovat podmínky pro život a hledali způsoby, jak získat co nejvíce úrody. Pro potlačení chorob a škůdců se už od starověku požívaly různé chemikálie jako je například síra. Největší rozvoj v tomto odvětví byl zaznamenán v minulém století, kdy se začaly používat tzv. syntetické pesticidy na ochranu rostlin, zejména organochlorové pesticidy a organofosfáty. Používání moderních pesticidních látek však přineslo i nebezpečí pro necílové organizmy, ekosystémy a obyvatelstvo. Zlepšování postupů detekce a dlouhodobý monitoring umožňují sledovat dopad těchto látek na živé organizmy.

Zdrojem pesticidních látek jsou především zemědělsky využívané oblasti. V těchto oblastech se spolu s pesticidy používají také dusíkatá hnojiva, která jsou zdrojem dusičnanů v půdě. Dusík je důležitým prvkem pro všechny organizmy, jejich růst a životaschopnost. Prostřednictvím smyvů z polí se však voda kontaminovaná dusičnany a pesticidy dostává ve zvýšených koncentracích do vod povrchových a průsakem do vod podzemních. Ve vodním prostředí se rezidua pesticidních látek mohou stát prekurzory pro vznik nebezpečných látek s vyšší toxicitou a nadbytek dusíku způsobuje problémy s eutrofizací povrchových vod a kvalitou podzemní vody. Voda je nezbytná pro život a její kontaminace těmito látkami představuje zdravotní riziko pro organizmy. Problém představuje zejména vysoká perzistence některých skupin pesticidních látek – až několik desítek let. Za dobu jejich existence, než dojde k jejich rozkladu, jsou tedy vystaveny různým prostředím, abiotickým a biotickým podmínkám. V podzemních vodách, které jsou hlavním zdrojem pitné vody, jsou typické anoxické podmínky a dochází zde k redukci dusičnanů na dusík prostřednictvím procesu denitrifikace. Chování pesticidních látek za denitrifikačních podmínek nebylo dosud plnohodnotně prozkoumáno. Tyto látky mohou být inhibitory denitrifikace, tvořit v těchto podmínkách prekurzory nebo se naopak v anoxickém prostředí redukovat.

2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

Cílem dizertační práce je výzkum chování a osudu pesticidních látek za denitrifikačních podmínek a jejich vlivu na proces denitrifikace.

Práce obsahuje podrobnou rešeršní část, vývoj a optimalizaci vlastní metodiky pro krátkodobé a dlouhodobé testování pesticidních látek. Jednotlivé parametry obou navržených metodik jsou optimalizovány pomocí série laboratorních testů. Vybrané pesticidy, zejména triazinové herbicidy a fungicidy, byly pomocí vyvinutých metodik testovány. Výstupem je metodika pro testování xenobiotik za denitrifikačních podmínek, výsledky testování vybraných pesticidních látek,

hodnocení jejich vlivu na průběh denitrifikačního procesu a jejich chování v těchto podmínkách.

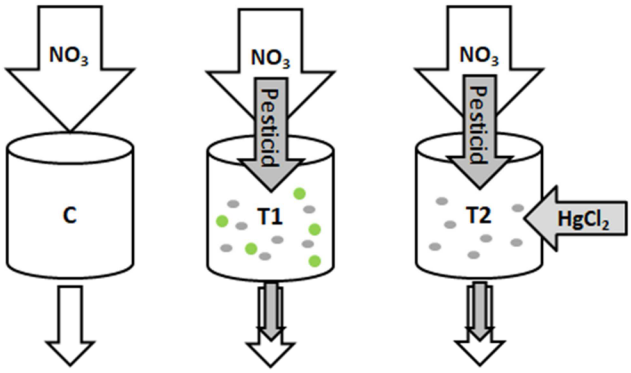
3 VÝVOJ A OPTIMALIZACE METODIKY

Před zahájením výzkumu a dizertační práce neexistoval standardizovaný test, kterým by bylo možné zkoumat chování a osud pesticidů během denitrifikace. Nejdříve byla vyvinuta a pomocí série laboratorních testů optimalizována metodika testování, následně byly touto metodikou testovány vybrané pesticidní látky.

3.1 PRINCIP TESTU

Testy jsou založeny na porovnání rychlostí denitrifikace a koncentrace testovaného pesticidu ve třech paralelních vzorcích (Obr. 3.1): Všechny testované pesticidy mají nízkou rozpustnost ve vodě, a proto jsou rozpuštěny v metanolu a poté dávkovány do vzorků.

1. T1 – Probíhá denitrifikace, biodegradace testované látky a její adsorpce na dřevní štěpku. Vzhledem k obvykle nízké rozpustnosti pesticidů ve vodě je do vzorku testovaná látka dávkován jako roztok v metanolu.
2. T2 – U tohoto vzorku biologické procesy neprobíhají, denitrifikace je inhibována. Probíhá pouze adsorpce testované látky na dřevěné hobliny. Jako inhibitor byl zvolen chlorid rtuťnatý, který se prokázal jako vhodný v průběhu vývoje a optimalizace metodiky. Pesticid je do vzorku dávkován jako roztok v metanolu.
3. C (kontrola) – V tomto vzorku probíhá proces denitrifikace bez jakéhokoliv ovlivnění. Pesticid se do vzorku T1 a T2 dávkuje jako roztok v metanolu. Metanol je látka podporující denitrifikační proces, proto je do kontroly C přidán stejný objem čistého metanolu, aby nedošlo k ovlivnění výsledků.



	C	T1	T2
Odstranění dusičnanů	Vysoké	Ovlivněné	Ne
Rozklad pesticidu	-	Ano	Ne
Adsorpce pesticidu	-	Ano	Ano

Obr. 3.1 Schéma principu testů (Pániková a kol., 2023a, upraveno)

Vliv testovaného pesticidu na denitrifikační proces *INH(den)* je hodnocen pomocí rozdílu rychlostí denitrifikace r_D ve vzorcích C a T1 takto:

$$INH(den) = \frac{r_D(\mathrm{C}) - r_D(\mathrm{T1})}{r_D(\mathrm{C})} * 100\ [\%] \qquad (1)$$

Rychlost denitrifikace r_D se vypočítá jako:

$$r_D = \frac{c(\mathrm{N-NO_X})_{\mathrm{init}} - c(\mathrm{N-NO_X})_{\mathrm{end}}}{\mathrm{n}}\ [\mathrm{mg/l/d}] \qquad (2)$$

kde, $c(\mathrm{N\text{-}NO_X})_{\mathrm{init}}$ je počáteční koncentrace $\mathrm{N\text{-}NO_X}$, $c(\mathrm{N\text{-}NO_X})_{\mathrm{end}}$ je koncová koncentrace
$\mathrm{N\text{-}NO_X}$, a n je doba trvání testu vyjádřená ve dnech. Úbytek testovaného pesticidu ve vzorku T1, $D(\mathrm{xen})_{\mathrm{tot}}$, odpovídá celkové ztrátě (biotická ztráta + abiotická ztráta):

$$D(\mathrm{xen})_{\mathrm{tot}} = c(\mathrm{xen})_{1\ \mathrm{init}} - c(\mathrm{xen})_{1\ \mathrm{end}}\ [\mathrm{\mu g/l}] \qquad (3)$$

kde, $c(\mathrm{xen})_{1\mathrm{init}}$ a $c(\mathrm{xen})_{1\mathrm{end}}$ jsou počáteční a koncová koncentrace testovaného pesticidu ve vzorku T1. Abiotický úbytek testované látky ($D(\mathrm{xen})_{\mathrm{abio}}$) je vypočten pomocí vzorku T2:

$$D(\mathrm{xen})_{\mathrm{abio}} = c(\mathrm{xen})_{2\ \mathrm{init}} - c(\mathrm{xen})_{2\ \mathrm{end}}\ [\mathrm{\mu g/l}] \qquad (4)$$

kde, $c(\mathrm{xen})_{2\mathrm{init}}$ a $c(\mathrm{xen})_{2\mathrm{end}}$ jsou počáteční a koncová koncentrace testovaného pesticidu ve vzorku T2. Biotický úbytek ($D(\mathrm{xen})_{\mathrm{bio}}$) lze vypočítat jako rozdíl mezi celkovým a abiotickým úbytkem:

$$D(\mathrm{xen})_{\mathrm{bio}} = D(\mathrm{xen})_{\mathrm{tot}} - D(\mathrm{xen})_{\mathrm{abio}}\ [\mathrm{\mu g/l}] \qquad (5)$$

3.2 OPTIMALIZACE METODIKY

3.2.1 Krátkodobý test

V rámci vývoje metodiky krátkodobého testu byly optimalizovány následující parametry:

1. Koncentrace rozpuštěného kyslíku:
   - Předběžné testy – probubláno argonem a neprobubláno (počet opakování 1; 50 g topolové štěpky; počáteční koncentrace N-NO_3 20 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 0 g/l)
   - Probubláno argonem a neprobubláno (počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; počáteční koncentrace N-NO_3 15 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l)
2. Počáteční koncentrace N-NO_3:
   - 15, 20, 25, 30 a 40 mg/l (počet opakování 2; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; dávka $NaHCO_3$ 3 g/l)
3. Navážka topolových hoblin:
   - Předběžný test 25 g/l (počet opakování 5; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; počáteční koncentrace N-NO_3 30 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 3 g/l)
   - 7,5, 12,5 a 25 g/l (počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; počáteční koncentrace N-NO_3 15 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l)
4. Frakce topolových hoblin:
   - 0,5–1,0 cm and 1,0–1,5 cm (počet opakování 4; navážka hoblin 12,5 g/l; počáteční koncentrace N-NO_3 20 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 3 g/l)
5. Dávka $NaHCO_3$:
   - 0,5 a 3,0 g/l (počet opakování 4; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; počáteční koncentrace N-NO_3 30 mg/l)

Ve všech testech byly použity skleněné lahve naplněné 2 litry deionizované vody. V průběhu experimentů byly vzorky inkubovány v termostatu při T = 20 ± 0,5 °C bez přístupu světla.

Optimální podmínky byly vybrány s ohledem na následující požadavky: rychlost denitrifikace r_D, variabilita výsledků, zákal, $CHSK_{Cr}$, pH, rozpuštěný kyslík. Uvedené požadavky jsou podrobně rozepsány v dalších kapitolách.

Ad 1. Médium a koncentrace rozpuštěného kyslíku

Vhodný výběr media ovlivňuje reprodukovatelnost výsledků. Pitná voda nemá vždy shodné parametry kvality v čase, naopak deionizovaná voda (DIW) ano. Jako médium byla dle předběžných pokusů zvolena deionizovaná voda, která umožňuje konzistentní výsledky.

Proces denitrifikace probíhá v anoxických podmínkách. Hodnota rozpuštěného kyslíku, která může inhibovat denitrifikaci se pohybuje v širokém rozmezí od 0,19 do 2 mg/1 (Wilson a Bouwer, 1997). Na začátku testu byl v kapalné fázi přítomen rozpuštěný kyslík a v lahvích byl vzduch. Za účelem urychlení stimulace vzniku anoxických podmínek se v literatuře navrhuje probublání argonem nebo heliem (Ilhan a kol., 2011; Chen a kol., 2021; Hou a kol., 2015).

Z naměřených výsledků během experimentů plyne, že probublání argonem nemá významný vliv na denitrifikační proces, denitrifikace probíhala, i když byla na začátku testu vysoká hodnota rozpuštěného kyslíku. Probublání argonem tedy není nutné, ale zařazujeme ho do metodiky testování pro co nejrychlejší nastolení optimálních anoxických podmínek během testů.

