

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv kontaminace prostředí léčivy na fyziologické
charakteristiky juvenilních rostlin kukuřice**

Diplomová práce

Bc. Sabina Jelínková

Ochrana a využívání přírodních zdrojů

doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv kontaminace prostředí léčivy na fyziologické charakteristiky juvenilních rostlin kukuřice" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Františkovi Hniličkovi, Ph.D. za ochotu, trpělivost, a hlavně za čas, který mé diplomové práci a mým dotazům věnoval. Chtěla bych také poděkovat mé rodině, která se mnou měla trpělivost i v těžších chvílích, přátelům a mému partnerovi za podporu, kterou mi projevovali po dobu studia. Jmenovitě bych chtěla poděkovat Bc. Tereze Kadlecové, která věnovala mé práci čas.

Vliv kontaminace prostředí léčiv na fyziologické charakteristiky juvenilních rostlin kukuřice

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá vlivem antipyrinu, omeprazolu a směsí těchto dvou léčiv na fyziologické parametry juvenilních rostlin kukuřice seté (*Zea mays* L.) odrůda RGT Exxotik. Farmaceutické látky jsou používány ve velkém množství po celém světě a rok od roku se jejich spotřeba zvyšuje. Tyto látky se následovně dostávají do prostředí díky nedokonalému odstraňování léčiv z odpadní vod a dalšími způsoby.

Rostliny byly pěstovány hydroponicky v minerální vlně ve skleníku katedry botaniky a fyziologie rostlin ČZU v Praze. Ve skleníku byly pěstovány v částečně řízených podmínkách. Zvolené koncentrace léčiv v pokusu, ve kterých byly varianty pěstovány, byly 0,1; 10; 100; 500 a 1000 mg/l a jedna varianta byla kontrolní. Během pokusu bylo provedeno 6 odběrů a to po 0, 24, 72, 168, 240 a 336 hodinách po první aplikaci léčiv. Pokus byl zahájen při fázi BBCH 13–15. Sledovanými parametry byl osmotický potenciál, maximální kvantový výtěžek fluorescence, potenciální účinnost fluorescence, rychlost výměny plynů (rychlost transpirace a fotosyntézy), obsah celkového chlorofylu a karotenoidů a obsah prolinu.

Ze získaných výsledků vyplývá, že se obsah prolinu u všech rostlin zvýšil, a to nejvíce u variant ošetřených směsí léčiv. Nejvyšší naměřená průměrná hodnota byla u varianty ošetřené směsí léčiv při 6. odběru a dosahovala 160,39 $\mu\text{g/g}$. U osmotického potenciálu došlo k největšímu snížení také při 6. odběru u variant ošetřených 500 a 1000 mg/l směsí léčiv a průměrně klesl na -2,510 MPa. Maximální kvantový výtěžek a potenciální účinnost fluorescence byla u každé varianty nižší než u kontrolních rostlin. K největšímu snížení u F_m/F_v a F_v/F_0 došlo u rostlin pěstovaných v pěstebním médiu se směsí léčiv (500 mg/l) u posledního měření a to na 0,5807 (F_m/F_v) a v případě F_v/F_0 na 1,832. Rychlost fotosyntézy byla nižší u všech variant oproti kontrolním rostlinám a nejnižší průměrné hodnoty byly naměřeny u směsi léčiv. Rychlost transpirace se nejvíce snížila u všech léčiv ošetřených rostlin při 2. a 3. termínu měření a následně se zvýšila. Celkový chlorofyl se nejvíce snížil u varianty pěstované se směsí léčiv (500 mg/l) a nejnižší průměrný obsah byl 7,022 nmol/cm^2 (4. měření). Obsah karotenoidů byl nejnižší u 6. měření (směs léčiv - 10 mg/l) a byl 0,941 nmol/cm^2 .

Klíčová slova: Kukuřice, fyziologické parametry, omeprazol, antipyrin, prolin

Effect of environmental contamination with pharmaceuticals on physiological characteristics of juvenile maize plants

Summary

This thesis deals with the effect of antipyrine, omeprazole and mixtures of these two drugs on physiological parameters of juvenile maize (*Zea mays* L.) plants of the variety RGT Exxotik. The pharmaceutical substances are used in large quantities all over the world and their consumption is increasing year by year. These substances are subsequently released into the environment through imperfect disposal of pharmaceuticals from wastewater and other means.

Plants were grown hydroponically in mineral wool in the greenhouse of the Department of Botany and Plant Physiology of the Czech University of Life Sciences in Prague. In the greenhouse they were grown under partially controlled conditions. The selected concentrations of drugs in the experiment in which the variants were grown were 0.1; 10; 100; 500 and 1000 mg/l and one variant was the control. During the experiment, 6 samplings were done and at 0, 24, 72, 168, 240 and 336 hours after the first drug application. The experiment was started at BBCH stage 13-15. The parameters monitored were osmotic potential, maximum quantum yield of fluorescence, potential fluorescence efficiency, gas exchange rate (transpiration and photosynthesis rate), total chlorophyll and carotenoid content and proline content.

The results show that the proline content increased in all plants, most of all in the variants treated with the drug mixture. The highest average value measured was in the variant treated with the drug mixture at the 6th sampling and reached 160.39 $\mu\text{g/g}$. The osmotic potential also decreased the most at the 6th sampling for the variants treated with 500 and 1000 mg/l drug mixtures and decreased on average to -2.510 MPa. The maximum quantum yield and potential fluorescence efficiency were lower in each variant than the control plants. The greatest reduction in F_m/F_v and F_v/F_0 occurred in plants grown in growth medium with the drug mixture (500 mg/L) at the last measurement, to 0.5807 (F_m/F_v) and 1.832 (F_v/F_0), respectively. The photosynthetic rate was lower in all treatments compared to control plants and the lowest mean values were measured for the drug mixture. The transpiration rate decreased the most in all drug treated plants at the 2nd and 3rd measurement dates and increased thereafter. Total chlorophyll decreased the most in the variant grown with the drug mixture (500 mg/l) and the lowest average content was 7.022 nmol/cm^2 (4th measurement date). The carotenoid content was lowest in the 6th measurement (drug mixture - 10 mg/l) and was 0.941 nmol/cm^2 .

Keywords: Maize, physiological parameters, omeprazole, antipyrine, proline

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Léčiva v prostředí.....	3
3.2	Léčiva v půdě.....	7
3.3	Vstup a transport léčiv rostlinami.....	8
3.4	Účinky léčiv na necílové organismy.....	9
3.5	Odstraňování léčiv	12
3.5.1	Fyzikální metody	12
3.5.2	Biochar.....	13
3.5.3	Biologické metody	14
3.5.4	Membránová metoda	15
3.5.5	Ionizující záření	15
3.5.6	Ozonizace	15
3.5.7	Fentonova oxidace	15
3.5.8	UV záření.....	16
3.6	Omeprazol.....	16
3.6.1	Omeprazol v prostředí	17
3.6.2	Vliv omeprazolu na rostliny	17
3.7	Antipyrin.....	17
4	Metodika.....	19
4.1	Založení pokusu.....	19
4.2	Osmotický potenciál.....	20
4.3	Fluorescence	20
4.4	Rychlost výměny plynů.....	20
4.5	Fotosyntetické pigmenty.....	21
4.6	Obsah prolinu.....	21
4.7	Vyhodnocení výsledků	21
5	Výsledky	22
5.1	Osmotický potenciál.....	22
5.2	Fluorescence	24
5.3	Rychlost výměny plynů.....	28
5.4	Fotosyntetické pigmenty.....	33
5.5	Prolin	37
6	Diskuze	39
6.1	Osmotický potenciál.....	39

6.2	Fluorescence.....	39
6.3	Rychlost výměny plynů.....	40
6.4	Fotosyntetické pigmenty	41
6.5	Prolin	42
7	Závěr	43
8	Literatura.....	44

1 Úvod

Životní prostředí je znečištěno velkým množstvím kontaminantů pocházejících z antropogenních zdrojů vzhledem k růstu a vývoji lidské populace. Léčiva, i když jsou v prostředí v poměrně malých koncentracích, mohou představovat problém jak ve vodním prostředí, tak v půdě díky jejich velké spotřebě. Vzhledem k jejich biologicky aktivní povaze mohou ovlivňovat necílové organismy včetně rostlin i v malých koncentracích a jejich účinky mohou být různorodé. Vzhledem k tomuto je nutné se zabývat vlivy farmaceutických látek a zamezovat jejich vypouštění do prostředí.

Do prostředí se dostávají vlivem velké spotřeby u živočichů a lidí skrze odpadní vody, kaly, hnůj a nevhodným odstraňováním farmaceutických odpadů. Mikropolutanty nejsou obecně dokonale odstraňovány v čistírnách odpadních vod a tímto způsobem se jak původní látky, tak metabolity léčiv dostávají do půd, vod, potravin a mohou se nacházet i v pitné vodě. Ve vodním prostředí mohou ovlivňovat fyziologické funkce a chování organismů. V půdě si mohou bakterie tvořit rezistenci vůči antibiotikům, a to může mít až katastrofické dopady na lidskou populaci.

V půdě mohou rostliny přijímat kořeny farmaceutické látky společně s vodou a živinami a následně pak ovlivňovat jejich růst a další fyziologické funkce. V rostlinách také probíhá jejich translokace, díky které se mohou léčiva dostávat do různých částí rostlin včetně konzumních částí.

Tato diplomová práce se zabývá vlivem omeprazolu, antipyrinu a směsi těchto dvou léčiv na fyziologické parametry juvenilní kukuřice (*Zea mays* L.) odrůda RGT Exxotik.

2 Cíl práce

S růstem lidské populace a rozvojem farmaceutického průmyslu jsou přírodní zdroje stále více kontaminovány, což následně ovlivňuje celý potravní řetězec. Jedná se např. o znečištění pitné vody, zemědělské půdy a potravin farmaceutickými látkami.

- Hypotézy
 - a) existuje vliv léčiv a jejich kombinace na fyziologické parametry juvenilních rostlin kukuřice;
 - b) je vliv kombinace léčiv na fyziologické parametry vyšší než jednotlivá aplikace;
 - c) lze prokázat vliv délky působení stresoru na fyziologické parametry kukuřice.

- Cíle práce
 - a) studium vlivu zvyšujících se koncentrací léčiv na primární metabolismus a fluorescenci chlorofylu jako relevantní charakteristiky stavu juvenilních rostlin kukuřice (stav rostliny).
 - b) Studium vlivu aplikace jednotlivých léčiv a jejich kombinace na rostliny (vliv varianty).

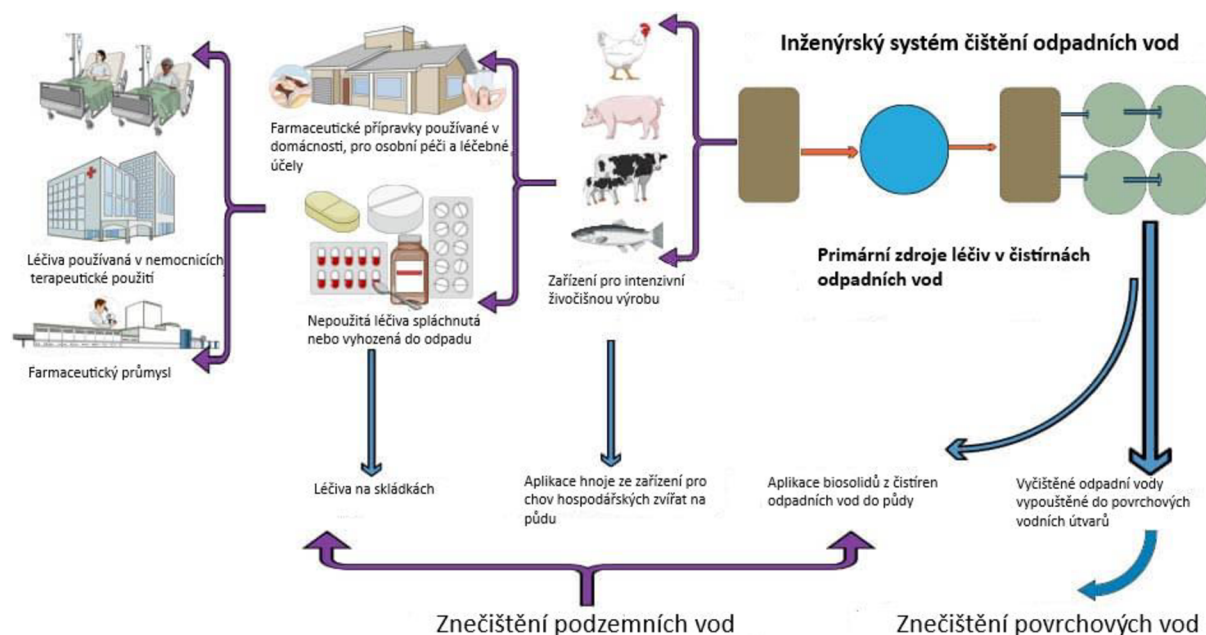
Léčiva byla vybrána vzhledem k jejich velké spotřebě a různé účinnosti odstranění v odpadních vodách, čímž se zvyšuje riziko kontaminace půd léčivy. Tyto organické polutanty mohou poté rostliny odebírat společně s vodou a živinami a mohou mít vliv na jejich fyziologické funkce.

3 Literární rešerše

3.1 Léčiva v prostředí

Léčiva jsou různorodé sloučeniny, které se ve velkém používají po celém světě k prevenci, léčbě a ke zlepšení zdraví. V organismu procházejí metabolickými procesy a jsou vylučovány v nemetabolizované formě nebo jako metabolity do odpadních vod a následně putují do čistíren odpadních vod (Jelic et al. 2011). Na Obr. 1 je znázorněna cesta léčiv od výroby po jejich vylučování do prostředí. Z uvedeného schématu vyplývá, že se léčiva mohou dostávat jak do povrchových vod, tak i do podzemních vod nevhodným vyhazováním léčiv do odpadu, aplikací hnoje obsahující léčiva do půdy nebo aplikací biosolidů z ČOV do půdy.

Technologie čištění odpadních vod nejsou dostačující k odstranění léčiv z odpadních vod a kalů, proto se dostávají do životního prostředí a mohou ovlivňovat jak vodní, tak suchozemské organismy (Jelic et al. 2011). Do půdy se PPCP (farmaceutické výrobky a výrobky osobní péče) dostávají aplikací organických odpadů včetně vyčištěných odpadních vod, biosolidů a živočišných odpadů (Zheng & Guo 2021).



Obr. 1: Schéma cesty léčiv do prostředí, upraveno dle CSUF (2021).

V provozech s koncentrovanou živočišnou výrobou není většina veterinárních léčiv plně metabolizovaná v trávicím traktu zvířat a jsou následně vylučována. To vede k tomu, že 30 až 90 % léčiv v odpadech jsou buď ve formě mateřských sloučenin, nebo ve formě jejich metabolitů. Pokud nejsou tyto odpady vypouštěny přímo do recipientu, tak nepotřebují další ošetření, což vede k poměrně vysokým koncentracím reziduí léčiv (antibiotik může být 18,9 až 56,7 milionů kg ročně) v hnoji a odpadních vodách, které obsahují hnůj (Zheng & Guo 2021).

Statistiky Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv ukazují, že celková spotřeba veterinárních léčiv v ČR u zvířat mezi roky 2008 a 2022 klesla z 95,5 tun na 35,7 tun. Díky tomuto poklesu Česká republika již v roce 2021 splňovala evropský cíl pro rok 2030, který by měl být 59,2 mg/PCU (Population correction unit – jednotka pro korekci na velikost populace zvířat a její hmotnost) (Státní veterinární správa 2023). Dle nařízení 2019/4/EC je zákaz podávat preventivně medikovaná krmiva obsahující antibiotika s účinností od ledna 2022 (ÚSKVBL 2020). V Obr. 2 je uveden prodej účinných veterinárních léčivých přípravků ve 31 evropských zemích v roce 2021.

Country	Sales (tonnes) for food-producing animals	PCU (1,000 tonnes)	mg/PCU
Austria	39.1	945.4	41.3
Belgium	168.6	1,769.5	95.3
Bulgaria	48.7	391.3	124.5
Croatia	20.7	330.8	62.7
Cyprus	45.1	152.0	296.5
Czechia	35.5	709.0	50.0
Denmark	81.9	2,452.1	33.4
Estonia	5.3	114.4	46.6
Finland	8.4	492.0	17.0
France	349.3	6,758.1	51.7
Germany	590.7	8,071.2	73.2
Greece	119.7	1,099.9	108.8
Hungary	131.6	845.8	155.6
Iceland	0.5	144.8	3.6
Ireland	93.2	2,196.1	42.4
Italy	661.7	3,812.6	173.5
Latvia	3.9	152.6	25.5
Lithuania	6.0	296.6	20.3
Luxembourg	1.5	54.2	27.1
Malta	1.6	14.8	110.5
Netherlands	147.2	3,091.9	47.6
Norway	5.5	2,196.9	2.5
Poland	775.1	4,417.2	175.5
Portugal	159.4	1,063.3	149.9
Romania	173.7	2,942.8	59.0
Slovakia	9.6	229.9	41.7
Slovenia	5.8	183.7	31.8
Spain	1,296.5	8,245.0	157.2
Sweden	8.6	787.6	10.9
Switzerland	25.9	809.8	32.0
United Kingdom	199.5	7,053.9	28.3
Total 31 countries	5,219.6	61,825.1	84.4*

Obr. 2: Prodej účinných veterinárních léčivých přípravků ve 31 evropských zemích v roce 2021 (European Medicines Agency 2022).