Ad 2. Počáteční koncentrace dusičnanů

Počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$ je potřeba upravit podle množství dřevěných hoblin tak, aby zákal zůstal nízký a poměr CHSK/N zajistil dostatečně vysoké rychlosti denitrifikace. Podle Lahdhiri a kol. (2017) je minimální poměr CHSK/N pro úplnou denitrifikaci v rozmezí 3,5 až 5. Nízké rychlosti denitrifikace mohou být důsledkem nízkého (<3,5) poměru CHSK/N (tj. z vysoké koncentrace $N\text{-}NO_3$ v poměru k malému množství dřevěných hoblin, což má za následek omezení nedostatkem uhlíku), anebo poměrem CHSK/N o mnoho vyšším než 5. Ve druhém případě musí počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$ zajistit denitrifikaci během sedmi-denního testu, aniž by byl $N\text{-}NO_3$ vyčerpán (omezení nedostatkem $N\text{-}NO_3$). Kromě toho musí být změny koncentrace $N\text{-}NO_X$ nad mezí stanovitelnosti příslušné laboratoře. Naše laboratoř má mez stanovitelnosti pro stanovení $N\text{-}NO_X$ 1 mg/l, minimální požadovanou rychlost denitrifikace byla nastavena na 1,5 mg/l $N\text{-}NO_X$ za 7 dní, což je 0,21 mg/l/d $N\text{-}NO_X$. V neposlední řadě bylo cílem experimentů také stanovit výchozí koncentraci $N\text{-}NO_3$ s ohledem na reálnou situaci, např. odpadní voda, odtoky ze zemědělsky využívaných ploch atd.

Při experimentech bylo zjištěno, že počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$ by měla být zvolena v rozmezí přibližně 15 až 30 mg/l. Pro krátkodobý test byla zvolena koncentrace 30 mg/l, která zajistí denitrifikační podmínky po požadovanou dobu testu (7 dní) a nedochází k výraznému skokovému nárůstu $N\text{-}NO_X$ v prvních dnech testu.

Ad 3. a 4. Navážka a frakce topolových hoblin

Dřevěné hobliny uvolňují organické látky, které slouží jako donor elektronů během procesu denitrifikace (Zhao a kol., 2020), volba vhodné hmotnosti a frakce ovlivňuje hodnotu $CHSK_{Cr}$ a také variabilitu a reprodukovatelnost výsledků.

Na základě vyhodnocení výsledků $CHSK_{Cr}$, zákalu a pH byla vyhodnocena jako nejlepší dávka 12,5 g/l topolových hoblin. Volba frakce hoblin výsledky významně neovlivní, pro metodiku byla zvolena vyšší frakce (1,0-1,5 cm) z důvodu menšího zhutnění na dně lahví při testu a pohodlnější manipulace.

Ad 5. Dávka $NaHCO_3$

Optimální pH pro denitrifikaci leží podle literatury mezi 7 a 8 (Tate, 2000; Pitter, 2015). Pokles pH způsobuje zvýšení podílu nedisociované HNO_2 (meziprodukt denitrifikace) z celkového $N\text{-}NO_2$. Vhodná dávka $NaHCO_3$ slouží jako pufrační činidlo pro udržení pH příznivého pro denitrifikaci.

Dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l se ukázala jako nevhodnější, nedocházelo k akumulaci dusitanů, pH bylo v optimálním rozmezí a byla zaznamenaná lepší průměrná denitrifikační rychlost. (1,34 ± 0,09 mg/l/d).

3.2.2 Dlouhodobý test

Delší časový horizont testu přináší řadu rizik, která mohou vést k narušení denitrifikačního prostředí. Především, pokud jsou vyčerpány dusičnany, dojde k zastavení denitrifikačního procesu a k nárůstu koncentrace kyslíku, proto musí být zvolena dostatečná dávka KNO_3. Z topolových hoblin se během testu uvolňují organické látky kyselého charakteru, které ovlivňují pH, je proto nutné zvolit dávku pufračního činidla $NaHCO_3$ tak, aby během pokusu nedocházelo ke zvyšování nebo snižování hodnoty pH mimo optimum a tím k narušení procesu denitrifikace.

Při optimalizaci dlouhodobého testu byly aplikovány poznatky z vývoje krátkodobého testu a pro ověření a nastavení metodiky byly provedeny následující testy:

1. Počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$:
    - 15 a 30 mg/l (inkubace 7 dní; počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l)
    - 2 testy 15 mg/l (inkubace 28 dní; počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; dávka $NaHCO_3$ 2 g/l)
2. Dávka $NaHCO_3$:

- 0, 0,5, 1,0 a 2,0 g/l (inkubace 21 dní; počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; počáteční koncentrace N-NO_3 15 mg/l)

3. Koncentrace $HgCl_2$:
   - 1,9 ml/l nasyceného roztoku $HgCl_2$ (koncentrace ve vzorku: 123,5 mg/l) (inkubace 28 dní, počet opakování 3; frakce topolových hoblin 1,0-1,5 cm; navážka hoblin 12,5 g/l; počáteční koncentrace N-NO_3 15 mg/l; dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l)

Při vyhodnocování optimálních podmínek pro dlouhodobý test byl brán ohled na shodné požadavky jako při optimalizaci krátkodobého testu.

Ad 1. Počáteční koncentrace dusičnanů

Pro udržení denitrifikace po celou dobu trvání dlouhodobého 28denního testu by byla zapotřebí vysoká počáteční dávka N-NO_3. Výsledky předběžných krátkodobých testů ukázaly, že ani koncentrace 40 mg/l by pro dlouhodobý test nebyla dostatečná. Dávka 50 mg/l a více není v přírodních podmínkách běžná a také by musela být této dávce přizpůsobená navážka hoblin, tak aby proces nebyl omezen nedostatkem uhlíku (splněný poměr CHSK/N). Vzhledem k těmto limitním faktorům byl dlouhodobý test navržen tak, že se koncentrace N-NO_3 v pravidelných intervalech periodicky doplňuje a tím se zajistí, že proces denitrifikace není omezen koncentrací N-NO_3.

S ohledem na dosažené výsledky byla pro dlouhodobý test nastavena počáteční koncentrace N-NO_3 15 mg/l s dodávkováním každých 7 dní v průběhu 28denního testu.

Ad 2. Dávka $NaHCO_3$

Během dlouhodobého testu by mohlo dojít k vyluhování většího množství kyselých látek z topolových hoblin než v průběhu krátkodobého testu, což by mohlo negativně ovlivnit pH. Z tohoto důvodu byly testovány čtyři různé koncentrace $NaHCO_3$: 0, 0,5, 1 a 2 g/l po dobu 21 dnů.

Dávka $NaHCO_3$ 0,5 g/l se ukázala jako nejvhodnější, nedocházelo k akumulaci dusitanů, pH bylo v optimálním rozmezí a byla zaznamenaná stabilnější průměrná denitrifikační rychlost (1,34 ± 0,09 mg/l/d).

Ad 3. Koncentrace $HgCl_2$

Aby mohl být stanovený pouze abiotický úbytek pesticidní látky během krátkodobého a dlouhodobého testu, je zapotřebí ve vzorku zastavit biochemické procesy. K inhibici biologických procesů lze použít různé látky, jako je například

azid sodný (Michel a kol., 2021). Při zkoušce inhibice spotřeby kyslíku aktivovaným kalem při oxidaci uhlíkatých látek a amoniakálního dusíku je úspěšně používán inhibitor chlorid rtuťnatý $HgCl_2$ (ISO 8192:2007). Rtuť je jedním z nejtoxičtějších kovů (Silva a kol. 2010), a proto byl zvolený pro metodiku testování nasycený roztok $HgCl_2$.

Nízká dávka inhibitoru na začátku testu by nemusela stačit na úplnou inhibici a proces denitrifikace by mohl dále probíhat. Pravděpodobně by proces probíhal při nízkých denitrifikačních rychlostech, ale i to by ovlivnilo celkový výsledek testu. Naopak vysoké dávky $HgCl_2$ zbytečně zvyšují celkový objem suspenze v lahvi. Z těchto důvodů byl zkoumán vliv koncentrace Hg na proces denitrifikace v průběhu jednoho měsíce. 1,9 ml/l nasyceného roztoku $HgCl_2$ bylo nadávkováno do 2l lahví spolu se 2 litry DIW, 12,5 g/l topolových hoblin (frakce 1,0-1,5 cm), počáteční koncentrací N-NO_3 15 mg/l a 0,5 g/l $NaHCO_3$. Experiment byl proveden ve třech opakováních, koncentrace Hg byla měřena každých 7 dní.

Z naměřených dat vyplývá, že v prvních třech týdnech testu byla denitrifikace dostatečně inhibována. Je pravděpodobně, že v posledním týdnu je koncentrace rtuti v roztoku už tak nízká, že by proces denitrifikace v dalších týdnech začal probíhat. Avšak pro krátkodobý a dlouhodobý test je dávka 1,9 ml/l dostatečná.

3.3 NAVRŽENÁ METODIKA TESTU

3.3.1 Postup krátkodobého testu

Každá skupina vzorků (C, T1, T2) je provedena ve čtyřech opakováních, celkem tedy 12 lahví na test.

Do každé lahve se odváží 25 g topolových hoblin frakce 1,0 – 1,5 cm. Poté je přidáno 2000 ml deionizované vody (DIW), která je obohacena o KNO_3 a $NaHCO_3$. Koncentrace
N-NO_3 v roztoku je 30 mg/l a $NaHCO_3$ 0,5 g/l. Obsah každé lahve se probublá argonem, až koncentrace rozpuštěného kyslíku O_2 klesne pod 0,5 mg/l. Lahve se následně uzavřou a inkubují v termostatu při $T = 20 \pm 0{,}5$ °C bez přístupu světla.

Po uplynutí 48 hodin se lahve otevřou a v každé se změří pH, koncentrace O_2 a odebere se 25 ml vzorku pro stanovení koncentrace N-NO_X. Poté se lahve rozdělí do tří typů vzorků a jsou přidána činidla podle tabulky 3.1. Po smíchání se odebere 10 ml kapalné fáze ze vzorků T1 a T2. Tyto vzorky se zakonzervují pomocí metody solid phase extraction (SPE) a poté je stanovena počáteční koncentrace pesticidu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Lahve se uzavřou a inkubují při T = 20 ± 0,5 °C ve tmě.

Tab. 3.1 Rozdělení vzorků

Vzorek	Činidla přidána po 48 hodinách, na litr vzorku
C	0,1 ml metanolu; 1,9 ml DIW
T1	0,1 ml testovaného pesticidu (konc.: 1000 mg l/l v metanolu); 1,9 ml DIW
T2	0,1 ml testovaného pesticidu (konc.: 1000 mg l/l v metanolu) + 1,9 ml nasyceného roztoku $HgCl_2$ (konc. ve vzorku: 123,5 mg/l)

Po sedmi dnech od přidání pesticidu je krátkodobý test ukončen. Ihned po otevření všech lahví se odebere 10 ml kapalné fáze ze vzorků T1 a T2 pomocí skleněné pipety. Tyto vzorky se zakonzervují pomocí SPE metody a následně jsou podrobeny HPLC analýze pro stanovení koncové koncentrace testovaného pesticidu. V roztoku v lahvích se změří koncentrace O_2 a pH, poté se odebere potřebné množství na analýzu $CHSK_{Cr}$. Zbývající vzorek se vyčiří a přefiltruje přes filtrační papír pro kvalitativní analýzu KA2 (mesh 8 μm). V supernatantu se stanoví koncentrace N-NO_2, N-NO_X.

3.3.2 Postup dlouhodobého testu

Založení dlouhodobého testu je shodné s postupem krátkodobého testu (kapitola 3.3.1), každý vzorek (C, T1, T2) je proveden ve čtyřech opakováních. Testy se liší pouze v počáteční koncentraci N-NO_3, u dlouhodobého testu je koncentrace 15 mg/l.

Po 7, 14 a 21 dnech je vždy odebráno 25 ml kapalného média pro analýzu NO_X-N. Po stanovení koncentrace N-NO_X je ve vzorcích C a T1 dopočtena potřebná dávka V_{req} roztoku KNO_3 podle vzorce (18) tak, aby byla koncentrace dusičnanů identická s počáteční hodnotou N-NO_3 15 mg/l. Určená dávka roztoku KNO_3 se nadávkuje do vzorků C a T1, které se poté uloží zpátky do termostatu.

Dlouhodobý test se ukončí po 28 dnech stejným postupem jako krátkodobý test (kapitola 3.3.2).

Výpočet dávky KNO_3 pro doplnění dusičnanů každých sedm dní do vzorků C a T1:

$$V_{\mathrm{req}} = \frac{c(\mathrm{NO_X{-}N})_{\mathrm{req}} * (V_{\mathrm{init}} - V_{\mathrm{tak}} + V_{\mathrm{add}}) - c(\mathrm{NO_X{-}N})_{\mathrm{init}} * (V_{\mathrm{init}} - V_{\mathrm{tak}} + V_{\mathrm{add}})}{c(\mathrm{KNO_3})_{\mathrm{add}} - c(\mathrm{NO_X{-}N})_{\mathrm{req}}} \ [\mathrm{mL}] \qquad (6)$$

kde, $c(NO_X\text{-}N)_{req}$ je požadovaná koncentrace NO_X v lahvi; V_{init}, V_{tak} a V_{add} jsou počáteční objem, objem odebraný z lahve a objem přidaný do lahve; $c(KNO_3)_{add}$ je koncentrace přidaného roztoku KNO_3.

Při dávkování KNO_3 do lahví dochází k naředění pesticidu ve vzorku T1. Pro porovnání vzorků T1 a T2 mezi sebou se koncentrace pesticidu ve vzorku T1 musí přepočítat:

$$c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{end}} = c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{end\,m}} * (1 + \mathrm{Dil})\ [\mathrm{ng/ml}] \tag{7}$$

$$Dil = 1 - \frac{c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{Dil}}}{c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{init}}}\ [\%] \tag{8}$$

$$c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{Dil}} = \frac{(V_{\mathrm{init}} - V_{\mathrm{tak}} + V_{\mathrm{add}}) * c(\mathrm{xen})_{1\,\mathrm{init}}}{(V_{\mathrm{init}} - V_{\mathrm{tak}} + V_{\mathrm{add}} + V_{\mathrm{KNO3}})}\ [\mathrm{ng/ml}] \tag{9}$$

kde, $c(\mathrm{xen})_{1\mathrm{end\ m}}$ je naměřená koncentrace pesticidu na konci testu; *Dil* je faktor ředění; $c(\mathrm{xen})_{1\mathrm{Dil}}$ a $c(\mathrm{xen})_{1\mathrm{init}}$ je naředěná koncentrace pesticidu a koncentrace počáteční; V_{init}, V_{tak}, V_{add} a V_{KNO3} jsou počáteční objem, objem odebraný z lahve, objem přidaný do lahve a objem přidaného roztoku KNO_3.

4 PESTICIDNÍ LÁTKY ZA DENITRIFIKAČNÍCH PODMÍNEK

Pomocí navržené metodiky krátkodobého a dlouhodobého testu byly testovány vybrané pesticidní látky: atrazin (ATR), alachlor (ALA), terbuthylazin (TER), tebuconazol (TEB), metolachlor (MET). U každého testu byly vyhodnoceny podmínky procesu denitrifikace, pomocí testování hypotéz byl posouzen inhibiční nebo stimulační efekt a bylo vyhodnoceno chování pesticidu během testu.

4.1 TERBUTHYLAZIN

4.1.1 Podmínky denitrifikace

Na konci všech tří testů s TER byly naměřené hodnoty pH ve všech vzorcích v optimálním rozmezí. Při porovnání počátečních a koncových hodnot došlo u všech vzorků k mírnému poklesu pH.

Průměrné hodnoty $CHSK_{Cr}$ na konci krátkodobých testů dosahovaly hodnoty nad 200 mg/l, u vzorků T2, kde denitrifikace neprobíhala, byly hodnoty mírně vyšší (330 ± 20 mg/l). U dlouhodobého testu $CHSK_{Cr}$ poklesla na průměrné hodnoty 130 ± 20 mg/l ve vzorku C a na 120 ± 30 mg/l ve vzorku T1. Podobně jako u krátkodobých testů byly hodnoty ve vzorku T2 vyšší.

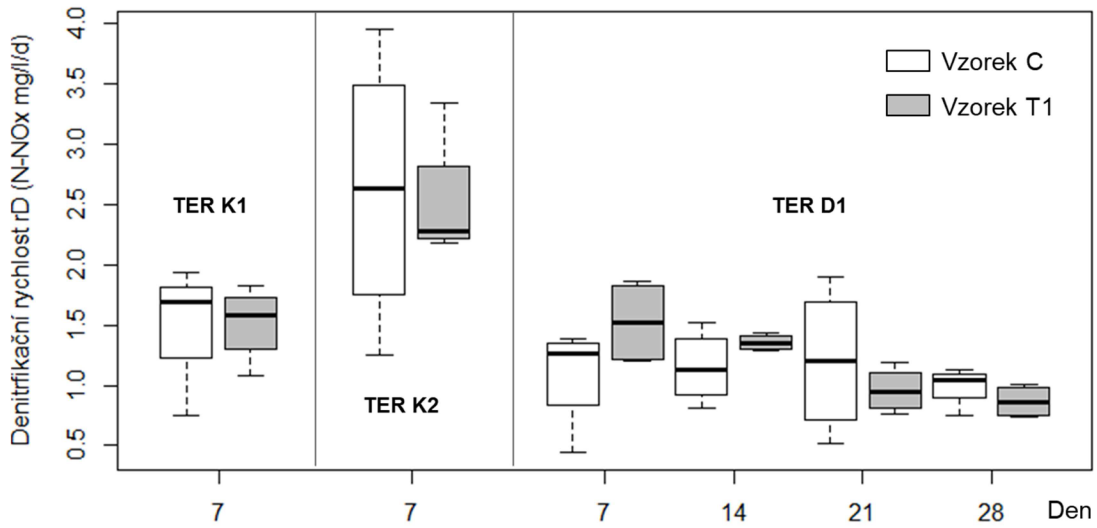
Hodnoty rozpuštěného kyslíku změřené po 48 hodinách, před nadávkováním pesticidu, byly ve všech vzorcích <0,5 mg/l. Po ukončení obou krátkodobých testů byly ve vzorcích C a T1 zaznamenány nízké hodnoty rozpuštěného kyslíku (<0,5 mg/l), které jsou vhodné pro proces denitrifikace (Pitter, 2015; Oh a Silverstein, 1999). Naopak u inhibovaných vzorků T2 byla koncentrace O_2 vyšší, u TER K1 4,91 ± 0,81 mg/l a u TER K2 1,68 ± 0,97 mg/l, denitrifikace zde neprobíhala. Na konci testu TER D1 byly stanoveny hodnoty O_2 >0,5 mg/l ve všech třech vzorcích.

Toto neočekávané zvýšení koncentrací O_2 u vzorků C a T1 bylo pravděpodobně způsobeno otevíráním a zavíráním lahví každých 7 dní během experimentu. Výzkumy aktivovaného kalu také ukázaly, že koncentrace rozpuštěného kyslíku uvnitř vloček kalu je nižší než celková koncentrace O_2 v roztoku (Daigger a kol. 2007). Lze tedy předpokládat, že proces denitrifikace nebyl v inkubačních lahvích rozložen rovnoměrně, nižší rychlosti byly ve vodním sloupci a vyšší rychlosti v mikropórech hoblin, kde mohly převládat anoxické podmínky.

Koncentrace dusitanů na konci každého testu byly nízké s výjimkou vzorku T2 (1,51 mg/l) u testu TER D1. Vysoké průměrné koncentrace dusitanů u tohoto vzorku mohly být důsledkem redukce dusičnanů během 48hodinové počáteční fáze před přidáním chloridu rtuťnatého a zastavením biologických procesů.

4.1.2 Inhibice procesu denitrifikace

Porovnání vzorků C a T1 všech tří testů je zobrazeno na obr. 4.1. V průběhu krátkodobého testu TER K1 byly naměřeny nižší průměrné rychlosti než u testu TER K2, u C 1,46 ± 0,51 mg/l/d a u T1 1,52 ± 0,28 mg/l/d. Během testu TER K2 byla průměrná rychlost u vzorku C 2,62 ± 1,00 mg/l/d a u T1 2,52 ± 0,48 mg/l/d. TER D1 měl průměrné rychlosti porovnatelné s krátkodobým testem TER K1 během prvních dvou týdnů. Po 3 a 4 týdnech testu TER D1 došlo k mírnému poklesu denitrifikační rychlosti.



Obr. 4.1 Porovnání rychlostí denitrifikace v průběhu testů ve vzorcích C a T1 (10., 25., 50., 75. a 90. Percentil; n = 4)

Výsledky byly vyhodnoceny pomocí Welchova dvouvýběrového t-testu. U obou sedmidenních testů TER K1 a TER K2 byla výsledná *p* hodnota vysoká; 0,8990 a 0,8874. Po 7, 14 a 28 dnech dlouhodobého testu byla *p* hodnota výrazně nižší než u krátkodobých testů, ale neklesla pod hodnotu 0,05. V třetím týdnu TER D1 byla

vypočítaná *p* hodnota vyšší 0,8575. Ani u jednoho z testů tedy nelze zamítnout hypotézu H0 (p >0,05), stimulační ani inhibiční efekt TER se neprokázal.

4.1.3 Chování terbuthylazinu během procesu denitrifikace

Při vyhodnocování chování TER byly porovnány vzorky T1 (biotický + abiotický úbytek) a T2 (abiotický úbytek). U testu TER K1 byly zaznamenány velké rozdíly v počáteční koncentraci TER mezi těmito vzorky a u vzorku T2 vyšší variabilita mezi opakováními. U vzorku T1 byla koncentrace 115 ± 2 ng/ml (koeficient variace 1 %) a u vzorku T2 128 ± 11,0 ng/ml (koeficient variace 9 %). Po změření koncentrace TER po ukončení testu byl průměrný úbytek vzorku T1 35,8 % a T2 62,0 %. Z daných výsledků vyplývá, že abiotický úbytek (adsorpce) byl 1,73× vyšší než biotický + abiotický úbytek, což je nelogické. Takovéto výsledky nebyly očekávané, a proto byl test opakován (jako TER K2) pro vyloučení chyby na počátku testu.