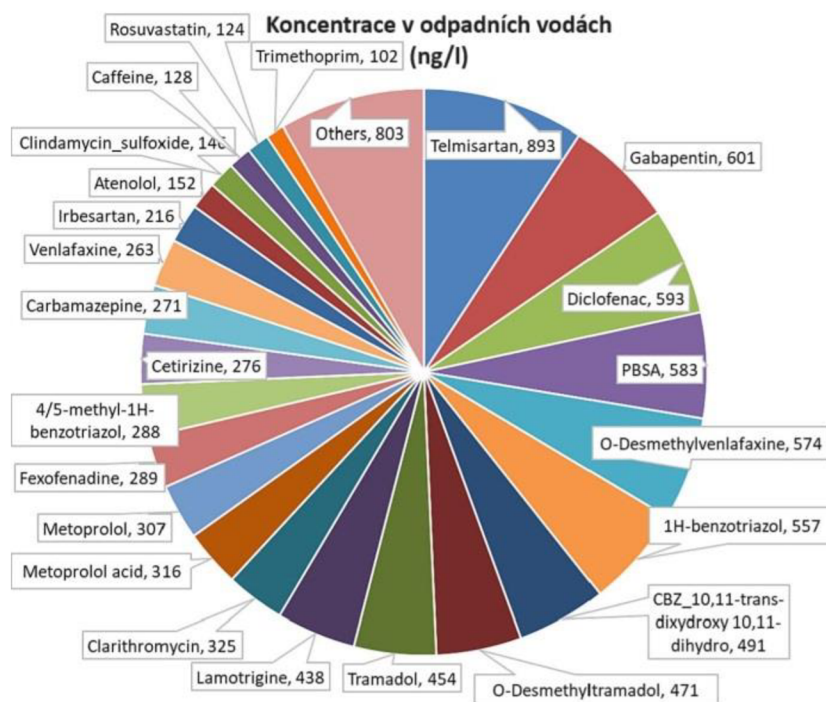
Biokaly, zejména z komunálních kalů, obsahují mnoho aktivních látek léčiv, jejichž použití na zemědělských půdách může způsobit kontaminaci půdy, povrchových a podzemních vod. To může vést ke kumulaci těchto látek v rostlinách (Gworek et al. 2021).

Kyselá léčiva (např. ibuprofen, naproxen, diklofenak a fenoprofen) se při neutrálním pH vyskytují jako ionty a málo adsorbují do kalu, adsorpce se ale zvyšuje s nižším pH. Negativně nabitá léčiva se tedy v odpadní vodě při neutrálním pH vyskytují v rozpuštěné formě (Fent et al. 2006).

Jelic et al. (2011) stanovovali četnosti detekce farmaceutických sloučenin v odpadních vodách a kalech z ČOV v regionu Katalánsko (Španělsko). Bylo analyzováno 43 farmaceutických sloučenin (např. diklofenak, karbamazepin, atenolol), kdy 32 jich bylo detekováno v přítoku, 29 v odtoku a 21 ve vzorcích kalu.

V roce 2021 v ČR bylo vyprodukováno celkově 196 577 tun sušiny kalu. K přímé aplikaci a rekultivaci bylo použito 66 082 tun, ke kompostování 81 903 tun, ke skládkování 13 753 tun, ke spalování 23 562 tun a k jiným účelům bylo použito 11 277 tun kalu (ČSÚ 2021). V roce 2022 se množství vyprodukovaných kalů v ČOV zvýšil na 197 991 tun, přímé aplikaci a rekultivaci bylo použito 63 260 tun, ke kompostování 79 777 tun, ke skládkování 19 444 tun, ke spalování 25 100 tun a k jiným účelům 10 410 tun (ČSÚ 2022).

V České republice Kodešová et al. (2024) zjišťovali koncentrace mikropolutantů ve vyčištěné odpadní vodě. Ze 75 analyzovaných sloučenin bylo zjištěno 59 sloučenin. V nejvyšších průměrných koncentracích vyšších než 100 ng/l byly antihypertenziva a jejich metabolity (např. metoprolol, atenolol), antihistaminika (fexofenadin), antibiotika a jejich metabolity (např. klaritromycin), psychoaktivní látky (např. diklofenak, tramadol, venlafaxin, karbamazepin) a benzotriazoly. V průběhu roku se koncentrace léčiv měnily a byly ovlivněny množstvím odpadních vod vypouštěných z města a proměnlivou spotřebou některých látek. Podrobněji jsou uvedeny koncentrace mikropolutantů v odpadních vodách v ng/l na obr. 3.



Obr. 3: Koncentrace mikropolutantů v odpadních vodách upraveno dle Kodešová et al. (2024).

Pokrok analytických technik a přístrojového vybavení zvýšil schopnost detekovat léčiva. Přítomnost léčiv v odpadních vodách byla identifikována jako zdroj farmaceutik v pitné vodě. Jejich koncentrace se pohybuje v povrchových i podzemních vodách a částečně upravené vodě v hodnotách menších než 0,1 µg/l, v upravených vodách je to obvykle méně než 0,05 µg/l (WHO 2012).

Běžné čistírny odpadních vod se vyznačují biologickým stupněm čištění, kdy se využívá procesu odstraňování organických látek vlivem aktivovaného kalu. Běžné procesy čištění odpadních vod vykazují míru odstranění léčiv od méně než 20 % do více než 90 %, to ovlivňuje stáří kalu, teplota v nádrži aktivovaného kalu a hydraulická doba zdržení. K vyšší míře jejich odstranění můžeme docílit hygienizací odpadní vody, a to reverzní osmózou, ozonizací a pokročilými oxidačními technologiemi (WHO 2012).

V České republice byl podpořen projekt díky Norským fondům prostřednictvím Státního fondu životního prostředí ČR v areálu fakultní Thomayerovy nemocnice. Jedná se o postavení nového zařízení obsahující mikrofiltrační jednotku, ozonizaci a filtry s granulovaným aktivním uhlím, na čištění odpadních vod umožňující efektivnější a účinnější odstraňování polutantů (až 90 %) přímo u zdroje. Jedná se zejména o mikropolutanty jako jsou farmaceutické látky (PVK 2024).

Castellano-Hinojosa et al. (2023) se zabývali protinádorovými léky (např. alkylační látky, antimetabolity, rostlinné alkaloidy, cytotoxická antibiotika, inhibitory proteinkináz) v odpadních vodách a v přírodním prostředí. Bylo zjištěno, že 28 ze 44 studovaných látek se nacházelo v odpadních vodách z nemocnic, ovšem vyšší obsah látek byl v přítocích (33 ze 44

látek) a odpadních vodách z ČOV (29 látek). Některé látky jsou odstraňovány konvenčními procesy čištění odpadních vod, ale jiné lze detekovat v řádu stovek ng/l ve výtocích z ČOV. Protinádorové léky byly detekovány i v povrchových vodách, sedimentech řek i v podzemních vodách, což napovídá o jejich perzistentní povaze. Některé z nich byly detekovány i v pitné vodě v koncentracích menších než 13 ng/l.

Spotřeba antidepresiv se za posledních dvacet let dramaticky zvýšila. V Evropě je spotřeba (definovaná denní dávka) antidepresiv na 1000 osob/den nejvyšší na Islandu, v Portugalsku, ve Spojeném Království a ve Švédsku. Česká republika je ve spotřebě na desátém místě (Yanatma 2023). V roce 2010 byla v ČR definovaná denní dávka antidepresiv na 1000 osob/den 41,6 a v roce 2021 69,4 (OECD 2023).

3.2 Léčiva v půdě

Farmaceutické výrobky a výrobky osobní péče (PPCP) se mohou v půdě vázat na pevné půdní složky. Poté mohou procházet degradací, sorpcí nebo mohou migrovat do povrchových a podzemních vod. Díky těmto procesům zůstávají v půdách rezidua, která jsou o několik řádů nižší než původní látky. Při opakované aplikaci biosložek nebo zavlažováním rekultivovanou odpadní vodou se mohou koncentrace farmaceutik v půdě zvýšit (Zheng & Guo 2021).

Pouze část rozpuštěných organických sloučenin v půdní vodě je dostupná pro rostliny. Rozpuštěné látky se vyluhují půdou, tím se dostávají kontaminanty z kořenové zóny a snižuje se tak dostupnost látek pro rostliny. Sorpce také ovlivňuje dostupnost léčiv pro mikroorganismy. Polární a ionizovatelné PPCP obsahují strukturní části a ty umožňují interakce s minerálními a organickými povrchy. Změny v rhizosféře mohou změnit interakci organických kontaminantů s půdními složkami. Organická hmota v půdě je důležitým sorbentem pro PPCP (Miller et al. 2016). Rostliny, které jsou pěstované v půdě s vyšším obsahem organických látek a jílu mají obvykle nižší absorpci PPCP než rostliny v písčitéch půdách (Zheng & Guo 2021).

Fotolýza, hydrolýza a redoxní reakce jsou abiotické procesy, které mohou ovlivňovat farmaceutické produkty v půdě. Přímá fotolýza se v tomto případě považuje za nedůležitou, vzhledem k tomu, že v půdě dochází k útlumu světla. Organické látky náchylné k hydrolýze mohou být hydrolyzovány při čištění odpadních vod nebo v půdním prostředí, například β -laktamová antibiotika mohou být v půdě rychle hydrolyzována. Hydrolýza může být interakcí s oxidy kovů inhibována nebo katalyzována v závislosti na struktuře sloučeniny (Miller et al. 2016).

V rhizosféře mohou kořenové exudáty, bakterie a houby ovlivnit transformaci PPCP. Sacharidy v kořenových exudátech jsou zdrojem uhlíku pro mikroorganismy, to vede k vyšší mikrobiální aktivitě v rhizosféře. PPCP jsou často náchylné k mikrobiálnímu rozkladu a konjugované metabolity mohou být někdy dekonjugovány. Antibiotika mohou změnit složení mikrobiálního společenstva, snížit míru nitrifikace a půdní respirace a v některých případech mohou snížit rychlost rozkladu jiných PPCP. Úplná mineralizace mnoha farmaceutických látek je nízká, ale vysoce reaktivní sloučeniny (analgetika a nesteroidní antiflogistika) mohou být mineralizovány mikrobiálními procesy (Miller et al. 2016).

Kodešová et al. (2015) zkoumali sorpci 7 léčiv ve 13 půdách v České republice. Nejvyšší sorpce byla u klaritromycinu, trimetoprimu, metoprololu, atenolu, klindamycinu,

karbamazepinu a sulfametoxazolu. Nejvyšší mobilita byla zaznamenána tedy u karbamazepinu a sulfametoxazolu. V případě trimetoprimu a karbamazepinu byla sorpce řízena hlavně Cox. V dalších případech sorpce závisela na pH půdy a na počtu dostupných míst pro sorpci. Vzhledem k pKa farmaceutických sloučenin řídilo sorpci léčiv buď nasycení bazickými kationty, nebo hydrolitická kyselost. U klarithromycinu hrálo největší roli nasycení sorpčního komplexu.

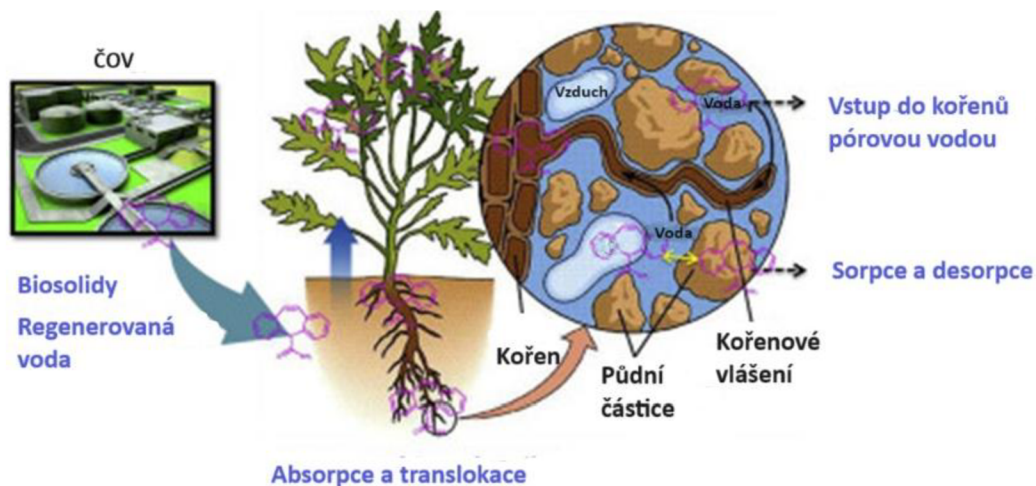
3.3 Vstup a transport léčiv rostlinami

Farmaceutické sloučeniny mají velmi různorodou strukturu. Speciálně PPCP ovlivňuje jejich schopnost pasivně procházet membránou kořenových buněk. Iontové druhy se hůře přijímají kořeny, narozdíl od neiontových sloučenin (Chuang et al. 2019). Kationtové sloučeniny mohou být zachyceny na negativně nabitěm povrchu kořene a omezuje se tak přenos látek do kořenové kůry. Aniontové látky jsou odpuzovány záporně nabitými buněčnými stěnami. Neiontové PPCP jsou schopny snadno procházet membránou kořenových buněk (Zheng & Guo 2021). Na obr. 4 je uvedeno schéma cesty léčiv do půdy a jejich přijímání a translokace rostlinami. Z něj vyplývá, že léčiva rostlina přijímá kořeny společně s vodou v půdních pórech.

Rozsah příjmu PPCP se obvykle hodnotí biokoncentračním faktorem (BCF). Biokoncentrační faktor je poměr koncentrace analytu v rostlině a koncentrace v růstovém médiu. Některé PPCP (triklokarban, fluoxetin, diazepam a triklosan) mohou být více koncentrované v kořenech a některé mohou být více koncentrované v listech (karbamazepin, fluoxetin, dilantin a diazepam), což znamená, že takové PPCP mají vysoký potenciál translokace v rostlinách (Wu et al. 2015).

Koncentrační faktory PPCP závisí na době expozice, vlastnostech půdy, vlhkosti, druhu rostliny, teplotě a také na tom, zda se koncentrace počítají na základě mokré nebo suché hmotnosti. Hodnoty kořenového koncentračního faktoru (RCF) pro mnoho typů PPCP se pohybují mezi ~0,01 do ~1000 (Miller et al. 2016).

Sloučeniny, které se dostanou do vodivých pletiv mohou být přenášeny xylémem nebo floémem do výhonků, listů a plodů. Zvýšená transpirace koreluje s odebráním zejména kationtových a neutrálních PPCP z živného roztoku. V xylému je obsažena řada proteinů, které mohou hrát roli při transportu PPCP. Proteiny podobné latexu se podílejí na translokaci hydrofobních organických sloučenin a mohou se tak podílet na translokaci PPCP. Přenos mnoha herbicidů probíhá ve floému a očekává se, že bude i důležitý pro přenos PPCP do konzumních částí. V nadzemních částech se hromadí látky, které se do kořene dostávají pasivní difúzí do symplastické cesty nebo aktivním příjmem do buněk. Takové sloučeniny nejsou omezeny Caspariho proužky a mohou skončit v listech, pokud prochází xylémem nebo v plodech, pokud jsou transportovány floémem (Miller et al. 2016).



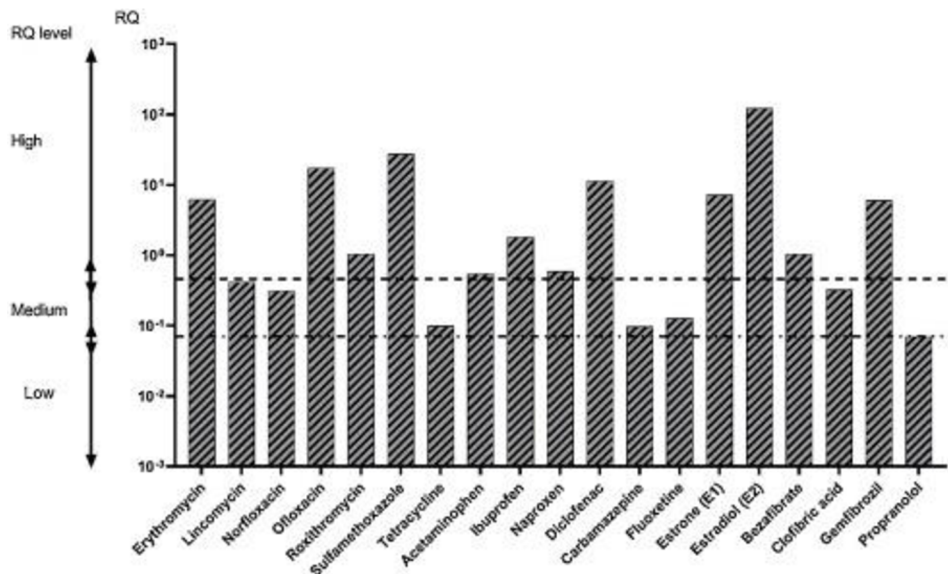
Obr. 4: Přijímání a translokace léčiv rostlinami, upraveno dle Li et al. (2019).