Při opakovaném testu TER K2 byl opět zaznamenán vyšší úbytek ve vzorku T2, ale u tohoto testu byl rozdíl mezi vzorky T1 a T2 nižší, pouze 2,7 %. Při dlouhodobém testu TER D1 se potvrdili výsledky z obou krátkodobých testů, kdy byl opět vzorek T2 vyšší než T1, rozdíl v úbytku činil 8,8 %. Počáteční hodnoty pesticidu u TER D1 se výrazně nelišily, koncentrace TER ve vzorku T1 byla 110 ± 11 ng/ml (koeficient variability 10 %) a u vzorku T2 105 ± 12 ng/ml (koeficient variability 11 %). Hodnoty rozdílu úbytku u TER K2 a TER D1 se dají vysvětlit chybou měření, dávkování nebo stanovení a jsou přijatelné, naproti tomu hodnoty TER K1 jsou mnohonásobně vyšší. TER K2 a TER D1 byly tedy vyhodnoceny jako spolehlivější při vyhodnocování chování TER za denitrifikačních podmínek a test TER K1 není dále vyhodnocován. Velké rozdíly v počátečních hodnotách koncentrace terbuthylazinu u testu TER K1 ve vzorcích T1 a T2 by mohly být způsobeny zrychlenou adsorpcí na hobliny bezprostředně po nadávkování inhibitoru $HgCl_2$ a TER do vzorku T2 na začátku testu a pozdějším odebráním tohoto vzorku. V odborné literatuře nebyly nalezeny žádné informace o kompetitivní adsorpci inhibitoru $HgCl_2$ a jeho vlivu na rychlost adsorpce TER. V budoucnu by bylo vhodné tento účinek dále zkoumat, příp. nahradit $HgCl_2$ jiným inhibitorem, aby se předešlo nesprávné interpretaci výsledků.

Abiotická ztráta TER dosáhla po sedmi dnech 49,4 % (TER K2) a po 28 vzrostla na 68,4 % (TER D1). Hodnoty adsorpce na topolové hobliny nelze vyhodnotit nebo porovnat s předchozími studiemi v relevantní literatuře, nebyly nalezeny žádné informace o adsorpci TER na organický materiál.

Během experimentů nebyla zjištěna žádná biotická ztráta TER. Tento výsledek byl očekáván, jelikož TER patří mezi nejvíce perzistentní pesticidy s poločasem

rozpadu v podzemní vodě v rozmezí od 263 do 366 dní (Navarro a kol., 2004). Barra Caracciolo a kol. (2010) uvádějí, že prodloužená perzistence TER v podzemních vodách může být známkou nižší mikrobiální aktivity nebo nepřítomnosti organismů degradujících herbicidy. Biotická degradace terbuthylazinu se během krátkodobého ani dlouhodobého neprokázala, avšak je možné, že by se rozklad mohl rozběhnout po počáteční lagové fázi.

4.2 TEBUCONAZOL

4.2.1 Podmínky denitrifikace

S TEB byly provedeny dva testy, krátkodobý (TEB K1) a dlouhodobý (TEB D1). V průběhu testu TEB K1 hodnoty pH klesaly, naopak u dlouhodobého testu u vzorků T1 a T2 došlo k mírné alkalizaci. Hodnoty pH ale byly po celu dobu obou testů v optimálním rozmezí 7 až 8.

Na konci krátkodobého testu ve vzorcích C a T1 se hodnoty O_2 pouze mírně zvýšily, nepřekročily hodnotu 0,5 mg//l. Ve vzorku T2 vzrostla koncentrace O_2 z hodnoty 0,25 ± 0,02 mg/l až na hodnotu 7,61 ± 0,36 mg/l. U tohoto vzorku byly zastaveny biologické procesy, což dokazuje i vysoká hodnota rozpuštěného kyslíku. Podobné výsledky u vzorku T2 byly zaznamenány u dlouhodobého testu, nárůst 0,30 ± 0,01 mg/l na 3,91 ± 0,99 mg/l. Naopak u TEB D1 byly vyšší hodnoty O_2 i u vzorků C a T1.

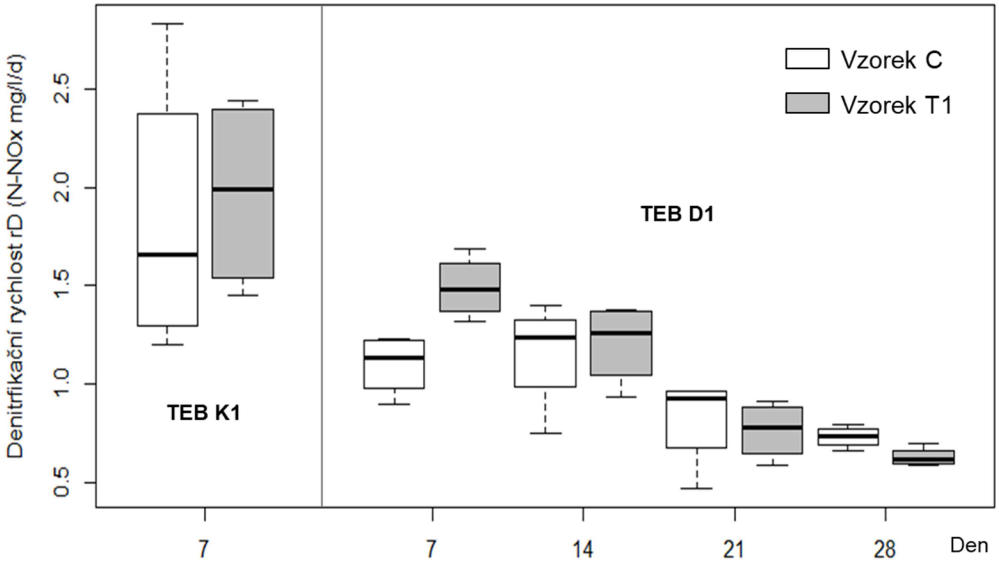
Koncentrace N-NO_2 na konci TEB D1 byly ve vzorcích C a T1 nízké. Ve vzorku T2 byly hodnoty mírně vyšší (0,92 ± 1,49 mg/l), to mohlo být pravděpodobně důsledkem redukce dusičnanů během 48hodinové počáteční fáze před přidáním chloridu rtuťnatého a zastavením biologických procesů. Naopak koncentrace dusitanů na konci TEB K1 byly ve všech vzorcích vysoké.

Na konci krátkodobého testu byly průměrné hodnoty $CHSK_{Cr}$ nad hodnotou 200 mg/l a poměr CHSK/N dosáhl ve vzorcích C a T1 hodnot od 5,6 do 10,0. U dlouhodobého testu byly hodnoty $CHSK_{Cr}$ nižší, u vzorku C a T1 se hodnoty pohybovaly kolem 100 mg/l. U vzorku T2 byla průměrná hodnota vyšší, 240 ± 10 mg/l. Poměr CHSK/N byl u TEB D1 ve vzorcích C a T1 5,6 až 8,0. U obou testů naměřené koncentrace organických sloučenin přesáhly minimální poměr CHSK/N (3,5-5,0) potřebný pro úplnou denitrifikaci.

4.2.2 Inhibice procesu denitrifikace

Obr. 4.2 zobrazuje porovnání průměrných denitrifikačních rychlostí ve vzorku C a T1 v průběhů obou testů. V průběhu krátkodobého testu TEB K1 byly dosaženy vyšší rychlosti, u C 1,84 ± 0,63 mg/l/d a u T1 1,97 ± 0,43 mg/l/d. Při dlouhodobém

testu byla rychlost denitrifikace nejvyšší v prvních dvou týdnech (1 týden vzorek T1 1,49 ± 0,14 mg/l/d; 2 týden vzorek C 1,16 ± 0,24 mg/l/d) a poté každý týden klesala.



Obr. 4.2 Porovnání rychlostí denitrifikace v průběhu testů ve vzorcích C a T1 (10., 25., 50., 75. a 90. Percentil; n = 4)

Denitrifikační rychlosti z jednotlivých týdnů byly statisticky vyhodnoceny pomocí Welchova dvouvýběrového t-testu. U krátkodobého testu TEB K1 byla výsledná *p* hodnota 0,7809, nelze tedy zamítnout hypotézu H0 ($p > 0{,}05$). Po prvním týdnu dlouhodobého testu byla však hodnota *p* menší než 0,05 a hypotézu H0 zamítáme. V tomto týdnu byl pozorován stimulační efekt tebuconazolu na proces denitrifikace o velkosti 35 %. V dalších dvou týdnech nelze hypotézu H0 zamítnout (hodnota *p* 0,7828 a 0,7020). Vliv tebuconazolu na denitrifikační proces se tedy dle analýzy v těchto týdnech nepotvrdil. V posledním týdnu testu TEB D1 se projevil naopak inhibiční účinek o velikosti 14 %, *p* hodnota testu byla 0,0349.

4.2.3 Chování tebuconazolu během procesu denitrifikace

Při vyhodnocování chování TEB bylo u dlouhodobého testu TEB D1 (vzorek T1) vyřazeno jedno opakování, kvůli chybnému stanovení koncentrace pesticidu.

Ani u jednoho z testů nebyla zjištěna žádná biotická ztráta. Při krátkodobém testu byl zaznamenán vysoký abiotický úbytek TEB 76,7 %. Po 28 dnech byla abiotická ztráta pouze mírně vyšší (82,7 %), adsorpce pesticidu na topolové hobliny tedy probíhala zejména v prvních 7 dnech. I když nebyl zaznamenán biotický úbytek, díky vysokým hodnotám abiotického úbytku byly průměrné hodnoty rezidua nízké, a to konkrétně 23,3 % (TER K1) a 17,3 % (TEB D1).

4.3 ALACHLOR

4.3.1 Podmínky denitrifikace

S ALA byly provedeny tři testy a to jeden krátkodobý (ALA K1) a dva dlouhodobé (ALA D1, ALA D2). Při obou dlouhodobých testech došlo k alkalizaci, hodnoty pH se mírně zvýšily, pouze u vzorku T2 testu ALA D1 došlo k poklesu pH. Pokles pH byl zaznamenán také u krátkodobého testu ALA K1 ve vzorcích T1 a T2. Avšak, průměrné naměřené hodnoty pH u každého z testů byly v optimálním rozmezí 7–8 pro proces denitrifikace (Pitter, 2015).

Hodnoty $CHSK_{Cr}$ na konci ALA K1 se výrazně nelišily mezi jednotlivými vzorky, u vzorku C a T1 byly naměřeny průměrné hodnoty 290 mg/l, u T2 mírně vyšší, v průměru 300 mg/l. Dle očekávání $CHSK_{Cr}$ u dlouhodobých testů byla nižší než u ALA K1. U ALA D1 a ALA D2 ve vzorcích C a T1 byly naměřeny průměrné hodnoty kolem 120 mg/l, u vzorku T2 vyšší 240 mg/l (ALA D1) a 290 mg/l (ALA D2). Poměry zbytkové $CHSK_{Cr}$ po denitrifikaci a počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$ u vzorků C a T1 byly v rozmezí od 4,4 do 11,9.