3.4 Účinky léčiv na necílové organismy

Farmaceutické přípravky působí na specifické metabolické a molekulární dráhy u zvířat a lidí a mají také velice často různé vedlejší účinky. V životním prostředí tak mohou ovlivnit stejné dráhy u zvířat. U mnoha léčiv nejsou známy specifické způsoby účinku (Fent et al. 2006).

Nesteroidní antiflogistika (NSAID) jakožto biologicky aktivní látky mohou mít účinky na organismy již v malých koncentracích, a tak ovlivňovat všechny prvky potravního řetězce. U rostlin mohou tyto látky způsobovat oxidační stres nebo vyvolat hormezi při nižších koncentracích, to vše závisí na typu, koncentraci, délce expozice, na druhu rostliny a jejím vývojovém stádiu (Pawłowska et al. 2021).

Pro hodnocení environmentálního rizika léčiv v odpadních vodách na vodní prostředí se nejčastěji využívá RQ (kvocient rizika). RQ je podíl maximální koncentrace cílových léčivých látek ve vzorku a předpokládané koncentrace bez účinku u organismů. Při $RQ < 0,1$ není žádné riziko nebo zanedbatelné, $0,1 \leq RQ \leq 1,0$ je riziko střední a $RQ \geq 1,0$ je riziko potencionálně vysoké pro vodní organismy (Khasawneh & Palaniandy 2021). Na obr. 5 jsou uvedena nejčastěji zjištěná léčiva ve vodním prostředí společně s jejich hodnotami RQ.



Obr. 5: Nejčastěji zjištěná léčiva a jejich hodnoty RQ ve vodním prostředí (Khasawneh & Palaniandy 2021).

PPCP mohou mít negativní vliv na fyziologické funkce rostlin. Mohou ovlivňovat růst, klíčení a vývoj rostlin. Sulfonamidová antibiotika mohou mít negativní účinky na vodní rostlinu *Vallisneria natans* jako je pokles rychlosti růstu a délky listů, celkového obsahu chlorofylu, autofluorescence chloroplastů a mají okrajově vliv na délku kořenů. Fluorochinolony vykazují významnou toxicitu pro rostliny, jelikož snižují rychlost reprodukce, prodlužování výhonků a kořenů a dochází k chloróze. Při rostlinném stresu PPCP vykazují rostliny určitou odolnost a spouštějí indukcii reaktivních forem kyslíku (O_2 a H_2O_2) a antioxidačních enzymů (Kurade et al. 2021).

Ve studii Pawłowska et al. (2021) bylo zjištěno, že koncentrace NSAID (naproxen a diklofenak) významně ovlivnily délku kořenů jarního ječmene oproti kontrole. Došlo k poklesu délky kořenů v nejvyšších koncentracích sloučenin. Při aplikaci naproxenu a naproxenu + diklofenaku od 50 mg/kg bylo pozorováno zvýšení hmotnosti sušiny rostlin. Společně se zvýšením hmotnosti sušiny byl zaznamenán pokles výnosu čerstvé hmotnosti. Bylo pozorováno zvýšení prolinu v rostlinách při nejvyšších koncentracích (100 a 1000 mg/kg) naproxenu a naproxenu + diklofenaku, samotný diklofenak nezpůsobil velké změny. Prolin je aminokyselina, která reguluje osmotický potenciál rostlinných buněk, ten se při oxidačním stresu snižuje. Také chrání subcelulární strukturu, enzymy a zvyšuje buněčnou osmolaritu, která je kritická pro proliferaci buněk za stresových podmínek. Naproxen v této studii ovlivnil také aktivitu antioxidačních enzymů.

Kudrna et al. (2023) sledovali vliv kontaminace paracetamolu na kukuřici. Zjistili, že nejnižší rychlost fotosyntézy nastala při koncentraci paracetamolu 1000 mg/l, kdy se snížila o 77 % a při koncentraci 800 mg/l, kdy se snížila o 72 % oproti kontrolní variantě. Nejvyšší rychlost fotosyntézy vykazovaly rostliny v podmínkách s nejnižšími koncentracemi, kdy při koncentraci paracetamolu 200 mg/l klesla o 3 %, při 400 mg/l o 4 % oproti kontrole. Mezi koncentracemi 600 a 800 mg/l došlo ke skokovému poklesu. Rychlost transpirace byla při koncentraci paracetamolu 200 mg/l snížena o 9 % oproti kontrole, při 400 mg/l o 17 %, při

600 mg/l o 27 %, mezi 600 a 800 mg/l byl zaznamenán statisticky průkazný pokles rychlosti transpirace. Obsah prolinu vzrostl u všech vzorků, u vzorku s 200 mg/l paracetamolu se zvýšil o 22 %, při 800 mg/l o 41 % a při 1000 mg/l o 78 % oproti kontrole. Bylo zjištěno, že u většiny parametrů je kritický bod mezi koncentracemi 600 až 800 mg/l, kdy se projevy stresu začínají výrazně zintenzivňovat, až tedy na prolin, kdy byl zjištěn kritický bod mezi 800 až 1000 mg/l.

Kudrna et al. (2020) se zabývali vlivem paracetamolu na hlávkový salát (*Lactuca sativa*). Z jejich výsledků vyplynulo, že při akutním působení léčiva se neprůkazně zvýšil obsah pigmentů v listech. Při nejvyšší koncentraci paracetamolu (5 mM/l) se zvýšil obsah karotenoidů o 21,51 % a chlorofylu o 8,12 % oproti kontrole. U chronického ošetření bylo zjištěno statisticky významné zvýšení u varianty s koncentrací paracetamolu 500 μ M/l, kdy se chlorofyl zvýšil o 27,46 % a karotenoidy o 41,8 % oproti kontrole. Zvýšení obsahu chlorofylu může souviset se snížením enzymatických aktivit. Vysoké množství léčiva výrazně snížilo rychlost fotosyntézy i fluorescence chlorofylu a. Obsah karotenoidů se zvyšoval se zvyšující se koncentrací paracetamolu. Chronická expozice paracetamolu má negativní vliv na zkoumané parametry oproti akutní expozici.

Hájková et al. (2019) pozorovali účinky diklofenaku na fotosyntetické procesy chloroplastů u *Lemna minor* L. Byla zpozorována významná produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku a zvýšená peroxidace lipidů v izolovaných chloroplastech v rozmezí koncentrace diklofenaku od 1 až 10 μ m. To vše mělo pravděpodobně vliv na změny funkcí primárních fotosyntetických procesů. Reakce fotosystémů I a II a aktivita Hillovy reakce byly zjištěny ve vyšších koncentracích diklofenaku a to mezi 100 a 1000 μ m, aktivita RuBisCO byla snížena v podobném rozmezí diklofenaku.

Zezulka et al. (2019) konstatovali, že rostlinné orgány kukuřice a hrachu akumulovaly paracetamol a diklofenak v intaktní formě a obsah v orgánech dobře koreloval s obsahem ošetření (koncentrace 0,1, 1, 5 a 10 mg/l). V kořenech, které byly v přímém kontaktu s roztoky, byly zaznamenány nejvyšší obsahy léčiv. Kořeny kukuřice akumulovaly pětikrát vyšší množství diklofenaku než kořeny hrachu, které více akumulovaly paracetamol. Při vysokém ošetření diklofenakem a paracetamolem se omezil růst primárních kořenů, ale růst postranních nebo adventivních kořenů se zvýšil. Délka stonku kukuřice v roztoku s 10 mg/l diklofenaku se snížila o 45 % a jeho sušina o 70 %, u hrachu se délka snížila o 37 % a sušina o 46 %. I u listů kukuřice a hrachu byl zaznamenán významný úbytek plochy a hmotnosti listů při ošetření 10 mg/l diklofenaku a paracetamolu. Obě léčiva způsobovala v rostlinách oxidační stres, kdy byla zvýšena produkce reaktivních forem kyslíku a nastávaly změny v aktivitě obranných antioxidačních mechanismů.

Protinádorové léky byly navrženy tak, aby narušovaly nebo zabraňovaly buněčné proliferaci většinou zásahem do syntézy DNA. Protinádorové léky mohou mít u organismů cytotoxické, genotoxické, karcinogenní, mutagenní, endokrinní nebo teratogenní účinky. Tyto léky mají významný toxikologický účinek ve srovnání s ostatními léčivy. Neodstraňují se konvenčními způsoby čištění odpadních vod, což je problém i u nekonvenčních technologií. Vzhledem k tomu je velká pravděpodobnost, že se dostanou tato léčiva do životního prostředí (Ferrando-Climent et al. 2014).

Toxicita léčiv u necílových organismů jako jsou dravci a mrchožrouti, je způsobena akumulací léčiv v trofických úrovních, kde jsou predátoři na vrcholu (Siemieniuk et al. 2021). Ve Španělsku bylo zaznamenáno první otrávení supa diklofenakem, což nasvědčuje tomu, že

předpisy zavedené k zamezení intoxikace diklofenakem nejsou vždy dodržovány (Herrero-Villar et al. 2021).

3.5 Odstraňování léčiv

Farmaceutický odpad obsahuje zbytky léčiv s BSK (biologická spotřeba kyslíku), CHSK (chemická spotřeba kyslíku), farmaceuticky aktivními sloučeninami (např. hormony, antibiotika) a těkavými organickými sloučeninami. Problémem při nakládání s odpadními vodami obsahující farmaceutické látky je jejich proměnlivý charakter a míchání průmyslových, domácích a nemocničních odpadních vod (Pal 2017). Metody odstraňování PPCP se obecně dělí na fyzikální, chemické a biologické metody (Wang & Wang 2016).

Konvenční čištění odpadních vod, kterou je adsorpce, koagulace, biooxidace, sedimentace a filtrace nemohou farmaceutické látky zcela odstranit, a to ani v kombinaci s dezinfekcí odpadních vod chlorací a UV zářením. Jiné způsoby čištění (např. pokročilé oxidační procesy) odpadních vod může vést k tvorbě toxických meziproductů, které vyžadují další čištění, nebo jsou ekonomicky nepřijatelné v komerčním měřítku vzhledem k vysokým nákladům (Ganiyu et al. 2015).

Mezi dostupné a finančně efektivní řešení pro odstranění mikropolutantů se zařazuje aktivní uhlí, ozonizace nebo jejich kombinace. V některých případech může být finančně efektivní membránová filtrace, obzvláště když normy kvality odpadních vod musí být vysoké. Přírodní řešení jako jsou mokřady, jsou atraktivní díky nízké energetické náročnosti, jednoduchosti a vedlejším přínosům. Mokřady však vyžadují prostory, které nemusí být k dispozici pro městské čistírny odpadních vod. Vhodnost a udržitelnost pokročilých čistících procesů je hodnocena mnoha kritérii jako je např. spolehlivost, flexibilita procesu a potřeba kvalifikovaného personálu (Pistocchi et al. 2022).

3.5.1 Fyzikální metody

Mezi fyzikálně-chemické metody se řadí iontová výměna, adsorpce, koagulace, flokulace, pění, srážení, chemická redukce a elektrochemické procesy. Kombinace těchto procesů se využívají v různých fázích čištění (Pal 2017). Dále se mezi tyto metody řadí nanofiltrace, pokročilá oxidace, filtrace reverzní osmózou a filtrace aktivním uhlím. Tyto metody bývají nákladné a některé vytvářejí vedlejší produkty, které jsou toxické pro životní prostředí (Nzila et al. 2016).

Aktivní uhlí je tradiční adsorbent a má uplatnění při adsorpci PPCP. Existují dvě formy, a to práškové aktivní uhlí a granulované aktivní uhlí. Adsorpci PPCP aktivním uhlím ovlivňuje hydrofobicita, náboj farmaceutických sloučenin a matrice vody, dále to je doba kontaktu s aktivním uhlím, pH a struktura aktivního uhlí. Nevýhodou používání aktivního uhlí je, že při delší době provozu klesá adsorpční kapacita aktivního uhlí a zhoršuje se jeho stav v systémech odpadních vod (Wang & Wang 2016).

Grafen je nový materiál jednočipové struktury a je složený z atomů uhlíku. Oxid grafenu je prekurzor grafenu a připravuje se oxidací grafitu. Grafen a oxid grafenu mají vyšší specifický povrch než aktivní uhlí, a proto by mohly být potencionálně slibnými adsorbenty pro PPCP.

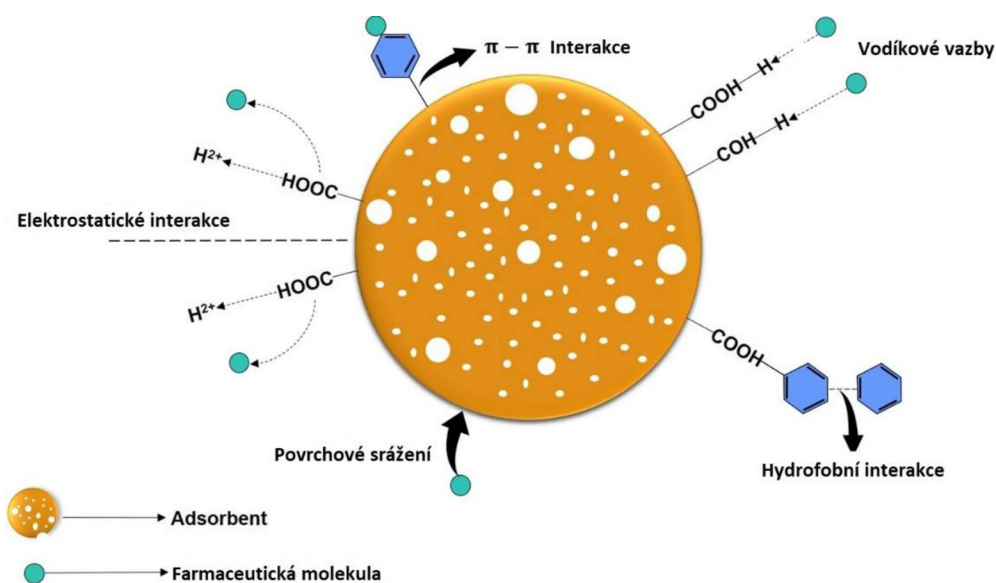
Účinnost těchto materiálů je závislá na fyzikálně-chemických vlastnostech PPCP, pH a na době kontaktu (Wang & Wang, 2016).

Další potencionální metodou jsou i uhlíkové nanotrubičky, které mají vysokou adsorpční kapacitu pro PPCP. Adsorpční kapacita se může lišit v důsledku chemického složení povrchu a vlastnostech uhlíkových nanotrubiček. Vícetěnné nanotrubičky dokážou účinně odstraňovat například ibuprofen, acetaminofen, karbamazepin a triclosan. U této metody je nutné zlepšit metody výroby a věnovat pozornost recyklaci (Wang & Wang, 2016).

3.5.2 Biochar

Biochar (biouhlí) je produkt pyrolýzy biomasy. Pyrolýza je termochemický rozklad biomasy za zvýšené teploty a bez přídavku kyslíku. Při pomalé pyrolýze se teploty obvykle pohybují okolo 500 °C (Weber & Quicker 2018). Jeho vlastnosti závisí na vstupní surovině, teplotě pyrolýzy, rychlosti zahřívání a době zdržení. Lze ho aktivovat k získání vylepšeného biocharu a ke zlepšení sorpční kapacity (Zhang et al. 2022).

Biochar je potencionální náhradou aktivního uhlí díky výkonnosti, ceně a šetrnosti k životnímu prostředí. Díky většímu specifickému povrchu, struktuře pórů a funkčním skupinám má biochar velice dobrou sorpční kapacitu pro různé kontaminanty (Zhang et al. 2022). Adsorbent obecně léčiva adsorbuje prostřednictvím π - π interakcí, hydrofobních interakcí, elektrostatických interakcí, povrchového srážení a van der Waalsových přitažlivých sil, viz obr. 6 (Chauhan et al. 2023). Interakce π - π je podtyp disperzních sil vznikajících mezi nenasyčenými (poly)cyklickými molekulami (Pérez & Martín 2015).



Obr .6: Mechanismy adsorpce léčiv upraveno dle Chauhan et al. (2023).

3.5.3 Biologické metody

Mikrobiální rozklad je jeden z nejdůležitějších mechanismů odstraňování organických polutantů. Má mnoho výhod jako jsou nízké náklady a mírné provozní podmínky (Wang & Wang 2016).

Biologické metody zahrnují kompostování, vermikompostování, aerobní a anaerobní metody. Při vysokém obsahu CHSK jsou ideální zejména anaerobní procesy. Další biologickou metodou je bioaugmentace (Pal 2017). Bioaugmentace je přidávání mikroorganismů se schopností organicky rozkládat rezistentní molekuly ve znečištěném prostředí. Jedná se o méně nákladnou a šetrnější metodu (Nzila et al. 2016). Bioaugmentací a biologickou aklimatizací v procesu biologické degradace organických látek lze získat převahu čistých kultur nebo smíšených kultur které jsou schopny odstraňovat znečišťující látky (Wang & Wang 2016).

K odstranění často detekovaných PPCP lze využít čisté kultury izolované z aktivovaného kalu, odpadní vody nebo sedimentu. Některé čisté kultury z aktivovaného kalu vykazují schopnost odstraňovat širokou škálu PPCP. Mezi takové kultury se řadí *Achromobacter denitrificans*, která dokáže rozkládat sulfamethoxazol a další sulfonamidy. Diklofenak lze téměř úplně degradovat bílou hnilobou bez potřeby jiného substrátu (Wang & Wang 2016).