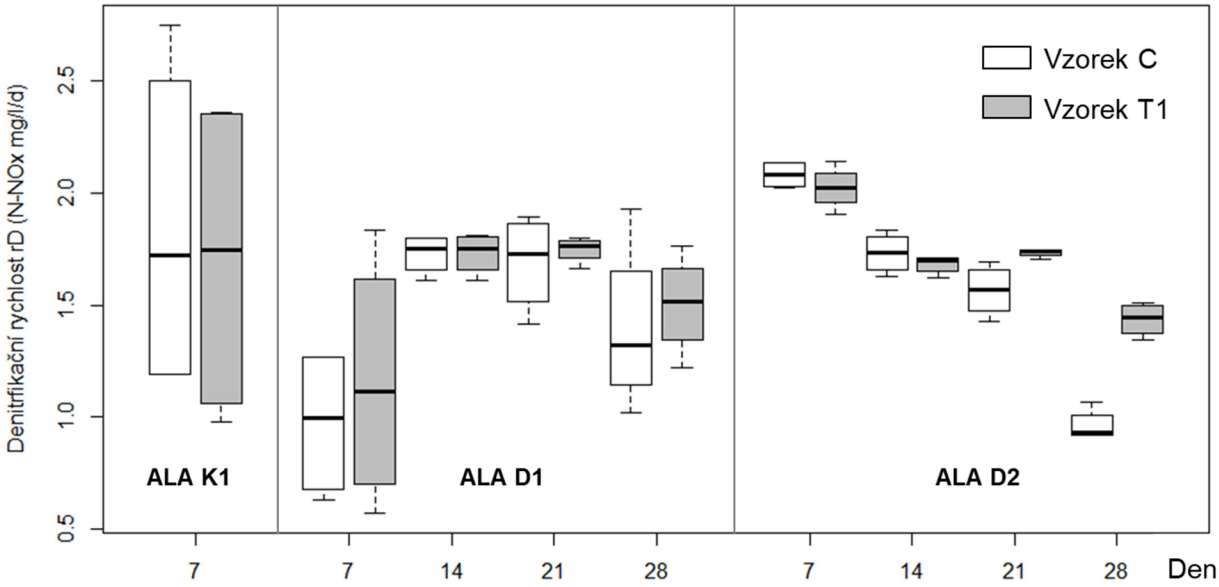
U ALA K1 byly průměrné hodnoty $N\text{-}NO_2$ vysoké jak u kontroly C, tak u vzorku T1. U vzorku C byly rozdíly mezi paralelními opakováními velké, jak ukazuje směrodatná odchylka (3,96 ± 3,93 mg/l), tedy tyto výsledky nelze jednoznačně vyhodnotit. Vzorek T1 má také vysokou směrodatnou odchylku (9,27 ± 4,86 mg/l), ale všechna opakování měla koncentraci $N\text{-}NO_2$ vyšší než 3 mg/l. To naznačuje, že při tomto vzorku došlo pouze k prvnímu kroku denitrifikace – dusičnany byly redukovány na dusitany – ale redukce na N_2O nepokračovala. Po 28 dnech byly u obou dlouhodobých testů naměřeny nízké koncentrace dusitanů, proces denitrifikace pokračoval bez akumulace dusitanů.

Na konci krátkodobého testu ALA K1 ve vzorcích C a T1 byla průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku <0,5 mg/l. Naopak u vzorku T2, který byl inhibován $HgCl_2$ byla koncentrace O_2 vysoká, 4,06 ± 0,25 mg/l. U dlouhodobého testu ALA D1 byly naopak zaznamenány vysoké hodnoty O_2 ve vzorcích C a T1 a nečekaně nízká koncentrace u vzorku T2. Průměrné rychlosti denitrifikace u T2 testu ALA K1 nejsou stanoveny, protože výpočet poskytl záporné hodnoty. U ALA D1 nebyla sice průměrná rychlost ve vzorku T2 za 4 týdny významná, pouze 0,07 ± 0,02 mg/l, ale průměrné rychlosti po jednotlivých týdnech se zvyšovaly. V prvních třech týdnech byla denitrifikační rychlost nulová, avšak v posledním týdnu byla zaznamenána hodnota 0,33 mg/l/d. Jak nízké koncentrace O_2, tak i naměřená rychlost denitrifikace ukazují, že i v tomto inhibovaném vzorku probíhala v posledním týdnu denitrifikace. U ALA tedy jediné ošetření $HgCl_2$ na začátku testu nestačilo k úplné inhibici bakteriálních aktivit. V literatuře nebyly nalezeny žádné

výsledky z výzkumů, které by zkoumaly interakci $HgCl_2$ a ALA. Původní metodika byla tedy upravena u druhého dlouhodobého testu ALA D2, přidáním 1 ml $HgCl_2$ každých 7 dní. Vysoké koncentrace O_2 7,54 ± 0,21 mg/l v T2 na konci ALA D2 potvrdily, že proces denitrifikace byl touto adaptací úspěšně inhibován. Rychlosti denitrifikace v jednotlivých týdnech byly nízké téměř nulové, což také potvrzuje inhibici denitrifikace v tomto vzorku. Vyšší koncentrace O_2 byly jak u ALA D1, tak i ALA D2 ve vzorcích C a T1. Hodnoty rozpuštěného kyslíku byly u těchto vzorku přibližně v rozmezí od 0,9 do 3 mg/l.

4.3.2 Inhibice procesu denitrifikace

V průběhu krátkodobého testu ALA K1 byla mírně vyšší průměrná rychlost ve vzorku C 1,84 ± 0,68 mg/l/d než ve vzorku T1 1,71 ± 0,65 mg/l/d. U testu ALA D1 byla rychlost v prvním týdnu nižší v porovnání s ALA K1 (Obr. 4.3), v druhém týdnu došlo k nárůstu. Po třetím týdnu nebyla zaznamenána výrazná změna a na konci testu došlo k mírnému poklesu. Mezi vzorky C a T1 nebyl výrazný rozdíl u testu ALA D1. Hodnoty a průběh denitrifikačních rychlostí u ALA D2 byly v porovnání s ALA D1 odlišné. U tohoto testu byla nejvyšší denitrifikační rychlost zaznamenána v prvním týdnu u obou vzorků. Poté v každém týdnu rychlost klesala a rozdíly mezi vzorky C a T1 se zvyšovaly.



Obr. 4.3 Porovnání rychlostí denitrifikace v průběhu testů ve vzorcích C a T1 (10., 25., 50., 75. a 90. Percentil; n = 4)

Inhibiční nebo stimulační účinky alachloru na denitrifikační proces byly statisticky vyhodnoceny pomocí Welchova dvouvýběrového t-testu. Během testu ALA K1 a ALA D1 byla *p* hodnota testu vysoká, nejnižší hodnota byla vyhodnocena po prvním týdnu dlouhodobého testu ALA D1, 0,6027. U testu ALA

K1 a ALA D1 tedy nelze zamítnout hypotézu H0 (p >0,05). Naopak během dlouhodobého testu ALA D2 byla p hodnota v prvním týdnu 0,3479 a každým týdnem klesala. V posledním týdnu byla p hodnota nižší než 0,05, konkrétně $9{,}62\times10^{-5}$, hypotézu H0 zamítáme. Během posledního týdne byl pozorován stimulační účinek ALA 49 %. U tohoto testu jsou koeficienty variace pro denitrifikační rychlosti u obou vzorků C i T1 nízké (1,60 % u C, 0,70 u T1). Naopak menší spolehlivost mají výsledky u testů ALA K1 a ALA D1, kde je variabilita denitrifikačních rychlostí u obou vzorků vyšší.

4.3.3 Chování alachloru během procesu denitrifikace

Jak je popsáno výše, na konci testu ALA D1 bylo zjištěno, že ve vzorku T2 nebyl dostatečné inhibován proces denitrifikace. U tohoto testu nebyly analyzovány vzorky pomocí HPLC metody na stanovení koncentrace pesticidu. Dále jsou vyhodnoceny pouze výsledky z testů ALA K1 a ALA D2. Protože k naředění pesticidu docházelo i ve vzorku T2, kvůli dávkování $HgCl_2$ každý týden, byly naměřené koncentrace ALA na konci testu u tohoto vzorku upraveny pomocí rovnic uvedených v kapitole 3.3.2.

Po sedmi dnech nebyl zaznamenán biotický úbytek, ale na konci dlouhodobého testu byla naměřena nízká hodnota biotického úbytku 4,0 %. Po 7 dnech byl naměřený abiotický úbytek ALA 52,3 %. Porovnatelná hodnota abiotického úbytku byla dosažena také na konci dlouhodobého testu, konkrétně 49,0 %. Tyto výsledky ukazují, že adsorpce pesticidu na topolové hobliny probíhala během prvních 7 dní a poté již nepokračovala. Přestože byl naměřený biotický úbytek po 28 dnech, hodnoty reziduí se výrazně nelišily. V případě krátkodobého testu ALA K1 byla hodnota rezidua 47,7 % a po 28 dnech 47,0 %.

4.4 METOLACHLOR

4.4.1 Podmínky denitrifikace

Na začátku testů s MET byly hodnoty pH v rozmezí od 7 do 7,40. Po ukončení všech testů bylo pozorováno mírné zvýšení hodnot pH, nicméně všechny vzorky a opakování byly v optimálním rozmezí 7–8 pro proces denitrifikace (Pitter, 2015).

Hodnoty $CHSK_{Cr}$ u testu MET K1 byly ve všech vzorcích podobné, u vzorku T2 byly hodnoty mírně vyšší kvůli inhibici denitrifikace. U testu MET D1 ve vzorku C a T1 byly hodnoty nižší 130 ± 61 mg/l respektive 110 ± 14 mg/l. Vzorek T2 dosahoval hodnoty $CHSK_{Cr}$ nad 140 mg/l. U testu MET D2 byla $CHSK_{Cr}$ u vzorků C a T1 >130 mg/l a u vzorku T2 >300 mg/l. Poměry CHSK/N ve vzorcích C a T1 byly přibližně 5,5–14,0, minimální poměr pro denitrifikaci je v rozmezí 3,5 a 5

(Lahdhiri a kol., 2017). Koncentrace organických sloučenin u ostatních testů byla však dostatečná pro podporu denitrifikace (Lahdhiri a kol., 2017; Pániková a kol., 2023b).

U všech tří testů s MET byly průměrné hodnoty N-NO_2 nízké s výjimkou vzorků T2 u testu MET K1 (1,09 ± 0,81 mg/l) a u MET D1 (8,43 ± 2,80 mg/l).

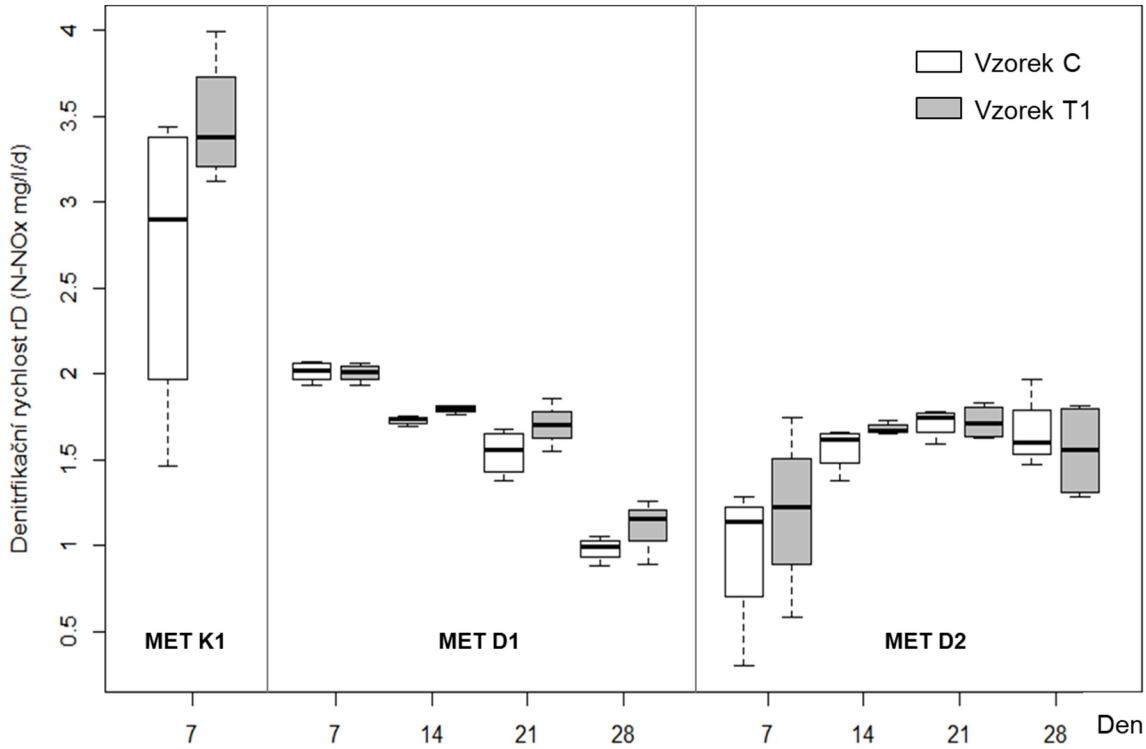
V průběhu krátkodobého testu MET K1 se koncentrace O_2 ve vzorcích C a T1 změnily zanedbatelně, hodnoty byly příznivé pro proces denitrifikace (<0,5 mg/l) (Pitter. 2015; Oh a Silverstein, 1999). U vzorku T2 došlo k očekávanému nárůstu rozpuštěného kyslíku z 0,25 ± 0,11 mg/l na 7,67 ± 0,14 mg/l. Podobně jako u dlouhodobého testu s ALA (ALA D1), také u testu MET D1 byly změřeny vysoké hodnoty rozpuštěného kyslíku ve vzorcích C a T1 a nečekaně nízká koncentrace u vzorku T2. Průměrná rychlost denitrifikace u vzorku T2 v prvních dvou týdnech byla nulová, ale v dalších dvou týdnech rostla. V třetím týdnu byla zaznamenaná průměrná rychlost denitrifikace 0,43 mg/l/d a v posledním týdnu testu dokonce 0,80 mg/l/d. Nízká koncentrace O_2 a naměřené rychlosti denitrifikace poukazují na to, že i v tomto inhibovaném vzorku probíhala ve třetím a čtvrtém týdnu denitrifikace. MET patří mezi chloracetanilidové herbicidy podobně jako ALA. Je pravděpodobné, že tato skupina pesticidů interaguje s $HgCl_2$, ale v odborné literatuře není tato interakce popsána ani zaznamenána. Dávka $HgCl_2$ na začátku testu nebyla dostačující pro inhibici bakteriálních aktivit, a proto byl proveden test MET D2, u kterého byl $HgCl_2$ přidán každý týden v dávce 1 ml. U testu MET D2 dodatečné dávkování inhibitoru pomohlo, co potvrzuje i vysoká průměrná koncentrace O_2 na konci testu ve vzorku T2 8,27 ± 0,29 mg/l. Denitrifikační rychlosti v jednotlivých týdnech byly nízké téměř nulové (<0,1 mg/l/d), což také potvrzuje úspěšnou inhibici denitrifikace v tomto vzorku. Vyšší koncentrace O_2 byly jak u MET D1, tak i MET D2 ve vzorcích C a T1.

4.4.2 Inhibice procesu denitrifikace

Na obr. 4.4 jsou zobrazeny denitrifikační rychlosti ve vzorcích C a T1 pro všechny testy s MET. Při porovnání všech tří testů byly nejvyšší hodnoty denitrifikace zaznamenány u krátkodobého testu MET K1. Průměrná hodnota u vzorku C byla 2,68 ± 0,79 mg/l/d a ve vzorku T1 ještě vyšší 3,47 ± 0,33 mg/l/d. U obou dlouhodobých testů byly rychlosti v porovnání s MET K1 menší i o polovinu.

U experimentu MET D1 byly hodnoty rychlosti denitrifikace v prvním týdnu nejvyšší, průměrná rychlost u vzorku C byla 2,01 mg/l/d a u vzorku T1 2,00 mg/l/d. Každý další týden testu MET D1 se denitrifikace zpomalovala, v posledním týdnu dosáhla rychlost průměrnou hodnotu 0,98 mg/l/d ve vzorku C a 1,12 mg/l/d

ve vzorku T1. Test MET D2 měl odlišný průběh než MET D1. Po prvních 7 dnech byla zaznamenána nejnižší rychlost (vzorek C 0,96 mg/l/d, vzorek T1 1,20 mg/l/d), po druhém a třetím týdnu rychlost mírně vzrostla. Na konci testu rychlost mírně poklesla oproti třetímu týdnu, ve vzorku C z 1,72 na 1,66 mg/l/d a ve vzorku T1 z 1,72 na 1,55 mg/l/d (Obr. 4.4).



Obr. 4.4 Porovnání rychlostí denitrifikace v průběhu testů ve vzorcích C a T1 (10., 25., 50., 75. a 90. Percentil; n = 4)

Vypočítané hodnoty denitrifikačních rychlostí v C a T1 vzorcích byly statisticky vyhodnoceny pomocí Welchova dvouvýběrového t-testu. Vypočítaná *p* hodnota byla pro MET K1 a MET D2 test v každém týdnu vyšší než 0,05. U těchto testu nelze zamítnout H0, nemůžeme jednoznačně vyhodnotit účinky MET na proces denitrifikace. U testu MET D1 byly porovnatelné výsledky s testem MET D2 (p >0,05), odlišná je pouze hodnota po 14 dnech. Na konci 2. týdne byla vypočítaná *p* hodnota 0,0073, tedy hypotézu H0 zamítáme. Po 14 dnech u testu MET D1 byl pozorován nízký stimulační účinek 4 %.

4.4.3 Chování metolachloru během procesu denitrifikace

V posledních dvou týdnech dlouhodobého tesu MET D1 nebyla inhibice denitrifikace ve vzorku T2 dostatečná. Jak bylo uvedeno v kapitole 4.3.1, denitrifikační rychlosti ve vzorku T2 byly vysoké, a proto u tohoto testu nebyly analyzovány vzorky pomocí HPLC metody na stanovení koncentrace pesticidu. Dále jsou vyhodnoceny pouze výsledky z testů MET K1 a MET D2. U dlouhodobého

testu MET D2 (vzorek T2) bylo vyřazeno jedno opakování, z důvodu chybného stanovení koncentrace pesticidu. Protože k naředění pesticidu docházelo i ve vzorku T2 testu MET D2, kvůli dodatečnému dávkování $HgCl_2$ každý týden, byly naměřené koncentrace MET na konci testu u tohoto vzorku upraveny pomocí rovnic uvedených v kapitole 3.3.2.

Ani u jednoho z testů MET K1 a MET D2 nebyl pozorován biotický úbytek MET. Na konci krátkodobého testu MET K1 byl zaznamenán abiotický úbytek 48,2 %. Porovnatelná hodnota abiotického úbytku byla dosažena také na konci testu MET D2, 46,5 %. Protože podíl adsorpce byl podobný u MET K1 a MET D2, lze předpokládat, že adsorpce MET dosáhla rovnováhy již během prvních dnů experimentů. U krátkodobého testu MET K1 byla hodnota rezidua 51,8 % a u MET D2 53,5 %.

4.5 ATRAZIN

4.5.1 Podmínky denitrifikace

Po 48 hodinách testu ATR K1 byly průměrné hodnoty pH: 7,22 vzorek C, 7,19 vzorek T1, 7,41 vzorek T2. Na konci krátkodobého testu došlo k mírné alkalizaci roztoku u vzorku C a T1, hodnoty stouply na 7,38 (vzorek C) a 7,39 (vzorek T1). pH ve vzorku T2 naopak kleslo na 7,23. V průběhu testu ATR D1 hodnoty pH mírně stoupaly u vzorku C, podobně jako u testu ATR K1, z hodnoty 7,41 na 7,49. U vzorku T1 a T2 mírně klesly, na 7,51 (vzorek T1) a 7,54 (vzorek T2).

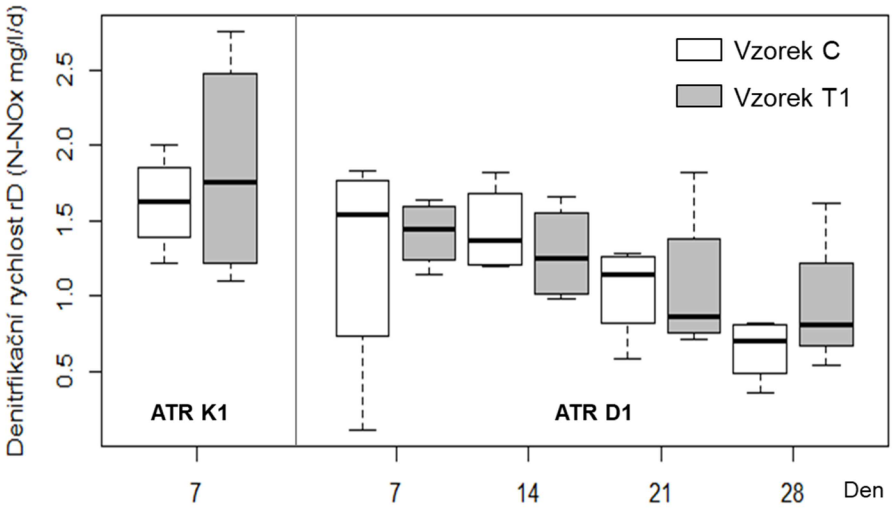
Na konci ATR K1 byly podmínky pro optimální hodnotu O_2 splněny u vzorku C a T1 (Oh a Silverstein, 1999; Pitter, 2015). U těchto vzorků hodnoty rozpuštěného kyslíku mírně stouply na 0,43 mg/l (vzorek C) a 0,41 mg/l (vzorek T1). Vzorek T2 měl podle očekávání vysoké hodnoty O_2 (2,54 mg/l), protože denitrifikace zde neprobíhala. V průběhu dlouhodobého testu ATR D1 hodnoty O2 ve všech třech vzorcích stouply a to na: 2,83 mg/l (vzorek C), 1,77 mg/l (vzorek T1), 4,28 mg/l (vzorek T2). U vzorku C a T1 byly hodnoty pro proces denitrifikace vysoké.

Průměrné koncentrace dusitanů na konci obou testů byly nízké ve všech vzorcích. To naznačuje, že proběhly oba kroky denitrifikace, kdy dusičnany jsou redukovány na dusitany a ty poté na N_2O a N_2.

Průměrné hodnoty $CHSK_{Cr}$ na konci ATR K1 byly vyšší než 240 mg/l. U testu ATR D1 byla průměrná $CHSK_{Cr}$ nejnižší ve vzorku C, 120 ± 20 mg/l. U zbývajících vzorků T1 a T2 byly zaznamenány hodnoty 210 ± 140mg/l, respektive 260 ± 30 mg/l.

4.5.2 Inhibice procesu denitrifikace

Obr. 4.5 zobrazuje porovnání průměrných denitrifikačních rychlostí ve vzorku C a T1 v průběhů obou testů.



Obr. 4.5 Porovnání rychlostí denitrifikace v průběhu testů ve vzorcích C a T1 (10., 25., 50., 75. a 90. Percentil; n = 4)

Při testu ATR K1 byly dosaženy průměrné rychlosti ve vzorku C 1,62 ± 0,28 mg/l/d a mírně vyšší ve vzorku T1 1,84 ± 0,66 mg/l/d. V prvních dnech dlouhodobého testu byly rychlosti nižší v porovnání s testem ATR K1, vzorek C 1,25 mg/l/d a vzorek T1 1,42 mg/l/d. V každém následujícím týdnu testu ATR D1 docházelo ke zpomalení procesu denitrifikace, v posledním týdnu byly průměrné rychlosti u vzorku C 0,65 mg/l/d a u vzorku T1 0,94 mg/l/d.

Pomocí Welchova dvouvýběrového t-testu bylo statisticky vyhodnoceno porovnání denitrifikačních rychlostí v C a T1 vzorcích. Při obou testech ATR K1 i ATR D1 byly vypočítané hodnoty *p* vysoké, nad hodnotou 0,05. Nelze zamítnout hypotézu H0, tedy neprokázal se inhibiční ani stimulační účinek ATR na proces denitrifikace.