U smíšených kultur je snadnější dosáhnout rozkladu PPCP, jelikož je někdy obtížné získat čisté kultury. Aktivovaný kal v čistírnách odpadních vod závisí na synergickém účinku smíšené kultury při odstraňování PPCP. Aktivovaný kal v některých případech vykazuje nízkou účinnost odstraňování PPCP a při přidání smíšené kultury bylo zaznamenáno zvýšené odstraňování organických polutantů. Využívání smíšené kultury by mohlo být potencialem ke zlepšení účinnosti odstraňování PPCP (Wang & Wang 2016).

Další biologickou metodou na odstraňování PPCP je fytořemediace. Fytořemediace je v porovnání s ostatními způsoby čištění odpadních vod poměrně nová, ekologická a nákladově efektivní metoda. Vzhledem k nedostatečnému pochopení enzymatických mechanismů rostlin k detoxikaci a degradaci PPCP je omezen pokrok k inženýrskému přístupu. Mezi mechanismy používané při detoxikaci organických polutantů řadíme fytoextrakci, fytoakumulaci, fytostabilizaci, fytodegradaci a fytovolatilizaci. Rostliny mají schopnost přijímat xenobiotika prostřednictvím transportních systémů (pasivním nebo aktivním transportem) společně s živinami. Pasivní transport se považuje jako běžný mechanismus vylučování většiny organických polutantů. Několik chemických látek podobných hormonům mohou být absorbovány pouze aktivním transportem (Kurade et al. 2021).

Membránový bioreaktor (MBR) je kombinací biologického procesu s membránovou filtrací. U MBR dochází k rozkladu biomasy uvnitř nádrže bioreaktoru a separace vyčištěné odpadní vody od mikroorganismů je dokončena v membránovém modulu. Výhodami MBR je menší velikost bioreaktoru s vynecháním sedimentační nádrže, žádné omezení koncentrace suspendovaného kalu, kvalitu vyčištěné vody lze určit pomocí doby zdržení pevných látek a generování vysoce kvalitní vyčištěné vody díky membráně s velikostí pórů menších, než je velikost suspendovaných látek. Nevýhodami MBR je zanášení membrán, vyšší investiční a provozní náklady, složitost procesu (dána údržbou a metodami čištění), vysoký sklon k pění a vyšší spotřeba energie (někdy dvojnásobná oproti aktivnímu kalu) (Al-Asheh et al. 2021).

3.5.4 Membránová metoda

Potencionálně vhodná metoda je membránová separační metoda, která má vysokou účinnost a nejsou při ní použity chemické sloučeniny (Homayoonfal & Mehrnia 2014).

Membránové procesy díky vysokému separačnímu potenciálu mohou sloužit jako nástroj pro separaci jak organických látek, tak i pro perzistentní sloučeniny (Pal 2017). U antibiotik lze použít pouze nanofiltrační membrány a membrány pro reverzní osmózu vzhledem k jejich velikosti (Homayoonfal & Mehrnia 2014). U této metody je nutné zajistit účinné nakládání s pevnými zbytky a jejich likvidaci, což se dá zajistit stabilizací kalů, vysušením a likvidací (Pal 2017).

3.5.5 Ionizující záření

Ionizující záření je další možnou metodou pro odstraňování léčiv, jako jsou třeba antibiotika, a rentgenové kontrastní látky. Jako ozařovače se používají zdroje gama záření ^{60}Co , ^{137}Cs a urychlovač elektronového svazku. Často se kombinuje s dalšími technikami, jako je H_2O_2 , TiO_2 , ozon (O_3) nebo následuje biologické ošetření ke zvýšení účinnosti a snížení nákladů (Wang & Chu 2016).

Výhodou ionizujícího záření je, že není potřeba dalších chemických látek a technologie má dobrý rozsah průniku do vodní matrice. Faktory, omezující použití metody, jsou obavy o bezpečnost vzhledem k použití radioizotopů a vysoké náklady. Také jsou zapotřebí k mineralizaci a ke snížení toxicity vysoké dávky záření (Wang & Chu 2016). Dávky by měly být vyšší než 1 kGy, aby nevznikly škodlivé meziprodukty (Pal 2017).

Kimura et al. (2012) zjistili, že diklofenak, karbamazepin, ketoprofen a kyselina mefenamová v koncentracích 5 $\mu\text{mol/l}$ lze při ozáření gama zářením 2,0 kGy zcela rozložit v biologicky vyčištěné odpadní vodě.

3.5.6 Ozonizace

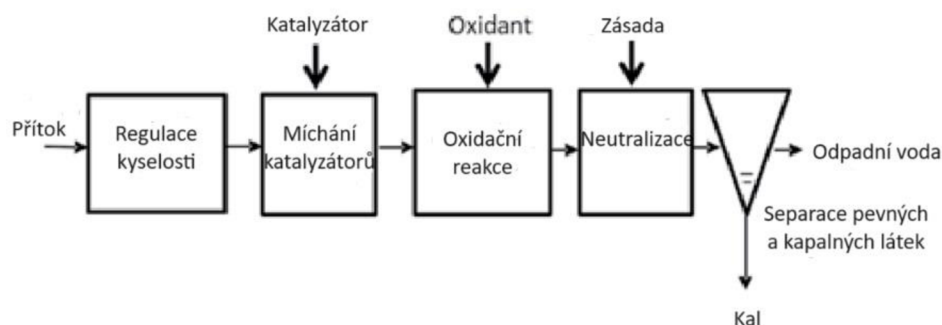
Jedná se o nejpoužívanější metodu při odstraňování PPCP. Ozon je závislý na silné neselektivní oxidační aktivitě hydroxylových radikálů, jejichž koncentrace přímo souvisí s rychlostí ozonizace PPCP. Ke zvýšení hydroxylových radikálů se přidává peroxid vodíku a tím se podporuje rozklad ozonu. Lze tímto způsobem odstranit většinu PPCP s účinností přes 90 % (Wang & Wang 2016). Účinnost přes 90 % byla zaznamenána u protizánětlivých látek, antibiotik, antiepileptik a u přírodních a syntetických estrogenů (Esplugas et al. 2007).

3.5.7 Fentonova oxidace

Při této metodě se používají sole železa a peroxid vodíku v kyselých podmínkách a jedná se o důležitou oxidační úpravu k odstranění polutantů. Tato metoda se většinou používá k čištění průmyslových odpadních vod (Wang & Wang 2016). Schématický proces Fentonovy oxidace je uveden na obr. 7. Ta představuje průběh od přítoku znečištěné vody až po separaci kapalných a pevných látek s následným odtokem odpadní vody.

Hlavními výhodami Fentonovy oxidace je účinná degradace a jednoduchost. Tato metoda je ovlivněna některými provozními parametry, koncentrací a poměrem Fentonova činidla, teplotou, pH, časem, koncentrací polutantu a povahou reakční matric (Bello et al. 2019).

Omezením této metody je nadměrná produkce železitého kalu, kdy může být následkem sekundární znečištění, úzký rozsah pH a vysoké chemické vstupy. Jedním z možných řešení tohoto řešení může být heterogenní Fentonova oxidace (Bello et al. 2019), u té je však problémem nestabilita a recyklace heterogenního katalyzátoru (Wang & Wang 2016).



Obr. 7: Schéma Fentonovy oxidace, upraveno dle Xu et al. (2020).

3.5.8 UV záření

Jedná se o oblíbenou metodu dezinfekce vody. Používá se v čistírnách odpadních vod po pískové filtraci a biologické úpravě, pokud se regenerovaná voda přímo opětovně využívá. Mechanismus této metody spočívá v destrukci chemických vazeb polutantů UV zářením a tento princip se nazývá fotolýza. Ke zvýšení účinnosti UV záření při odstraňování PPCP se záření kombinuje s peroxidem vodíku (Wang & Wang 2016).

Kim et al. (2009) zkoumali výkonnost odstranění léčivých látek při aplikaci metod UV a UV/H₂O₂ v sekundárních odpadních vodách čistírny odpadních vod v Japonsku. Zjistili, že při ošetření pouze UV zářením nebylo účinně odstraněno 29 léčiv ze 41 při dávce UV záření 2768 mJ/cm². Při použití UV/ H₂O₂ bylo dosaženo až 90 % účinnosti odstranění 39 léčiv při dávce UV záření 923 mJ/cm².

3.6 Omeprazol

Omeprazol je účinná látka, léčiva s obsahem této látky mohou být volně prodejná v lékárnách, nebo mohou být na předpis, což závisí na množství tablet a na síle léčiva (Procházka 2022). Volně prodejný omeprazol je používán ke kontrole pálení žáhy, která se u dospělých vyskytuje 2 nebo více dní v týdnu (Puckey 2022).

Používá se k léčbě nadbytku žaludečních šťáv u lidí se žaludečními vředy, gastroezofageální refluxní chorobou, Zollinger-Ellisonovým syndromem, aktivním

dvanáctíkovým vředem a s erozivní ezofagitidou. Blokuje tvorbu žaludeční kyseliny a zařazuje se do skupiny inhibitorů protonové pumpy (Puckey 2022).

3.6.1 Omeprazol v prostředí

Omeprazol je zařazován mezi nejvíce spotřebovávaná farmaceutika. Ovšem i přes to nebývá ve většině případů detekován v odpadních vodách, což může být dáno vlivem lidského metabolismu nebo transformací a degradací ve vodním prostředí. Uskutečnil se experiment s hydrolyzou, fotodegradací a chlorací u povrchové vody obohacené o 0,5 µg/ml omeprazolu. U hydrolyzy bylo zjištěno pět degradačních produktů. U fotodegradace UV zářením omeprazol rychle degradoval a nebyly detekovány žádné produkty degradace, ovšem u slunečního záření bylo nalezeno až pět produktů a u chlorace bylo zjištěno 7 produktů degradace (Boix et al. 2013).

Kosma et al. (2017) zjišťovali reziduální toxicitu omeprazolu a jeho produktů degradace, ta byla poté hodnocena stanovením procenta inhibice mořské luminiscenční bakterie *Vibrio fischeri*. Počáteční koncentrace omeprazolu byla 20 mg/l v destilované vodě. Inhibice bakterií byla bez ozáření 80 %. Po 5, 15 a 30 minutách se při fotolytickém ošetření toxicita snížila na 63 %, 55 % a 34 %. To naznačuje, že meziproducty omeprazolu při ozáření jsou méně toxické.

3.6.2 Vliv omeprazolu na rostliny

Ve studii Van Oosten et al. (2019), bylo předpokládáno, že omeprazol má přímý účinek na mechanismy příjmu a asimilaci dusičnanů v rostlinách. Toto bylo testováno na kukuřicích při koncentracích NO_3^- 10 mM a 1 mM, koncentrace omeprazolu byla 1 µM. U rostlin s vyšším obsahem dusičnanů v médiu nedošlo k významnému zvýšení růstu při aplikování omeprazolu. Naopak u rostlin s nižším obsahem dusičnanů byl růst mnohokrát vyšší při aplikaci omeprazolu oproti rostlinám, kde nebyl omeprazol aplikován. Omeprazol (1 µM) zvýšil příjem NO_3^- o 30 %, při koncentraci 50 µM měl redukční účinky a při 100 µM inhibiční.

Rouphael et al. (2018) zkoumali působení omeprazolu u rajčat během stresu rostlin způsobeným zvýšenou salinitou. Bylo zjištěno, že i během stresu byla zvýšena sušina, délka a povrch kořenů, transpirace, rychlost fotosyntézy a R:S (root to shoot ratio). R:S závisí na dostupnosti živin pro rostliny. Když je dostatek živin v médiu, rostliny je dodávají v menším množství do kořenů (Agren & Franklin 2003). Hormonální síť byla omeprazolem ovlivněna, došlo ke zvýšení kyseliny abscisové, ke snížení auxinů a cytokininů. Zlepšila se schopnost čelit oxidačním procesům zprostředkovaným radikály (Rouphael et al. 2018).

3.7 Antipyrin

Jedná se o neopioidní analgetikum, antipyretikum a nesteroidní protizánětlivý lék (Elattar & Fadda 2016). Antipyrin se v dnešní době používá hlavně jako marker aktivity jaterních enzymů metabolizujících léčiv, ovšem v některých zemích je stále využíván terapeuticky (Aronson 2015).

Antipyrin má poměrně nízkou absorpci v lidském těle. V německých odpadních vodách a v povrchových vodách bylo zjištěno 0,05-0,25 µg/l antipyrinu a jeho metabolitů (Jia et al. 2017). Antipyrin se vyskytuje v různých přírodních prostředích, protože účinnost jeho odstranění v čistírnách odpadních vod je pouze okolo 30 % (Davididou et al. 2017). Antipyrin je velice polární, vysoce perzistentní v prostředí a je těžko rozložitelný (Gong et al. 2017).

U antipyrinu jsou nedostatečné informace o jeho toxicitě. Dlouhodobá expozice u lidí může způsobit poškození plic a sliznic (Gong et al. 2017).

Gong et al. (2017) sledovali vliv antipyrinu na řasu *Chlorella vulgaris*. Nebyl zjištěn negativní vliv na růst řasy, a naopak byl růst lepší než ve vodě bez antipyrinu. To mohlo být způsobeno negativním vlivem léčiva na některé bakterie v kultivačním médiu řas. Dále zjišťovali vliv antipyrinu na *Artemia salina* (žábřonožka solná). Žábřonožky byly vystavené různým koncentracím léčiva a jejich přežití bylo významně sníženo po 48 a 72 h expozice nízkými koncentracemi (10–50 µM). Mediány smrtelných dávek (LD₅₀) byly po 24 h 191,3 µM, po 48 h 35,5 µM a po 72 h 10 µM. Po 24 hodinách nebylo přežití významně ovlivněno, ale jejich schopnost plavat byla významně potlačena a přibližně 60 % žábřonožek mohla po expozici 50 µM antipyrinu hýbat pouze tykadly.

4 Metodika

V pokusu byly použity rostliny kukuřice (*Zea mays* L.) odrůda RGT Exxotik, které byly pěstovány v hydroponickém systému NFT. Na obr.7 je fotografie probíhajícího pokusu ve skleníku katedry botaniky a fyziologie rostlin ČZU v Praze.

Měření fyziologických charakteristik se uskutečnilo v intervalech 0 h, 24 h, 72 h, 168 h, 240 h a 336 h po první aplikaci léčiv.



Obr. 8: Kukuřice pěstovaná v hydroponických podmínkách s přidávanými léčivy (foto: autor).

4.1 Založení pokusu

Rostliny kukuřice seté byly pěstovány hydroponicky v minerální vlně do fáze BBCH 13–15 (Meier 1997). Hydroponický systém byl umístěn ve skleníku katedry botaniky a fyziologie rostlin ČZU v Praze. Rostliny byly pěstovány v částečně řízených podmínkách, kdy teplotní režim byl 25 °C/20 °C denní/noční teploty vzduchu. Světelný režim představoval 14/10 hodin přirozeného světla bez zastínění a minimální vlhkost vzduchu byla 65 až 85 %.

V každé hydroponické nádrži bylo použito 15 l pěstebního média, který byl připraven ze sterilizované destilované vody dle Hoaglandovy metody (Hoagland & Arnon 1938).

V rámci každé z variant pokusu se uskutečnilo 6 měření v 0 h, 24 h, 72 h, 168 h, 240 h a 336 h po první aplikaci léčiv. U každé varianty bylo pět nádob s různými koncentracemi léčiv. Koncentrace pro každou variantu byly 0,1; 10; 100; 500 a 1000 mg/l a seřazeny byly od 1 do 5 (např. A1, A2, A3, A4, A5). Vybraná léčiva byla antipyrin (varianta A), omeprazol (varianta O) a směs těchto léčiv (varianta S). Zdrojem příslušných farmak byla firma Sigma-Aldrich.

4.2 Osmotický potenciál

Vodní potenciál rostlin vyjadřuje, o kolik je aktivita vody v pletivech nižší než aktivita chemicky čisté vody (Ehlers & Goss 2016). Osmotický potenciál rostlin byl stanoven měřením odebraných vzorků přístrojem WP4C, jehož výrobcem je Decagon, USA. Přístroj WP4C využívá k měření vodního potenciálu techniku rosného bodu chlazeného zrcadla. V zařízení je vzorek ekvilibrován metodou headspace pomocí uzavřené komory obsahující zrcadlo a příslušenství detekující míru kondenzace na zrcadle. Vodní potenciál vzduchu je při rovnováze v komoře stejný jako vodní potenciál zkoumaného vzorku. Vodní potenciál vzorku se vypočítá pomocí hodnot tlaku prostoru a saturačních par s vodou (Haghverdi et al. 2020).

4.3 Fluorescence

Parametry fluorescence chlorofylu Fv/Fm a Fv/F0 byly měřeny nedestruktivní metodou pomocí fluorometru OS5p+ (Opti-Sciences), vždy po předchozím zatemnění místa měření. Doba zatemnění pomocí plastových klipsů byla 20 minut.