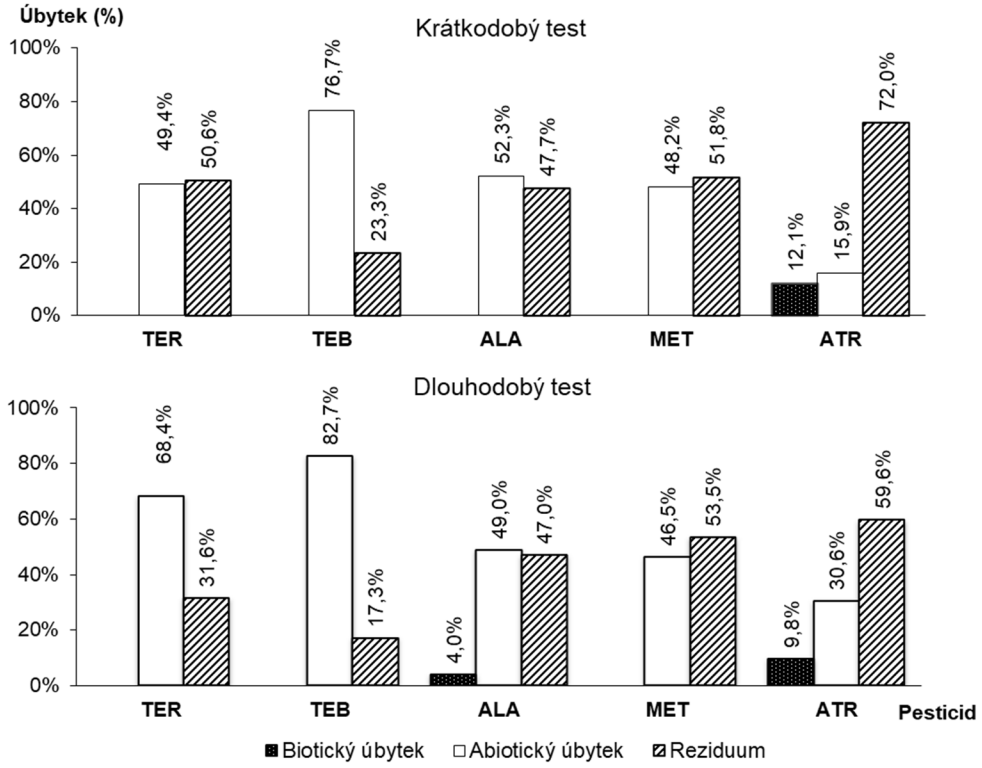
4.5.3 Chování atrazinu během procesu denitrifikace

Nízký biotický úbytek byl zjištěn v průběhu obou testů, 12,1 % u ATR K1 a 9,8 % po 28 dnech u ATR D1. Podobně jako u TER byl u obou testů s ATR pozorován významný účinek inhibitoru $HgCl_2$ na okamžitou rychlost adsorpce. Rozdíly v počáteční koncentraci ATR mezi vzorky T1 a T2 byly 23,5 % pro ATR K1 a 28,5 % pro ATR D2. Velké rozdíly v počátečních hodnotách koncentrace atrazinu ve vzorcích T1 a T2 byly pravděpodobně způsobeny zrychlenou adsorpcí na hobliny bezprostředně po nadávkování inhibitoru $HgCl_2$ a ATR na začátku testů do vzorku T2. Výsledné hodnoty abiotického úbytku jsou pravděpodobně ovlivněny

zrychlením adsorpce ve vzorku T2, a proto by mohli být zjištěné hodnoty biotických ztrát ve skutečnosti nižší. V odborné literatuře nebyly nalezeny žádné informace o kompetitivní adsorpci inhibitoru $HgCl_2$ a jeho vlivu na rychlost adsorpce ATR, bylo by vhodné tento účinek dále zkoumat, aby se předešlo nesprávné interpretaci výsledků. Průměrný abiotický úbytek byl 15,9 % u ATR K1 a při dlouhodobém testu ATR D1 hodnota mírně vzrostla na 30,6 %. Zbytkové hodnoty atrazinu byly relativně vysoké: 72,0 % (ATR K1) a 59,6 % (ATR D1).

4.6 SOUHRNÉ POROVNÁNÍ TESTOVANÝCH PESTICIDŮ

Na obrázku 4.6 je vyobrazeno porovnání všech krátkodobých a dlouhodobých testů. Biotický úbytek byl zaznamenán u krátkodobého (12,1 %) a dlouhodobého (9,8 %) testu s ATR a 4,0% úbytek u dlouhodobého testu s ALA.



Obr. 4.62 Porovnání jednotlivých procesů všech testovaných pesticidů (průměr, n = 4)

Během výzkumu byla pozorována vysoká okamžitá adsorpce TER a zejména ATR na topolové hobliny ve vzorcích T2, ve kterých byl inhibitor $HgCl_2$. Toto chování nebylo dosud pozorováno a mělo by být podrobněji analyzováno v dalších studiích. Adsorpce na hobliny u všech testovaných pesticidů probíhala především během prvních sedmi dní testu a poté stagnovala. Nejvyšší hodnota adsorpce byla zaznamenána na konci dlouhodobého testu s TEB, 82,7 %. Nejméně se během experimentu adsorboval ATR, kde byla na konci dlouhodobého testu naměřena hodnota 30,6 %. Nejvyšší hodnota rezidua po 7 dnech byla u ATR (72,0 %), poté

následuje MET (51,8 %), TER (50,6 %), ALA (47,7 %) a nejnižší hodnota byla u TEB (23,3 %). U dlouhodobého testu se pořadí nezměnilo, ale u MET a ALA hodnota rezidua stagnovala, u ostatních látek došlo k poklesu. U testu s ATR poklesla hodnota rezidua po 28 dnech na 59,6 %, u MET (53,5 %) a ALA se nezměnila (47,0 %), nejvyšší pokles byl u TER na 31,6 %. Nejmenší zůstatek byl u TEB (17,3 %).

V závislosti na perzistenci pesticidních látek může být jejich poločas rozpadu několik hodin/dní nebo u perzistentních více než rok. Je možné, že u některých látek by po počáteční lagové fázi rozklad pokračoval zvýšenou rychlostí. Dvacet osm dní je zřejmě krátká doba pro rozklad velmi perzistentních pesticidů; je však obtížné udržet denitrifikační proces po delší dobu v laboratorních podmínkách.

Nízké hodnoty stimulace byly pozorovány u ALA, MET a TEB. Přestože inhibiční účinek byl zjištěn pouze ve 4. týdnu dlouhodobého testu s TEB, je nutné vzít v úvahu možnou transformaci mateřské látky na metabolity. Ty mohou mít vyšší, stejnou nebo nižší toxicitu než mateřská sloučenina, mohou se hromadit za denitrifikačních podmínek anebo mohou negativně ovlivnit proces denitrifikace (Michel a kol., 2021; Nasiri a kol., 2020; de Souza a kol., 2020). Některé toxičtější metabolity by mohly vznikat až po delším časovém úseku než poskytuje vyvinutá metodika a mít negativní účinky na proces denitrifikace. K ověření těchto tvrzení by bylo nutné provést výzkum zaměřený na metabolity a jejich chování.

5 ZÁVĚR

Hlavním cílem práce bylo zhodnotit vliv vybraných triazinových herbicidů a fungicidů na proces denitrifikace, stejně jako pochopit jejich chování za denitrifikačních podmínek. V době vypracování dizertační práce však neexistovala standardizovaná metodika pro testování pesticidních látek za denitrifikačních podmínek. Velká část práce tedy byla zaměřena na vývoj a optimalizaci spolehlivé metodiky.

Vyvinutá metodika byla navržena tak, aby umožňovala testování během dvou různých časových období – 7 dnů (krátkodobý test) a 28 dnů (dlouhodobý test). Jako optimální byly identifikovány následující podmínky denitrifikace: 12,5 g/l hoblin z topolového dřeva, 0,5 g/l $NaHCO_3$, počáteční koncentrace $N\text{-}NO_3$ 15 mg/l a 30 mg/l pro krátkodobý resp. dlouhodobý test. Popis navržených metodik je uveden v kapitole 3.3. Představené metodiky umožňují vypočítat biotické a abiotické ztráty za sledované období pomocí porovnání denitrifikace probíhající v přítomnosti pesticidu a v podmínkách inhibovaných biotických procesů.

Navržené metodiky byly dále použity pro testování vybraných fungicidů a herbicidů (atrazin, alachlor, tebuconazol, terbuthylazin, metolachlor). Výsledky

testování neprokázaly významný inhibiční účinek na proces denitrifikace u žádného z testovaných pesticidů v koncentraci 100 µg/l. Ve skutečnosti by mohly tyto látky mít stimulační účinek na odstraňování dusičnanů z vody. Nicméně pro získání robustnějších výsledků je doporučeno použít více než čtyři opakování u každého vzorku.

Adsorpce všech testovaných pesticidů na hobliny probíhala během prvních sedmi dní testování a poté stagnovala. Během výzkumu byla pozorována vysoká okamžitá adsorpce terbuthylazinu a zejména atrazinu na topolové hobliny ve vzorku s inhibitorem, což, jak se zdá, je spojeno s použitým $HgCl_2$. Toto chování nebylo dosud pozorováno a mělo by být podrobněji prostudováno v budoucnosti, případně by mohl být nahrazen $HgCl_2$ jiným inhibitorem. Výsledky s alachlorem naznačují, že by tento pesticid mohl být bioticky degradován za denitrifikačních podmínek.

V rámci práce bylo tedy úspěšné prozkoumáno chování vybraných pesticidních látek a jejich vliv na proces denitrifikace. Podstatný přínos pro danou výzkumnou oblast představuje navržení nové vlastní metodiky testování pro hodnocení chování pesticidů a jejich vlivu na denitrifikační procesy v bioreaktorech a přírodních systémech. Tato metodika umožňuje získávat nejen cenné informace o chování pesticidů, ale také přispívá k rozvoji technologií pro odstranění těchto látek z kontaminovaných vod. Navíc může být využita i pro studium dalších znečisťujících látek, jako jsou například veterinární léčiva. Výsledky také naznačují potenciál denitrifikačních bioreaktorů pro odstraňování široké škály xenobiotik, což může přispět k ochraně povrchových a podzemních vod před jejich kontaminací.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

Barra Caracciolo, A., Fajardo, C., Grenni, P., SaccÃ, M. L., Amalfitano, S., Ciccoli, R., Martin, M., & Gibello, A. (2010). The role of a groundwater bacterial community in the degradation of the herbicide terbuthylazine: Terbuthylazine biodegradation in groundwater. *FEMS Microbiology Ecology*, *71*(1), 127–136. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00787.x

Český normalizační institut. (2007). *Jakost vod—Zkouška inhibice spotřeby kyslíku aktivovaným kalem při oxidaci uhlíkatých látek a amoniakálního dusíku* (ČSN EN ISO 8192 (757731)).