Přístroj OS5p+ je přenosný fluorometr, který je založený na pulsní amplitudové modulaci. Přístroj je složen z programovatelné konzole s LCD displejem a měřicího přístroje, který je schopný vyvolávat různé druhy záření jako je slabé modulované, saturační nebo aktinické záření (Opti-Sciences 2023). Dle Roháček & Barták (1999) dochází po uplynutí času zatemnění listů k reoxidaci (otevření) všech reakčních center fotosystému II (PSII) a dále k ozáření listů slabým modulovaným zářením za změřeni minimálního výtěžku fluorescence v temnostně adaptovaném stavu F0. Tato hodnota je konstantní a není závislá na fotosyntetické aktivitě. Následně se listy ozařují krátkým saturačním světlem a dochází k opětovné redukci elektronových akceptorů (uzavření) PSII, vzrůstu fluorescence chlorofylu a změřeni maximální fluorescence v temnostně adaptovaném stavu Fm. Rozdíl mezi Fm a F0 je označován jako maximální výtěžek variabilní fluorescence chlorofylu v temnostně adaptovaném stavu (Fv). S využitím naměřených hodnot Fm, F0 a vypočítaného Fv lze vypočítat poměry: Fv/Fm, což je maximální kvantový výtěžek fluorescence a Fv/F0, což je potenciální účinnost fluorescence.

4.4 Rychlost výměny plynů

Rychlost výměny plynů byla měřena nedestruktivně infračerveným analyzátozem plynů LCpro+ (ADC Bioscientific Ltd.). To je gazometrický přenosný přístroj používaný k měření výkonu čisté fotosyntézy, transpirace a stomatální vodivosti. Přístroj dále umožňuje měřit teplotu vzduchu a listu, atmosférický tlak a intenzitu osvětlení. LCpro+ se skládá z měřicí hlavičky a hlavní programovatelné konzoly s LCD displejem. Rychlost fotosyntézy a transpirace se počítá z průtoku a změny koncentrace plynů mezi výstupem a vstupem z komory (ADC BioScientific 2013). Rychlost výměny plynů byla měřena v dopoledních hodinách při hustotě ozáření 650 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$ a při teplotě 25 °C. Rychlost výměny plynů byla sledována na základě pokusů Holá et al. (2010).

4.5 Fotosyntetické pigmenty

Obsah fotosyntetických pigmentů se stanovoval dle metodiky Porra et al. (1989). Z listů kukuřice byly při každém odběru vyříznuty terčíky o ploše 1 cm². Ty byly poté vloženy do 1 ml dimethylformamidu (DMF). V průběhu 24 hodin se pigmenty extrahovaly v chladu, temnu a za stálého promíchávání. Roztok 25 pigmentů byl druhý den spektrofotometricky vyhodnocen přístrojem UV-Vis Evolution 2000 (ThermoScientific). Slepým vzorkem byl čistý dimethylformamid. Měření absorbancí probíhalo při vlnových délkách 480; 648,8; 663,8 a 710 nm.

Rovnice pro výpočet chlorofylu a: $\text{Chl a} = 12,0 \cdot A_{663,8} - 3,11 \cdot A_{646,8}$

Rovnice pro výpočet chlorofylu b: $\text{Chl b} = 20,78 \cdot A_{646,8} - 4,88 \cdot A_{663,8}$

Rovnice pro výpočet celkového chlorofylu: $\text{Chl a+b} = 7,12 \cdot A_{663,8} + 17,67 \cdot A_{646,8}$

Rovnice pro výpočet karotenoidů: $\text{Carx+c} = (1000 \cdot A_{480} - 1,12 \cdot \text{Chl a} - 34,07 \cdot \text{Chl b}) / 245$

4.6 Obsah prolinu

Obsah prolinu v listových pletivech kukuřice byl měřen reakcí s ninhydrinem (Bates et al. 1973). Pro kolorimetrické stanovení se použil roztok prolinu, kyseliny ninhydrinové a kyseliny octové (1:1:1). Roztok byl inkubován po dobu 1 h při 90 °C a poté byl ochlazen v ledové lázni. Chromofor byl extrahován pomocí 2 ml toluenu a jeho absorbance při vlnové délce 520 nm byla stanovena na UV-viditelném spektrofotometru Evolution tm 2000 (Thermo Fisher Scientific. Inc. Waltham, MA, USA).

4.7 Vyhodnocení výsledků

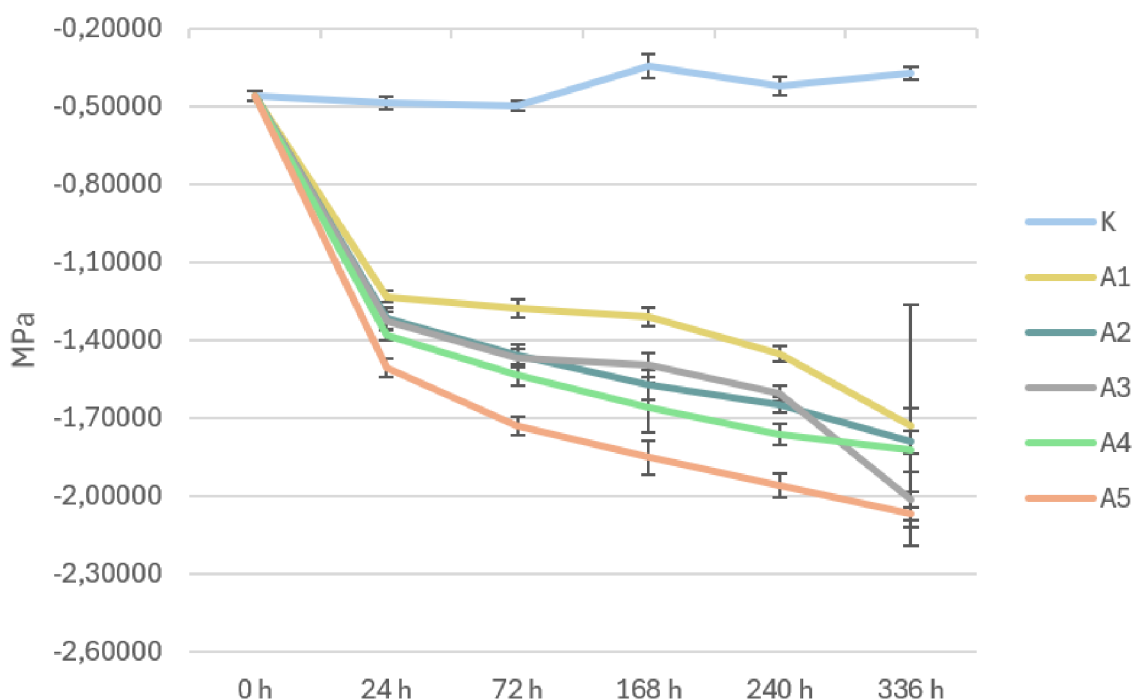
K vyhodnocení výsledků byla vypracována statistická analýza vzorků analýzou rozptylu (vícefaktorová ANOVA). Data byla zpracována v programu Statistika 12. Stanovená hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$. Od každé varianty pokusu se uskutečnila 4 opakování.

5 Výsledky

5.1 Osmotický potenciál

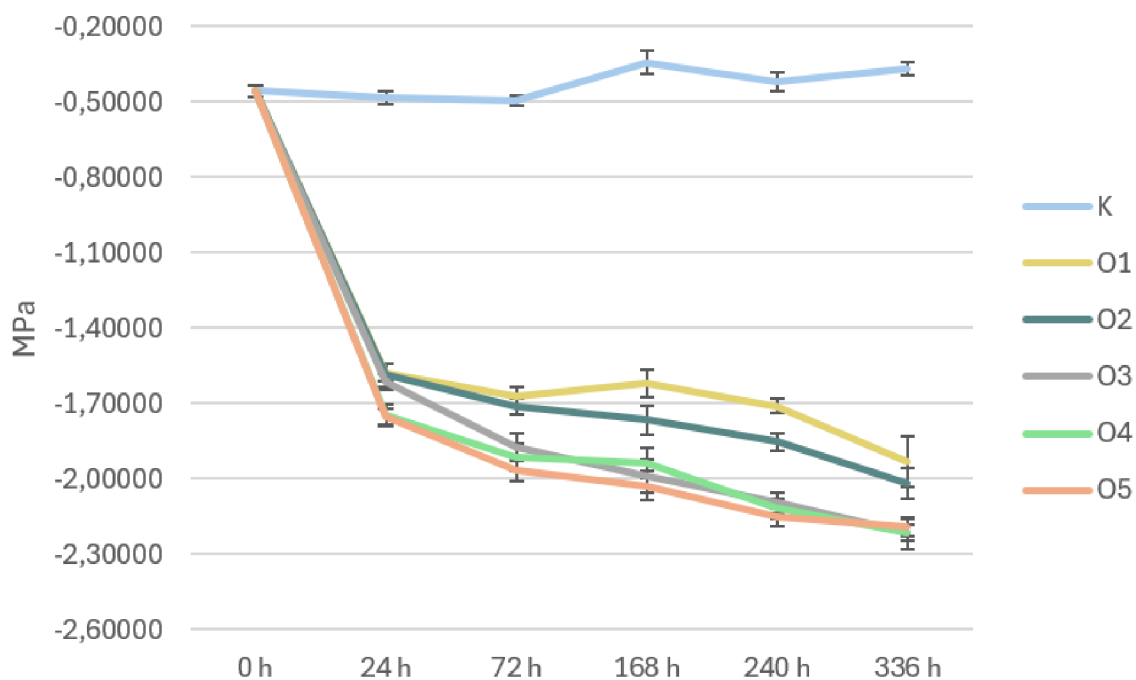
V grafech 1, 2 a 3 jsou uvedeny průměrné hodnoty osmotického potenciálu u variant s obsahem antipyrinu (A), omeprazolu (O) a směsi léčiv (S) v pěstebním roztoku v závislosti na době odběru a na koncentraci léčiv.

U průměrných hodnot osmotického potenciálu bylo zaznamenáno statisticky významné snížení hodnot u všech variant oproti kontrole v důsledku stresu způsobeným přidáním léčiv do živného roztoku. U kontrolních rostlin se hodnoty osmotického potenciálu pohybovaly mezi -0,343 (4. odběr) a -0,497 MPa (3. odběr). Průkazně nejvyšší snížení hodnot vodního potenciálu bylo zaznamenáno u variant S, kde byla nejnižší naměřená průměrná hodnota -2,510 MPa u S4 a S5 (6. odběr). Průměrné hodnoty variant se statisticky významně snížily po 1. měření, během kterého byla pro všechny rostliny ošetřené léčivem (A, O a S) naměřena shodná průměrná hodnota -0,457 MPa. U variant A se průměrné hodnoty pohybovaly od -1,230 MPa u A1 (2. odběr) do -2,067 MPa u A5 (6. odběr).

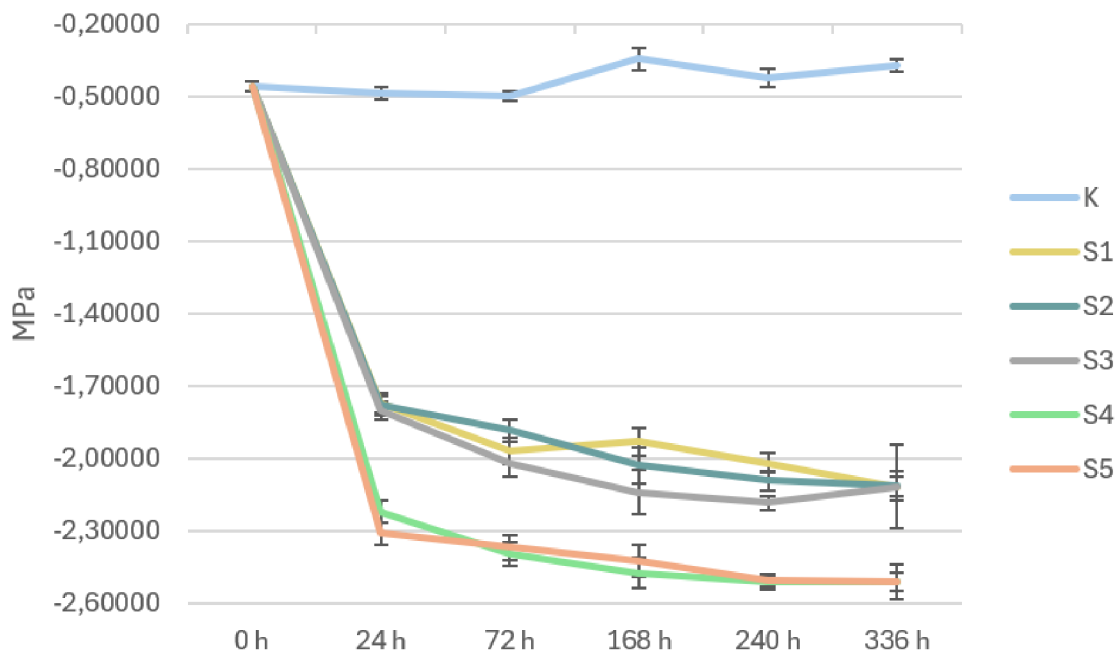


Graf 1: Osmotický potenciál (MPa) rostlin kukuřice ošetřené různými koncentracemi antipyrinu v závislosti na čase odběru a koncentraci léčiva.

V grafu 2 jsou zobrazeny výsledky hodnot vodního potenciálu u rostlin ošetřené omeprazolem. U variant O bylo zaznamenáno statisticky průkazné vyšší snížení hodnot osmotického potenciálu než u variant A. Dle těchto výsledků vyplývá, že omeprazol vyvolával v rostlinách vyšší stres než antipyrin. Průměrné hodnoty se u variant O pohybovaly od 2. měření mezi -1,577 MPa u varianty O1 (2. odběr) do -2,217 MPa u varianty O3 (6. odběr).



Graf 2: Osmotický potenciál (MPa) rostlin kukuřice ošetřených různými koncentracemi omeprazolu v závislosti na čase odběru a koncentraci léčiva.



Graf 3: Osmotický potenciál (MPa) rostlin kukuřice ošetřených různými koncentracemi směsi léčiv v závislosti na čase odběru a koncentraci léčiv.

Z grafu 3 je patrné, že u varianty S byly naměřeny průkazně nejnižší hodnoty. Průměrné hodnoty u rostlin ošetřených směsí léčiv se pohybovaly od 2. odběru mezi -1,770 MPa u varianty S1 (2. odběr) a -2,510 MPa u variant S4 a S5 (6. odběr). U rostlin ošetřených směsí

léčiv došlo k výraznému snížení vodního potenciálu u varianty S4 a S5 s nejvyššími koncentracemi léčiv, které se statisticky odlišovaly od ostatních variant.

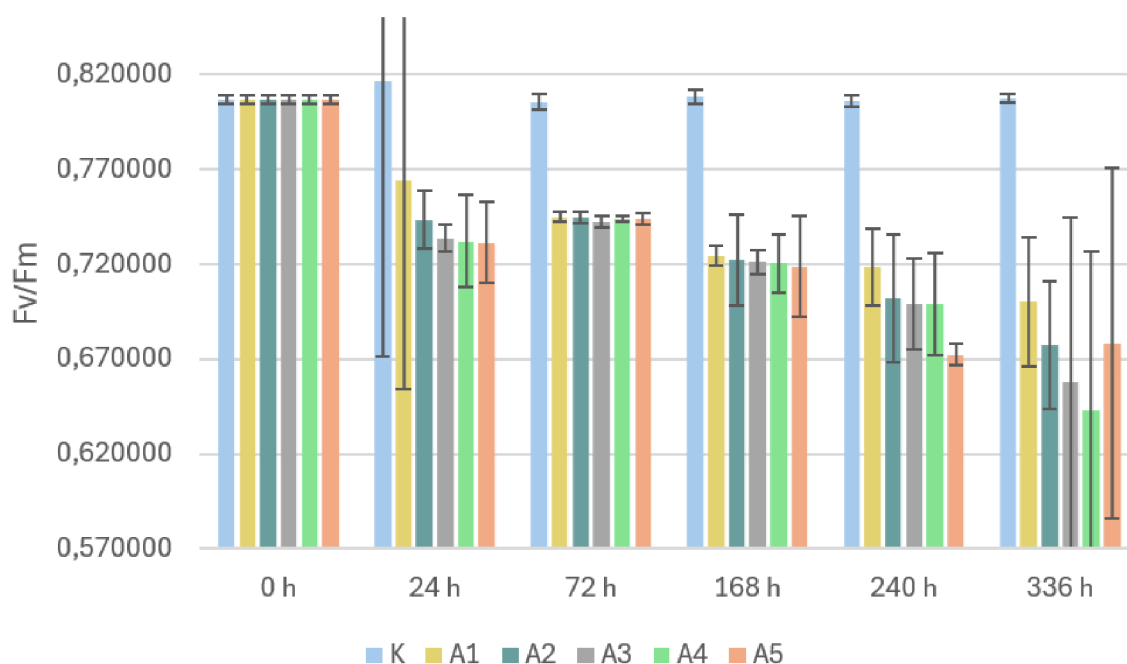
5.2 Fluorescence

V grafech 4, 5 a 6 jsou uvedeny maximální kvantové výtěžky fluorescence (Fv/Fm) u zkoumaných variant s léčivy. U kontrolní varianty, která netrpěla stresem z léčiv, hodnoty Fv/Fm nekolísaly v průběhu času. U této varianty se průměrné hodnoty kvantového výtěžku pohybovaly mezi 0,806 (3. měření) a 0,817 (2. měření).

Mezi variantami ošetřenými léčivy nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v maximálním kvantovém výtěžku fluorescence. Ovšem mezi kontrolou a variantami byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl v hodnotách fluorescence.