Daigger, G. T., Adams, C. D., & Steller, H. K. (2007). Diffusion of Oxygen Through Activated Sludge Flocs: Experimental Measurement, Modeling, and Implications for Simultaneous Nitrification and Denitrification. *Water Environment Research*, *79*(4), 375–387. https://doi.org/10.2175/106143006X111835

de Souza, R. M., Seibert, D., Quesada, H. B., De Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M. R., & Bergamasco, R. (2020). Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, *135*, 22–37. https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035

Hou, L., Yin, G., Liu, M., Zhou, J., Zheng, Y., Gao, J., Zong, H., Yang, Y., Gao, L., & Tong, C. (2015). Effects of Sulfamethazine on Denitrification and the Associated N_2O Release in Estuarine and Coastal Sediments. *Environmental Science & Technology*, *49*(1), 326–333. https://doi.org/10.1021/es504433r

Chen, L., Huang, F., Zhang, C., Zhang, J., Liu, F., & Guan, X. (2021). Effects of norfloxacin on nitrate reduction and dynamic denitrifying enzymes activities in groundwater. *Environmental Pollution*, *273*, 116492. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116492

Ilhan, Z. E., Ong, S. K., & Moorman, T. B. (2011). Dissipation of Atrazine, Enrofloxacin, and Sulfamethazine in Wood Chip Bioreactors and Impact on Denitrification. *Journal of Environmental Quality*, *40*(6), 1816–1823. https://doi.org/10.2134/jeq2011.0082

Lahdhiri, A., Lesage, G., Hannachi, A., & Heran, M. (2017). Minimum COD needs for denitrification: From biological models to experimental set-up. *DESALINATION AND WATER TREATMENT*, *61*, 326–334. https://doi.org/10.5004/dwt.2017.11130

Michel, C., Baran, N., André, L., Charron, M., & Joulian, C. (2021). Side Effects of Pesticides and Metabolites in Groundwater: Impact on Denitrification. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 662727. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.662727

Nasiri, M., Ahmadzadeh, H., & Amiri, A. (2020). Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *123*, 115772. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115772

Navarro, S., Vela, N., José Giménez, M., & Navarro, G. (2004). Persistence of four s-triazine herbicides in river, sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. *Science of The Total Environment*, *329*(1–3), 87–97. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.03.013

Oh, J., & Silverstein, J. (1999). Acetate Limitation and Nitrite Accumulation during Denitrification. *Journal of Environmental Engineering*, *125*(3), 234–242. https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1999)125:3(234)

Pániková, K., Bílková, Z., & Malá, J. (2023b). The Behavior of Terbuthylazine, Tebuconazole, and Alachlor during Denitrification Process. *Journal of Xenobiotics*, *13*(4), 560–571. https://doi.org/10.3390/jox13040036

Pániková, K., Weigelhofer, G., Bílková, Z., & Malá, J. (2023a). Denitrification Assays for Testing Effects of Xenobiotics on Aquatic Denitrification and Their Degradation in Aquatic Environments. *Water*, *15*(14), 2536. https://doi.org/10.3390/w15142536

Pitter, P. (2015). *Hydrochemie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

Silva, H. S., Ruiz, S. V., Granados, D. L., & Santángelo, J. M. (2010). Adsorption of mercury (II) from liquid solutions using modified activated carbons. *Materials Research*, *13*(2), 129–134. https://doi.org/10.1590/S1516-14392010000200003

Tate, R. L. (2000). *Soil microbiology* (2. ed). Wiley.

U.S. Environmental Protection Agency. (1995). *Metolachlor. Reregistration Eligibility Decision*. https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/0001.pdf

Weigelhofer, G., & Hein, T. (2015). Efficiency and detrimental side effects of denitrifying bioreactors for nitrate reduction in drainage water. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(17), 13534–13545. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4634-0

Wilson, L. P., & Bouwer, E. J. (1997). Biodegradation of aromatic compounds under mixed oxygen/denitrifying conditions: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *18*(2–3), 116–130. https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900288

Zhao, J., He, Q., Chen, N., Peng, T., & Feng, C. (2020). Denitrification behavior in a woodchip-packed bioreactor with gradient filling for nitrate-contaminated water treatment. *Biochemical Engineering Journal*, *154*, 107454. https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107454

SEZNAM ODBORNÉ AKTIVITY AUTORA

SPOLUPRÁCE NA ODBORNÝCH ČINNOSTECH

FAST-J-20-6395 (2020) – Degradace pesticidů v denitrifikačních bioreaktorech
FAST-J-22-7911 (2022) – Denitrifikace a degradace pesticidů
FAST-J-21-7429 (2021) – Chování pesticidních látek v průběhu denitrifikace
FAST-S-19-5835 (2019) – Stanovení vlivu vybraných emergentních polutantů na denitrifikační vlastnosti aktivovaného kalu
FAST-J-19-5966 (2019) – Vliv emergentních polutantů na denitrifikaci

ČLÁNKY V IMPAKTOVANÝCH ČASOPISECH

Pániková, K., Weigelhofer, G., Bílková, Z., & Malá, J. (2023). Denitrification Assays for Testing Effects of Xenobiotics on Aquatic Denitrification and Their Degradation in Aquatic Environments. *Water*, *15*(14). https://doi.org/10.3390/w15142536

Pániková, K., Bílková, Z., & Malá, J. (2023). The Behavior of Terbuthylazine, Tebuconazole, and Alachlor during Denitrification Process. *Journal of Xenobiotics*, *13*(4), 560-571. https://doi.org/10.3390/jox13040036

ČLÁNKY V RECENZOVANÝCH ČASOPISECH

Pániková, K. (2021). Optimalizace metodiky pro testování pesticidů. *Vodovod.info - vodárenský informační portál* [online], 2021(2). Dostupný z: http://vodovod.info. ISSN 1804-7157.

KONFERENČNÍ ČLÁNKY V DATABÁZÍCH SCOPUS A THOMSON REUTERS

Pániková, K., Malá, J., & Bílková, Z. (2023). Atrazine under denitrifying conditions. In *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM 2022* (s. 21-28). STEF92 Technology. ISBN 978-619-7603-54-5. ISSN 1314-2704. https://doi.org/10.5593/sgem2022V/3.2/s12.03

DALŠÍ PŘÍSPĚVKY NA KONFERENCÍCH

Pániková, K., & Malá, J. (2019). Chování terbuthylazinu za denitrifikačních podmínek. In 13. b*ienální konference Voda 2019 - sborník přednášek a posterových sdělení* (s. 465-468). Asociace pro vodu ČR z.s. (CzWA)

Pániková, K., Bílková, Z., & Malá, J. (2021). Pesticidní látky a denitrifikační podmínky. In 14. b*ienální konference Voda 2021 - sborník přednášek a posterových sdělení* (s. 465-472). Asociace pro vodu ČR z.s. (CzWA)

Pániková, K., Bílková, Z., & Malá, J. (2020). Behaviour of pesticides during the denitrification process. In *MendelNet 2020* (s. 542-547). Mendel University in Brno. ISBN 978-80-7509-765-1. https://mendelnet.cz/mendelnet2020/

Pániková, K., Bílková, Z., & Malá, J. (2021). Pesticides and long-term denitrification conditions. In *MendelNet 2021* (s. 458-463). Mendel University in Brno. ISBN 978-80-7509-821-4. https://mendelnet.cz/mendelnet2021/

Pániková, K. (2021). Optimization of a short denitrification inhibition test for pesticide testing. In *KOMVY 2021* (s. 101-108). Slovak University of Technology in Bratislava in Publishing House SPEKTRUM STU. ISBN 978-80-227-5092-9.

Pániková, K. (2020). Vývoj testu inhibice denitrifikace. In: *Juniorstav 2020* (s. 515–519). ECON publishing, s.r.o. ISBN 978-80-86433-73-8. https://juniorstav.fce.vutbr.cz/download

Pániková, K. (2021). Průběh dlouhodobého testu denitrifikace. In: *Juniorstav 2021* (s. 422–427). ECON publishing, s.r.o. ISBN 978-80-86433-75-2. https://juniorstav.fce.vutbr.cz/download

Pániková, K. (2022). Chování atrazinu za denitrifikačních podmínek. In Juniorstav 2022 (s. 403-408). ECON publishing, s.r.o. ISBN 978-80-86433-76-9. https://juniorstav.fce.vutbr.cz/download

ŽIVOTOPIS AUTORA

Osobní údaje

Jméno: Kristína Pastorek Pániková
Datum narození: 20. 04. 1994
Email: panikova.k@gmail.com

Dosažené vzdělání

02/2019 – dosud	Vysoké učení technické v Brně Fakulta Stavební (PhD.)
09/2013 – 02/2019	Vysoké učení technické v Brně Fakulta Stavební (Bc., Ing.)
09/2009 – 06/2013	Gymnázium Jána Papánka, Bratislava

Pracovní zkušenosti

06/2022 – dosud	SWECO, a.s. Projektant vodohospodářských staveb
09/2020 – 06/2021	Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební Asistent na Ústavu chemie
07/2021 – 12/2021	AQUA PROCON s.r.o. (projektant, DPP)
06/2018 – 08/2018	AQUA PROCON s.r.o. (projektant, DPČ)
05/2015 – 12/2017	STAUFEN AG Marketing & Academy

Jazykové dovednosti	Slovenský jazyk – mateřský jazyk Čeština – úroveň dle CEFR C2 Anglický jazyk – úroveň dle CEFR B2 Ruský jazyk – úroveň dle CEFR B2
Řidičský průkaz	skupiny B
Ostatní dovednosti	MS Office, QGis, AutoCAD, ArcMap, Civil 3D, Revit, MicroStation, HydroNet

ABSTRACT

Runoff from agricultural areas contains high concentrations of substances such as pesticides and nitrates, which can have a negative effect on the quality of surface and groundwater. Water is essential for life and its contamination by these substances poses a risk to the aquatic biocenosis. Pesticides and other xenobiotics could be removed from the water system by decomposition and/or adsorption in denitrification bioreactors, which are primarily designed to remove nitrates from agricultural runoff. Currently, however, there is a lack of data from the monitoring of pesticides and other xenobiotics during the operation of bioreactors, as well as a standardized laboratory methodology for testing pesticide substances under denitrification conditions. This doctoral thesis deals with the behaviour and fate of pesticide substances under denitrification conditions, which are typical for denitrification bioreactors and groundwater, using a self-developed testing methodology.

The thesis is divided into a theoretical and an experimental part. The theoretical part forms the basis for the development and optimization of the own methodology for testing pesticide substances under denitrification conditions. In the first half of the experimental part, individual parameters of the test, such as initial concentrations of $N\text{-}NO_3$, fractions and mass of organic material used, dose of $NaHCO_3$ and $HgCl_2$, are optimized using a series of laboratory tests. In the second half of the experimental part, the proposed short-term and long-term test methodology is used for testing five selected fungicides and herbicides. For each of the tested substances, the stimulatory/inhibitory effect on the denitrification process is evaluated at a concentration of the tested substance of 100 µg/l. Furthermore, the biotic and abiotic loss of the tested substance during the test is evaluated. No significant inhibition of the denitrification process was observed for any of the tested pesticides. Conversely, significant stimulation was observed after 21 days for alachlor (49%) and after seven days for tebuconazole (35%). Adsorption, which is probably the main mechanism of abiotic loss, occurred for all tested pesticides only during the first seven days of the experiments and then increased only negligibly. A biotic loss, corresponding to biochemical degradation, was measured only in the case of alachlor (4%).

The main objective of the doctoral thesis, which was to evaluate the effect of five selected triazine herbicides and fungicides on the denitrification process, as well as to understand their behaviour under denitrification conditions, was successfully fulfilled. As part of the thesis, a reliable, easily applicable and reproducible testing methodology for the investigation of pesticide substances under denitrification conditions was proposed, which can also be used for the study of other pollutants,

such as veterinary drugs. The presented methodology makes it possible to obtain important initial information about the behaviour of pesticides and other xenobiotics in laboratory conditions and thus contribute to the development of technologies for the removal of these substances. The results also indicate the potential of denitrification bioreactors for the removal of a wide range of xenobiotics, which may contribute to the protection of surface and groundwater from contamination.