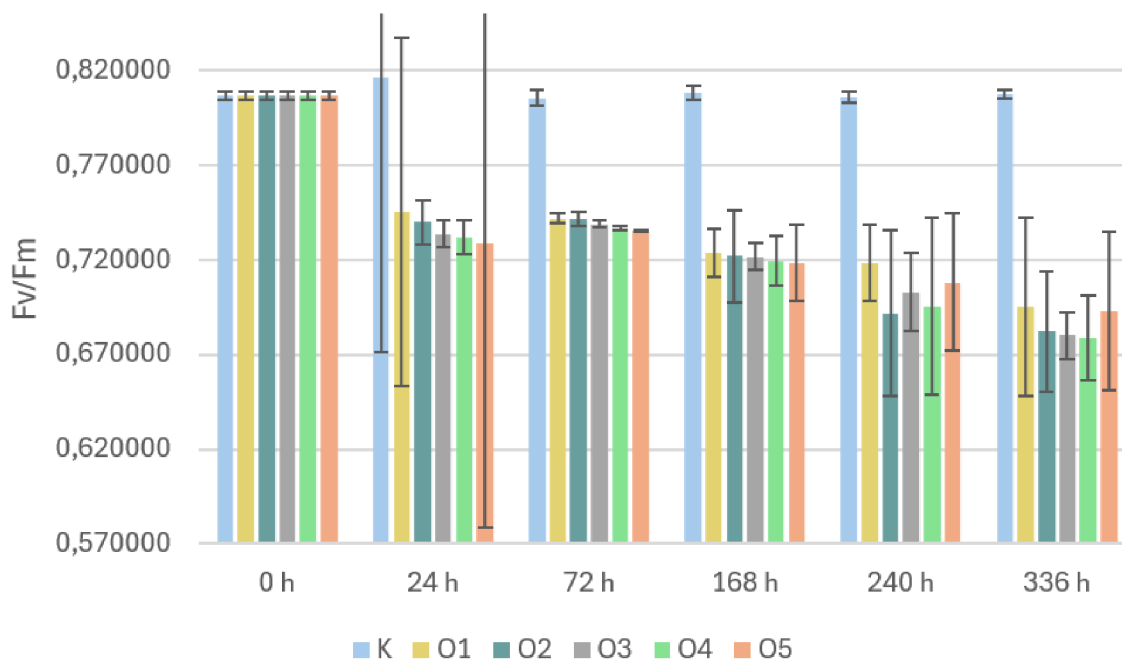
U času měření byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl mezi 0. hodinou a ostatními hodinami měření. U 6. měření se průměrné hodnoty průkazně snížily oproti ostatním měřením. Na počátku pokusu byly hodnoty fluorescence 0,807 (Fv/Fm). Hodnoty se následně začaly snižovat.

Nejnižší naměřená průměrná hodnota Fv/Fm byla 0,581 u S4 po 336 hodinách od přidání směsi léčiv do živného roztoku.



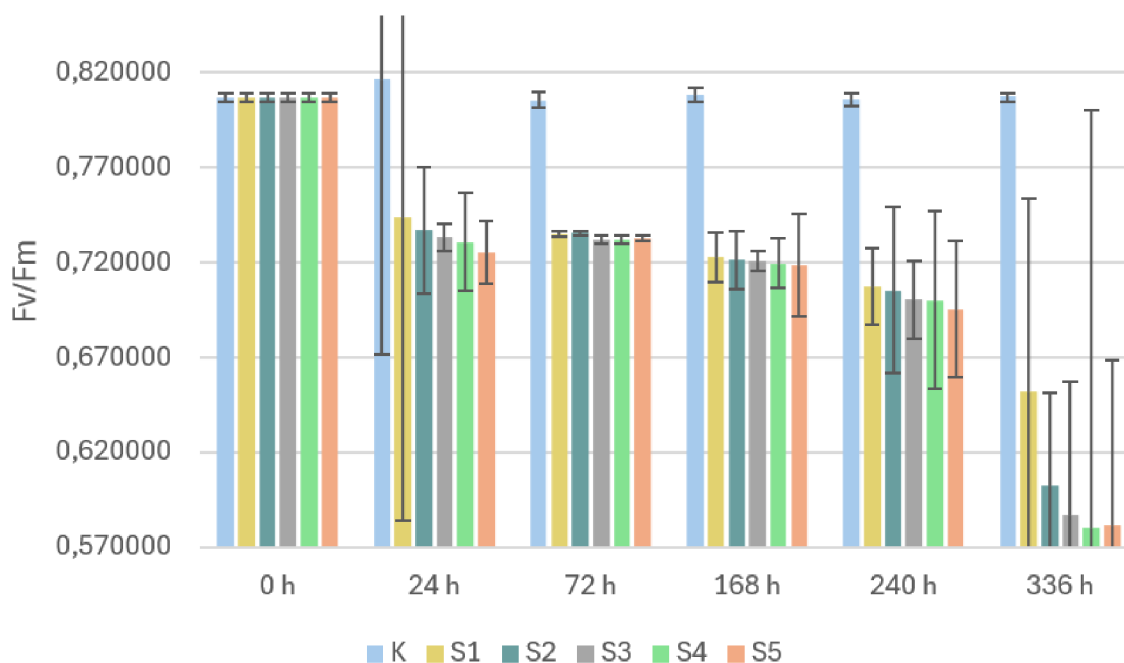
Graf 4: Maximální kvantový výtěžek fluorescence (Fv/Fm) rostlin kukuřice ošetřených různými koncentracemi antipyrinu v závislosti na koncentraci léčiva a na čase měření.

Graf 4 obsahuje výsledky variant A. Průměrné výsledky Fv/Fm u rostlin ošetřených antipyrinem se pohybovaly od 2. měření od 0,643 u A4 (6. měření) do 0,764 u A1 (2. měření).



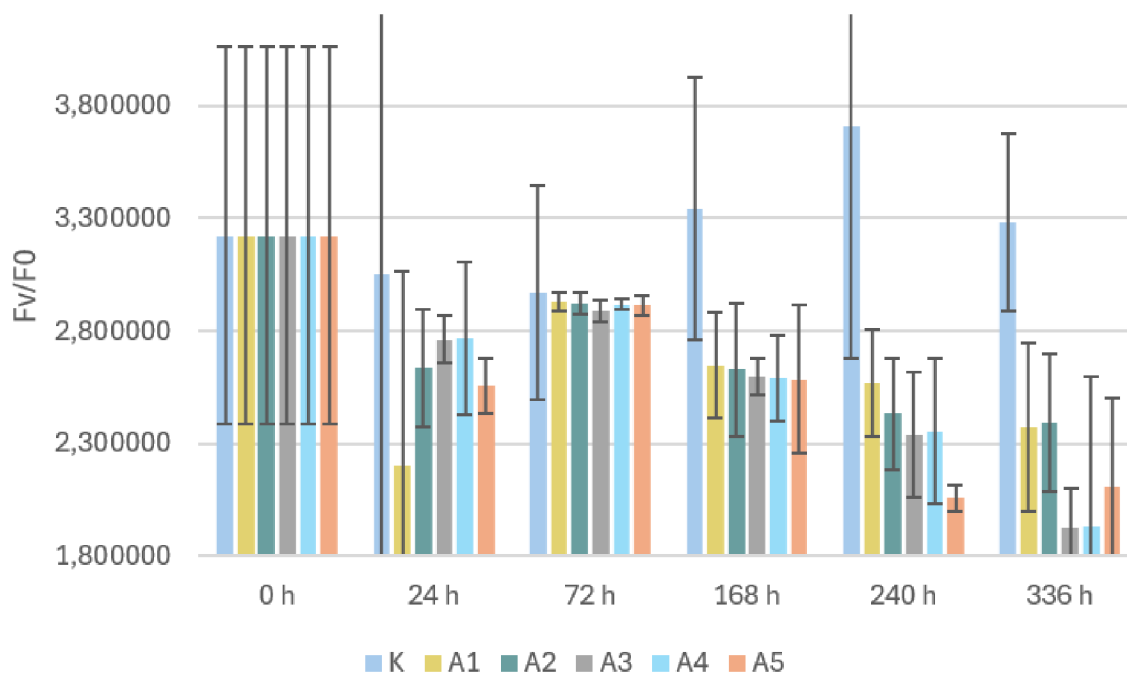
Graf 5: Maximální kvantový výtěžek fluorescence (F_v/F_m) rostlin kukuřice ošetřených různými koncentracemi omeprazolu v závislosti na koncentraci léčiva a na čase měření.

V grafu 5 jsou výsledky průměrných maximálních kvantových výtěžků fluorescence u rostlin s obsahem omeprazolu v pěstebním roztoku. Průměrné hodnoty F_v/F_m se pohybovaly (po 24 hodinách od přidání léčiva) mezi 0,679 (O4, 6. měření) a 0,7456 (O1, 2. měření).

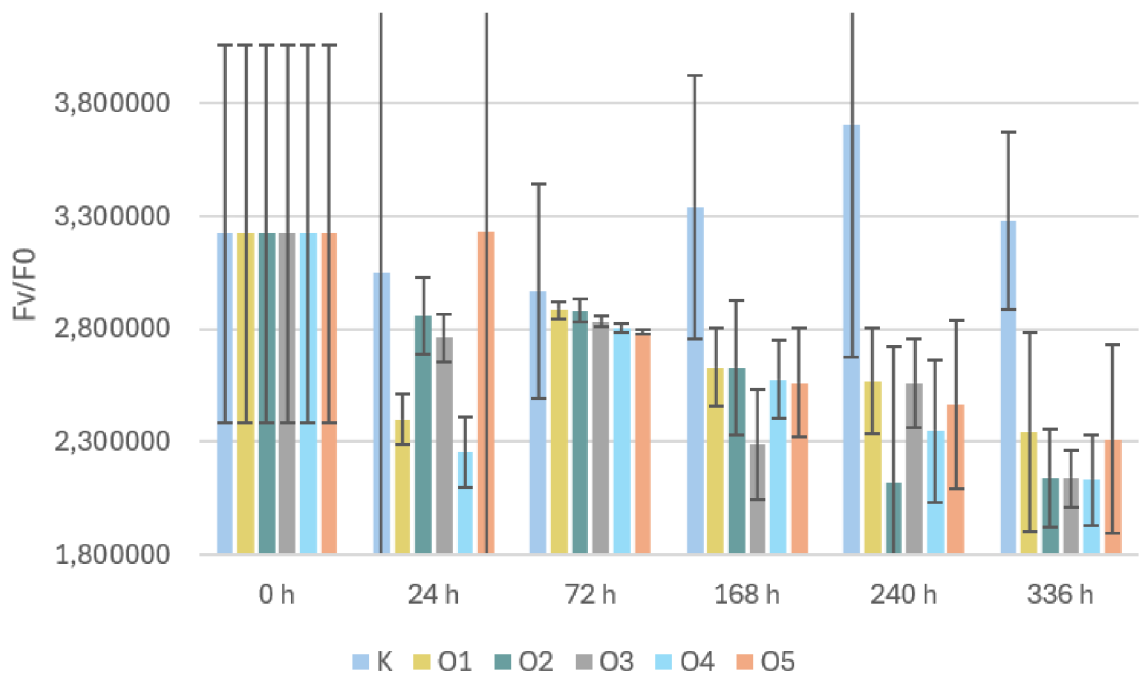


Graf 6: Maximální kvantový výtěžek fluorescence (F_v/F_m) rostlin kukuřice ošetřených různými koncentracemi směsí léčiv v závislosti na koncentraci léčiv a na čase měření.

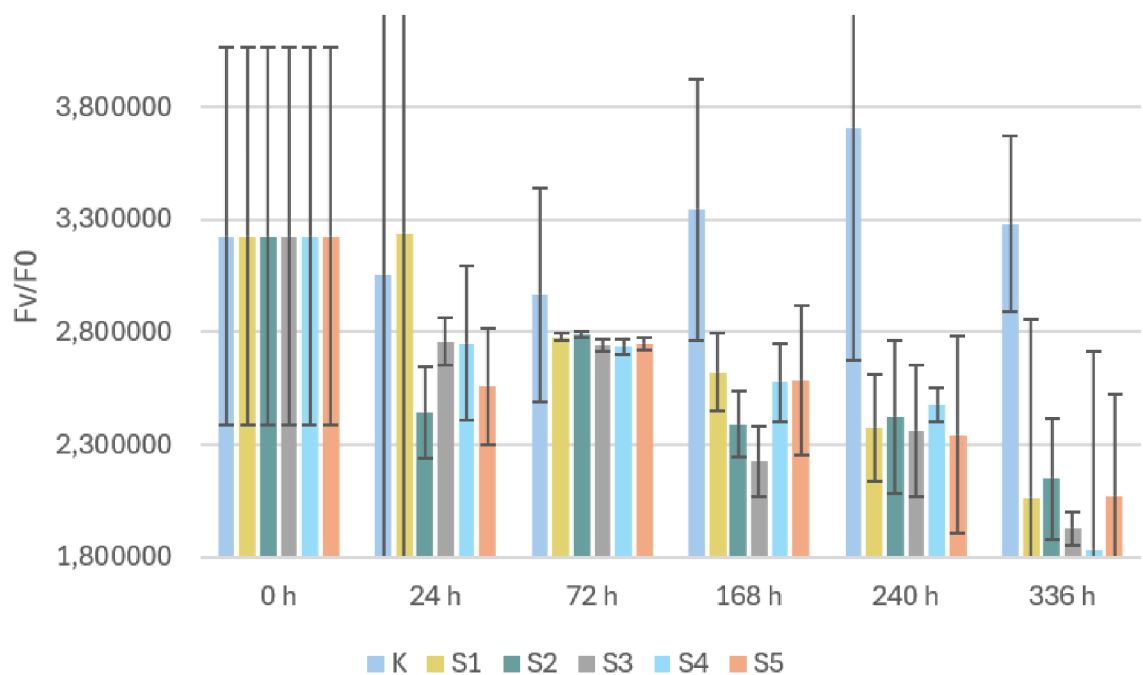
V grafu 6 jsou průměrné hodnoty F_v/F_m u rostlin ošetřených směsí léčiv. U variant S došlo ke statisticky významnému snížení fluorescence u 6. měření oproti ostatním variantám. Nejnižší průměrnou naměřenou hodnotou byla hodnota F_v/F_m 0,580 u varianty S4 (6. měření) a nejvyšší (kromě 1. měření) byla 0,744 u S1 (2. měření).



Graf 7: Potenciální účinnost fluorescence (F_v/F_0) u varianty A ošetřené antipyrinem v závislosti na koncentraci léčiva a čase měření.



Graf 8: Potenciální účinnost fluorescence (F_v/F_0) u varianty O ošetřené omeprazolem v závislosti na koncentraci léčiva a čase měření.



Graf 9: Potenciální účinnost fluorescence (F_v/F_0) u varianty S ošetřené směsí omeprazolu a antipyrinu v závislosti na koncentraci léčiv a čase měření.

V grafech 7, 8 a 9 jsou uvedeny hodnoty potenciální účinnosti fluorescence (F_v/F_0) u zkoumaných rostlin rostoucích v pěstebních roztocích s různými koncentracemi léčiv. Mezi

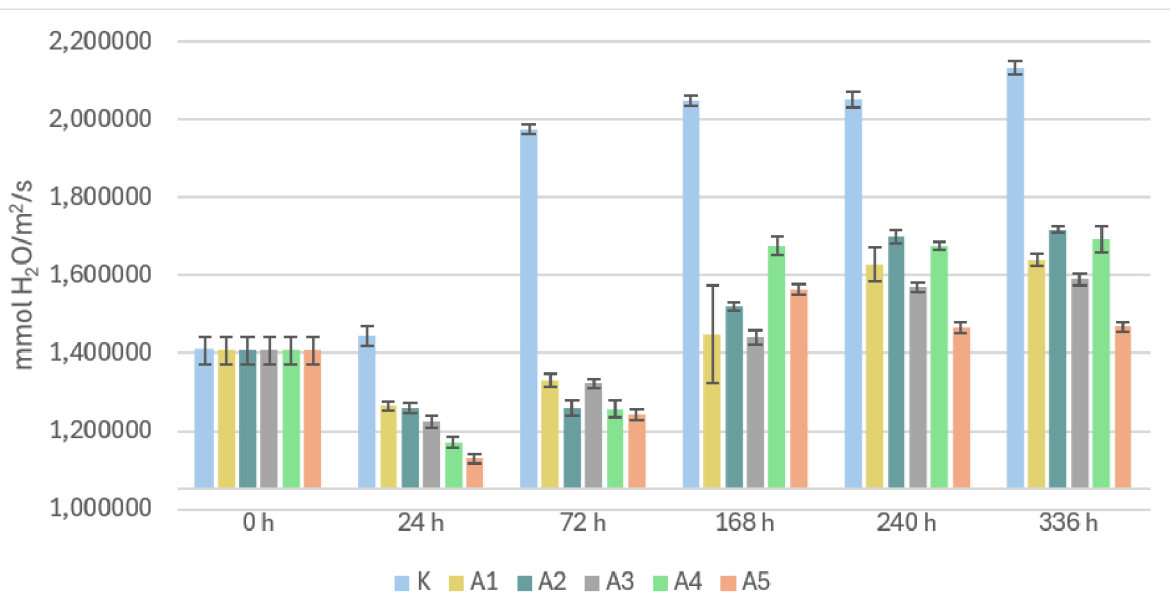
variantami A, O a S nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v hodnotách potenciální účinnosti fluorescence. Přesto je možné konstatovat, že vyšších hodnot potenciální účinnosti fluorescence vykazovaly rostliny pěstované v roztoku s omeprazolem. Naopak nižších hodnot vykazovaly rostliny pěstované v roztoku se směsí léčiv. Varianty ošetřené léčivy však byly prokazatelně rozdílné od kontroly, což naznačuje, že v rostlinách probíhal stres vyvolaný použitými léčivy. Nejvýraznější pokles byl zaznamenán u varianty S4 po 336 hodinách s hodnotou F_v/F_0 1,832. Na straně druhé nejnižší pokles byl zjištěn u varianty S1 a to na 3,239 (F_v/F_0) 24 hodin po přidání léčiv a následně hodnota 3,233 F_v/F_0 u varianty O5 také 24 hodin po přidání omeprazolu

U většiny variant byly naměřeny průkazně nejnižší hodnoty F_v/F_0 po 336 hodinách od přidání léčiv. Pouze u varianty O2 byla nejnižší hodnota F_v/F_0 po 240 hodinách (2,120 F_v/F_0) a po 336 hodinách se tato hodnota zvýšila na 2,140 F_v/F_0 , nejedná se však o statisticky průkazné navýšení.

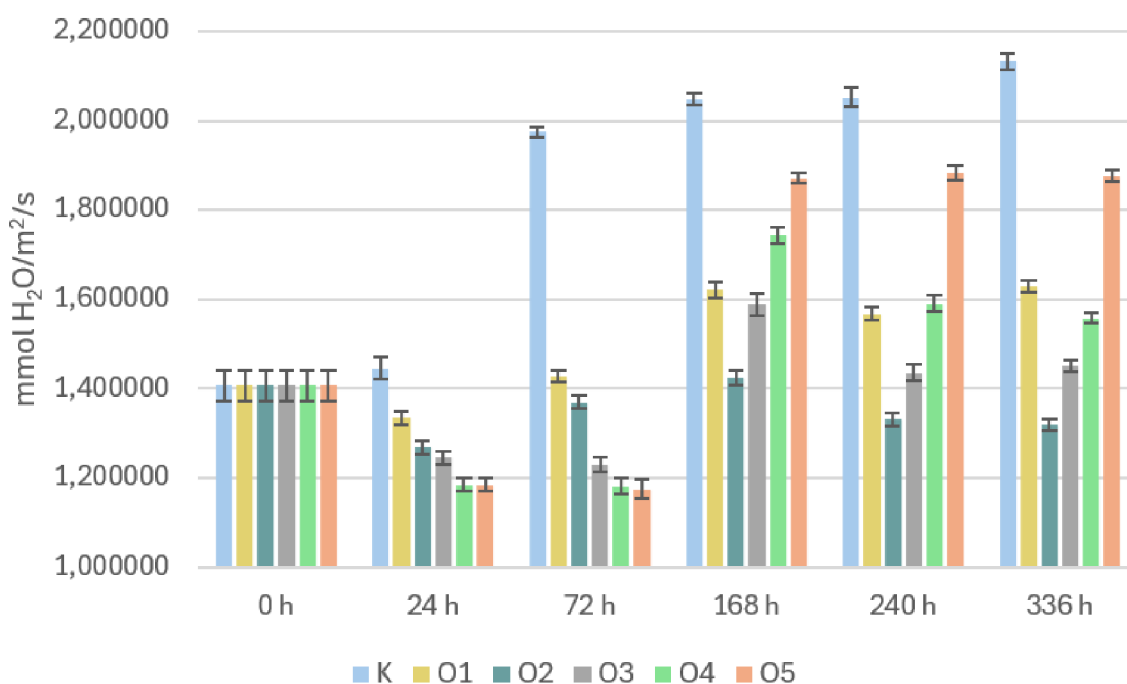
5.3 Rychlost výměny plynů

V grafu 10 jsou zobrazeny výsledky průměrných hodnot rychlosti transpirace varianty A ošetřené různými koncentracemi antipyrinu v závislosti na čase měření. U variant A byl zaznamenán statisticky významný rozdíl průměrných hodnot rychlosti transpirace oproti kontrole. Rychlost transpirace u neošetřených rostlin se zvyšovala postupem času a byla vyšší než u ošetřených kukuřic s tím, že nejvyšší rychlost transpirace u kontroly byla stanovena po 336 hodinách (2,13 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$) a nejnižší byla změřena při 1. měření (1,41 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$). Mezi prvním měřením a ostatními měřeními byl zaznamenán statisticky významný rozdíl rychlosti transpirace.

Nejnižší průměrná hodnota transpirace u ošetřených variant byla u A5 po 24 hodinách a ve výši 1,123 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$. Nejvyšší transpirace byla naměřena ve výši 1,72 $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2/\text{s}$ a to u rostlin z varianty A2 po 336 hodinách.



Graf 10: Rychlost transpirace (mmol H₂O/m²/s) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených antipyrinem v závislosti na čase měření a na koncentraci léčiva.

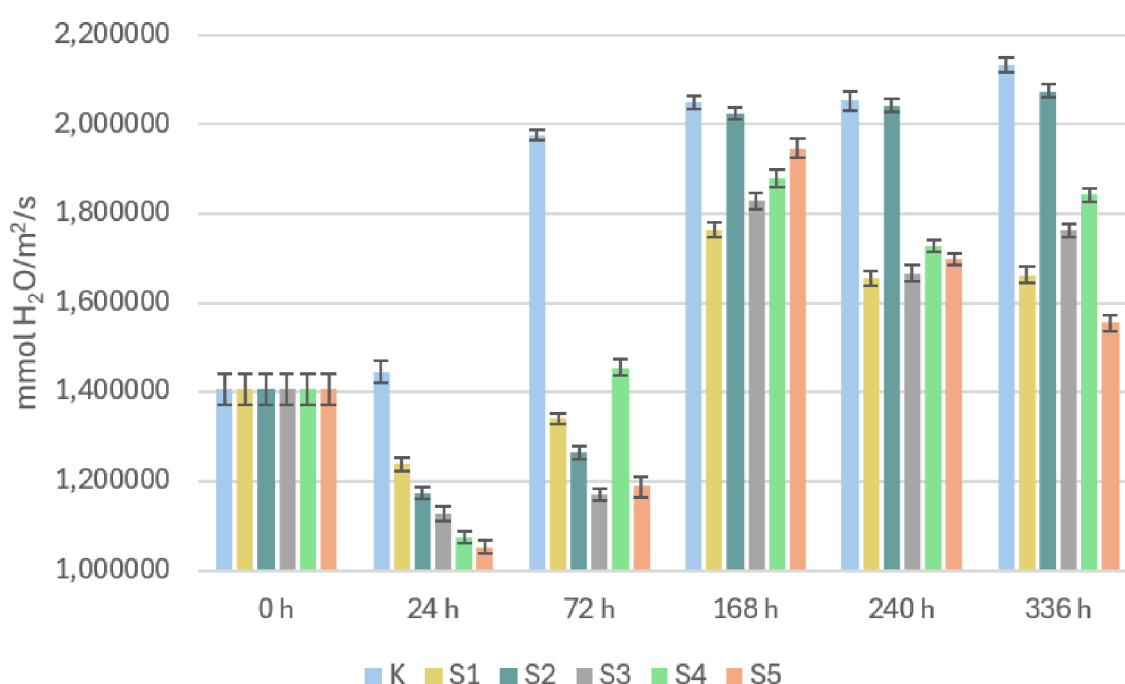


Graf 11: Rychlost transpirace (mmol H₂O/m²/s) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených omeprazolem v závislosti na čase měření a na koncentraci léčiva.

Graf 11 znázorňuje hodnoty rychlosti transpirace u varianty O ošetřené různými koncentracemi omeprazolu v závislosti na čase. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl variant mezi 1. měřením a ostatními časy měření a také mezi kontrolní variantou v průběhu měření a variantami O, jejichž výsledky byly prokazatelně nižší. Statisticky prokazatelné zvýšení hodnot

transpirace bylo zaznamenáno mezi 3. a 4. měřením. Nejvíce se zvýšila průměrná rychlost transpirace variant O3, O4 a O5. U O3 to bylo z 1,231 mmol H₂O/m²/s (3. měření) na 1,589 mmol H₂O/m²/s (4. měření), u O4 to bylo z 1,181 mmol H₂O/m²/s (3. měření) na 1,743 mmol H₂O/m²/s (4. měření) a u O5 se hodnoty zvýšily z 1,175 mmol H₂O/m²/s (3. měření) na 1,871 mmol H₂O/m²/s (4. měření).

Nejnižší průměrná hodnota transpirace u ošetřených variant byla u O5 po 72 hodinách (1,18 mmol H₂O/m²/s). Nejvyšší hodnota transpirace byla 1,88 mmol H₂O/m²/s (O5 po 240 hodinách).

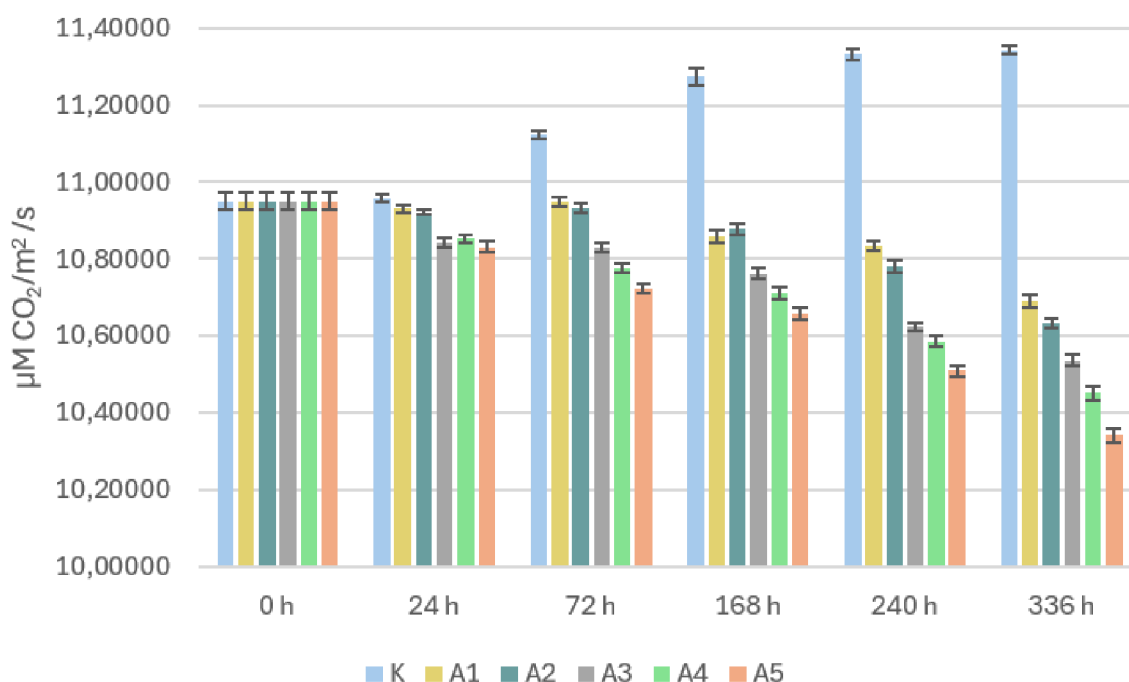


Graf 12: Rychlost transpirace (mmol H₂O/m²/s) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených směsí léčiv v závislosti na čase měření a na koncentraci léčiv.

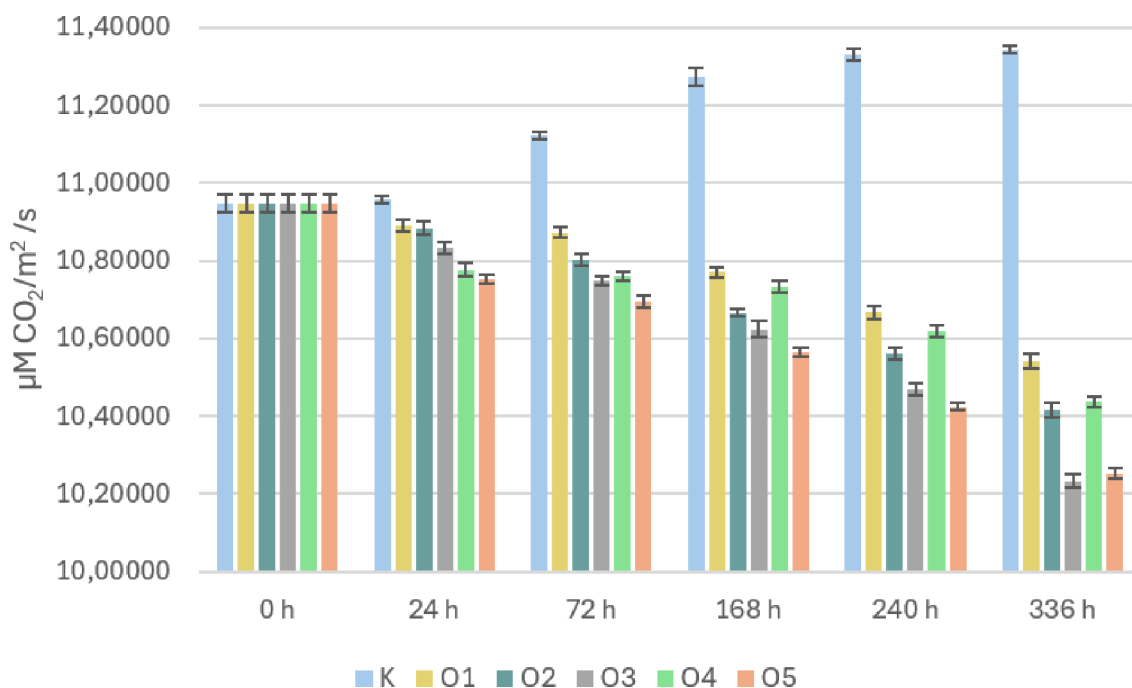
V grafu 12 jsou zobrazeny průměrné hodnoty rychlosti transpirace u varianty S ošetřené směsí antipyrinu a omeprazolu závisující na čase měření a na koncentraci léčiv. U variant S byl statisticky významný rozdíl mezi hodnotami u 1. měření (0 h) a dalšími časy měření rychlosti transpirace. Po 24 a 72 hodinách pokusu se rychlost transpirace u ošetřených variant statisticky významně snížila oproti 0. hodině (1,407 H₂O/m²/s) a následovně se hodnoty variant S statisticky významně zvýšily od 168. hodiny. Varianta S2 se po 168 (2,024 H₂O/m²/s) a 240 hodinách (2,041 H₂O/m²/s) průkazně s mírnými výkyvy srovnala s kontrolou a poté (336 h) začala průměrná rychlost transpirace (2,075 H₂O/m²/s) opět průkazně klesat oproti kontrole (2,133 H₂O/m²/s).

Varianty S3 (1,829 H₂O/m²/s), S4 (1,879 H₂O/m²/s) a S5 (1,946 H₂O/m²/s) měly nejvyšší průměrnou rychlost transpirace 168 hodin po aplikaci léčiv. Varianta S5 měla nejvyšší průměrnou rychlost transpirace 1,95 mmol H₂O/m²/s po 168 hodinách od aplikace a následovně

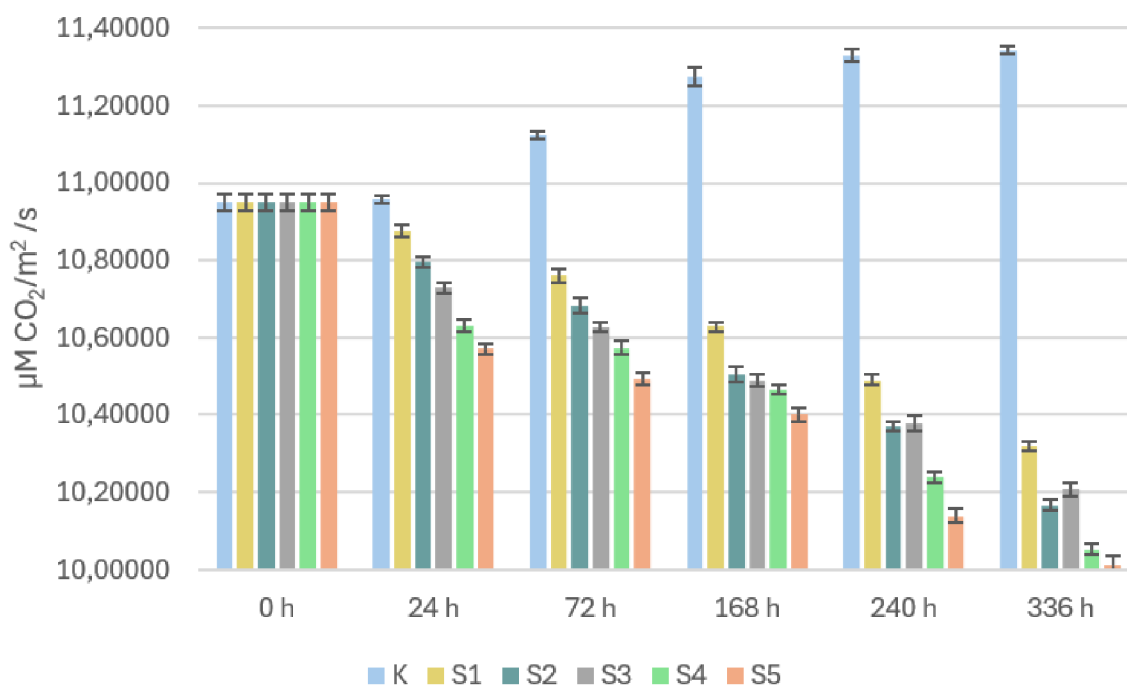
byl zaznamenán průkazný pokles transpirace. Nejnižší naměřený průměr rychlosti transpirace byl 1,05 mmol H₂O/m²/s u varianty S5 po 24 hodinách od aplikace směsi léčiv.



Graf 13: Změny rychlosti fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených antipyrinem v závislosti na čase měření a na koncentraci.



Graf 14: Změny rychlosti fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených omeprazolem v závislosti na čase měření a na koncentraci.



Graf 15: Změny rychlosti fotosyntézy ($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) juvenilních rostlin kukuřice ošetřených směsí léčiv v závislosti na čase měření a na koncentraci.

Z grafů 13, 14 a 15 vyplývá, že rychlost fotosyntézy byla negativně ovlivněna přidáním léčiv do roztoku. V grafech jsou uvedeny hodnoty rychlosti fotosyntézy u juvenilních rostlin kukuřice s léčivem v pěstebních roztocích. U všech variant byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi 0. hodinou ($10,949 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ u všech rostlin) a dalšími termíny měření. U kontrolních rostlin se průměrné hodnoty rychlosti fotosyntézy pohybovaly mezi $10,95 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ (1. termín) a $11,34 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ (6. termín měření). Nejnižší průměrná hodnota fotosyntézy byla $10,01 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ u varianty S5 po 336 hodinách od přidání směsi léčiv. U každé ošetřené varianty byl pozorován snižující se trend rychlosti fotosyntézy oproti předchozím měřením. Byl také nalezen průkazný rozdíl v rychlosti fotosyntézy oproti kontrole v průběhu času. Výjimkou tohoto trendu byly varianty A1 a A2 po 24 h ($10,932 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$; $10,922 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a 72 h ($10,949 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$; $10,931 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$), u kterých nebyl nalezen statisticky významný rozdíl oproti 1. měření (0 h). Avšak v následujícím termínu měření (168 h), se již fotosyntéza začala snižovat až do konce pokusu, kdy se snížila u A1 na $10,691 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ a u A2 na $10,635 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ (336 h).

Nejnižší průměrné hodnoty u variant O byly zjištěny u variant O3 ($10,23 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) a O5 ($10,25 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$) po 336 hodinách.

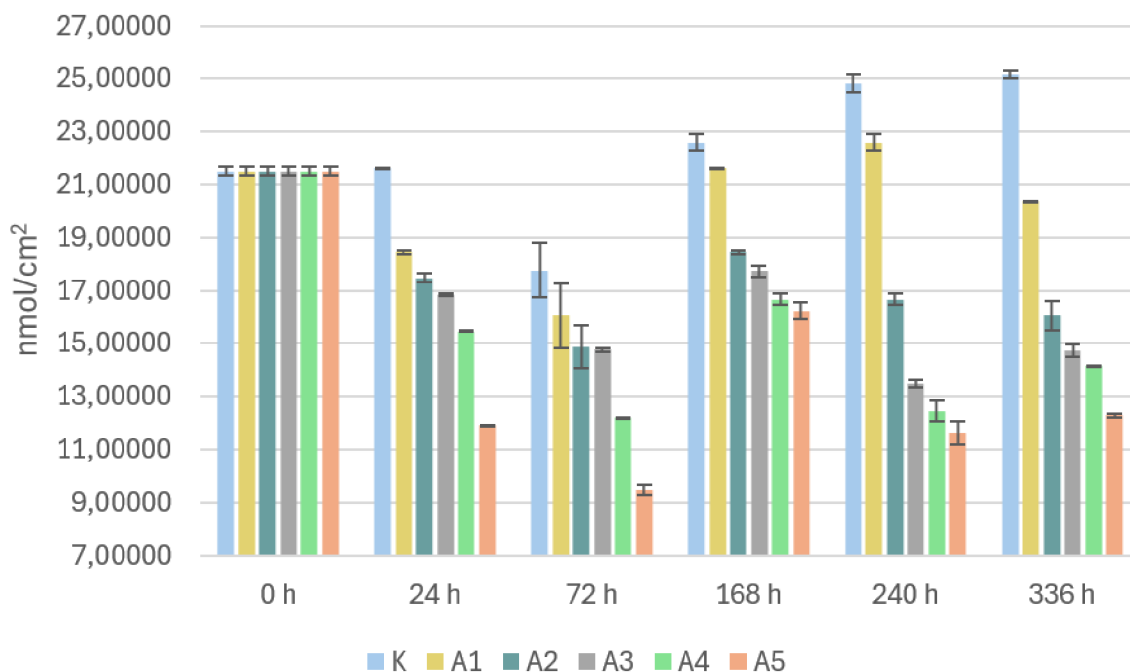
U variant S se rychlost fotosyntézy u všech koncentrací průkazně snižovala v závislosti na čase. U všech sledovaných variant v rámci tohoto ošetření byla rychlost fotosyntézy nejnižší v termínu 336 hodin po aplikaci léčiv do živného roztoku, kdy naměřená hodnota činila $10,01 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Rostliny ošetřené směsí antipyrinu a omeprazolu vykazovaly prokazatelně nejvyšší zpomalení fotosyntézy oproti rostlinám pěstovaným v médiu s jednotlivými léčivem.

5.4 Fotosyntetické pigmenty

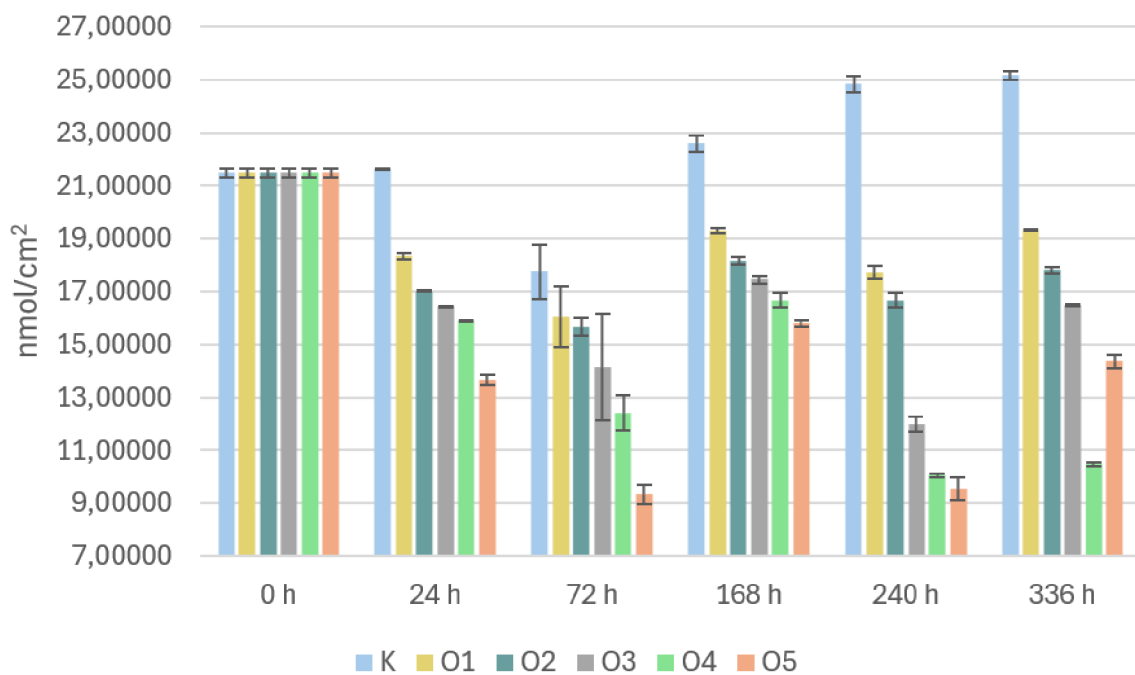
V grafech 16, 17 a 18 jsou uvedeny hodnoty obsahu chlorofylu u variant A, O a S. Hodnoty obsahu celkového chlorofylu se u kontrolních rostlin pohybovaly v rozpětí hodnot od 17,761 nmol/cm² (3. termín) do 25,169 nmol/cm² (6. termín). Varianty ošetřené léčivý vykazovaly v závislosti na čase statisticky významně nižší hodnoty chlorofylu než kontrolní rostliny. Pouze u varianty A1 ošetřené 0,1 mg/l antipyrinu byly zjištěny neprůkazné rozdíly v porovnání s kontrolou u 4. odběru, kdy průměrná hodnota kontroly byla 22,580 nmol/cm² a u varianty A1 21,628 nmol/cm². V následujícím termínu (5. odběr) byl u této stresované varianty zaznamenán neprůkazný nárůst obsahu chlorofylů, který byl vystřídán průkazným snížením na konci pokusu (20,357 nmol/cm²).

U variant ošetřených léčivý byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi 1. termínem (17,761 nmol/cm²) a zbývajících termíny odběrů, což naznačuje, že obsah chlorofylů v listech byl průkazně ovlivněn působením léčiv, které negativně ovlivnily jejich tvorbu.

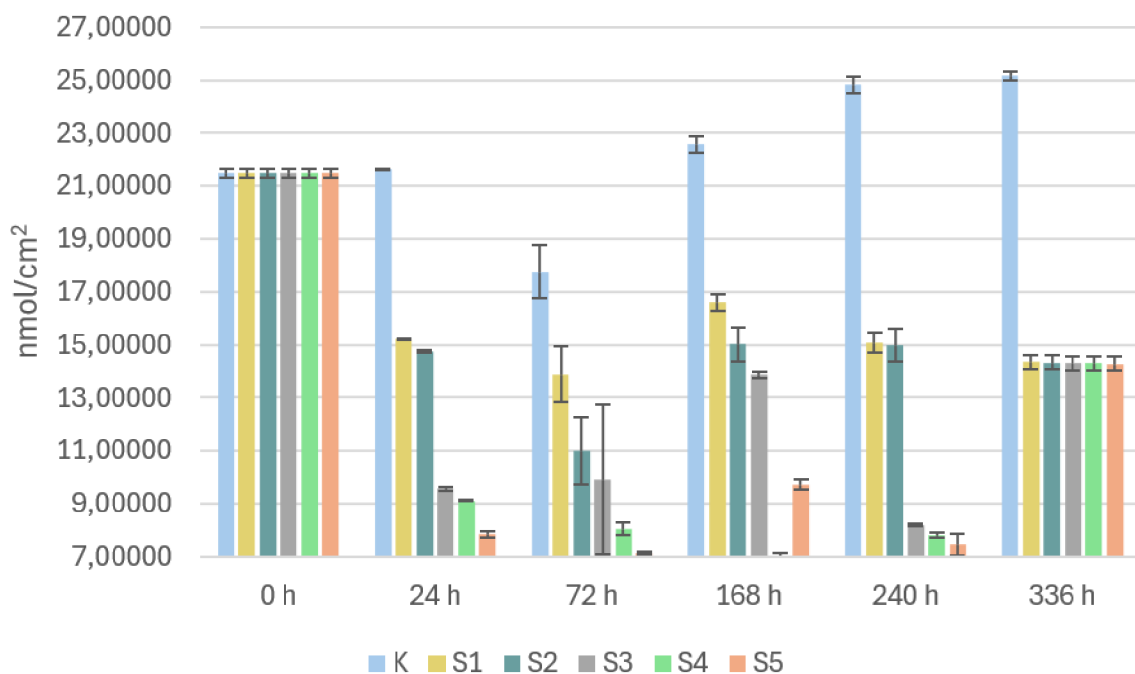
Nejnižší naměřená hodnota byla 7,022 nmol/cm² u varianty S4 po 168 hodinách a nejvyšší hodnota byla u variant ošetřených léčivý 22,580 nmol/cm² (A1) po 240 hodinách. U varianty S bylo zaznamenáno průkazně nejvyšší snížení obsahů chlorofylu oproti variantám A a O.



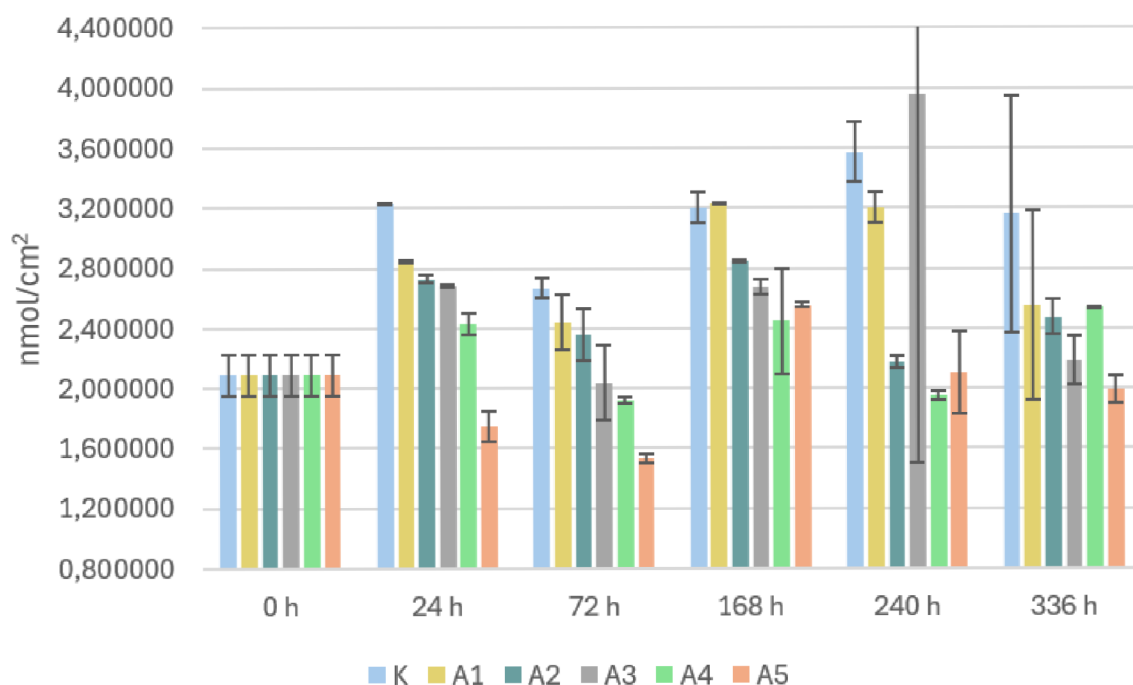
Graf 16: Obsah chlorofylů (nmol/cm²) listů rostlin kukuřice ošetřených antipyrinem v závislosti na termínu a koncentraci.



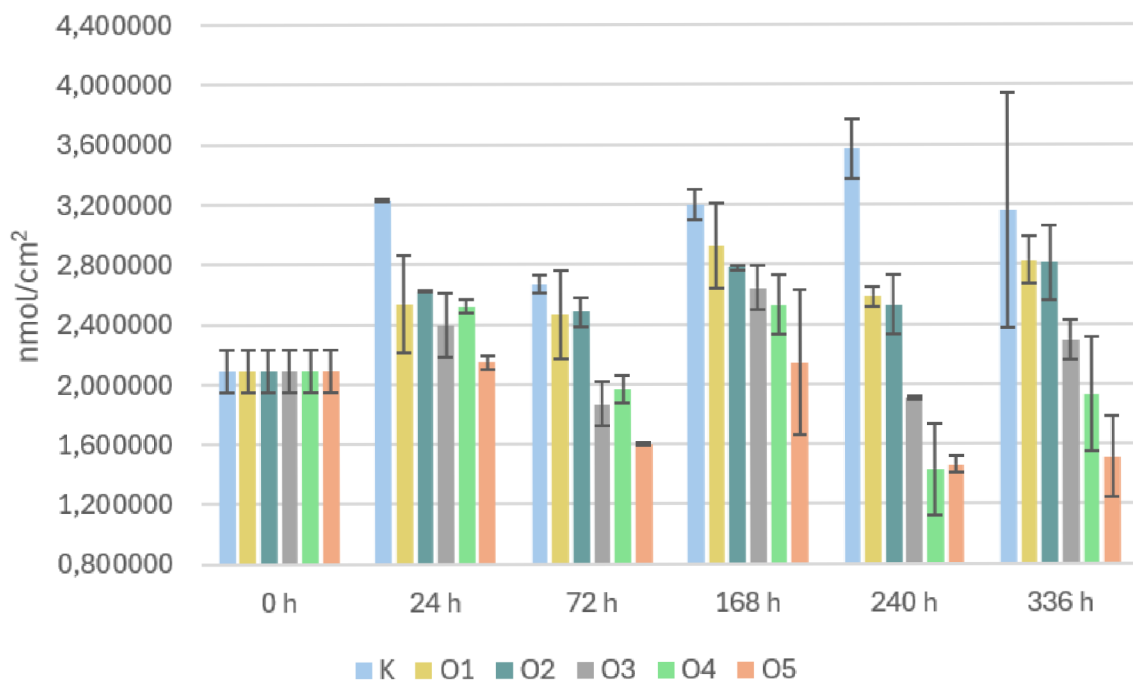
Graf 17: Obsah chlorofylů (nmol/cm²) listů rostlin kukuřice ošetřených omeprazolem v závislosti na termínu a koncentraci.



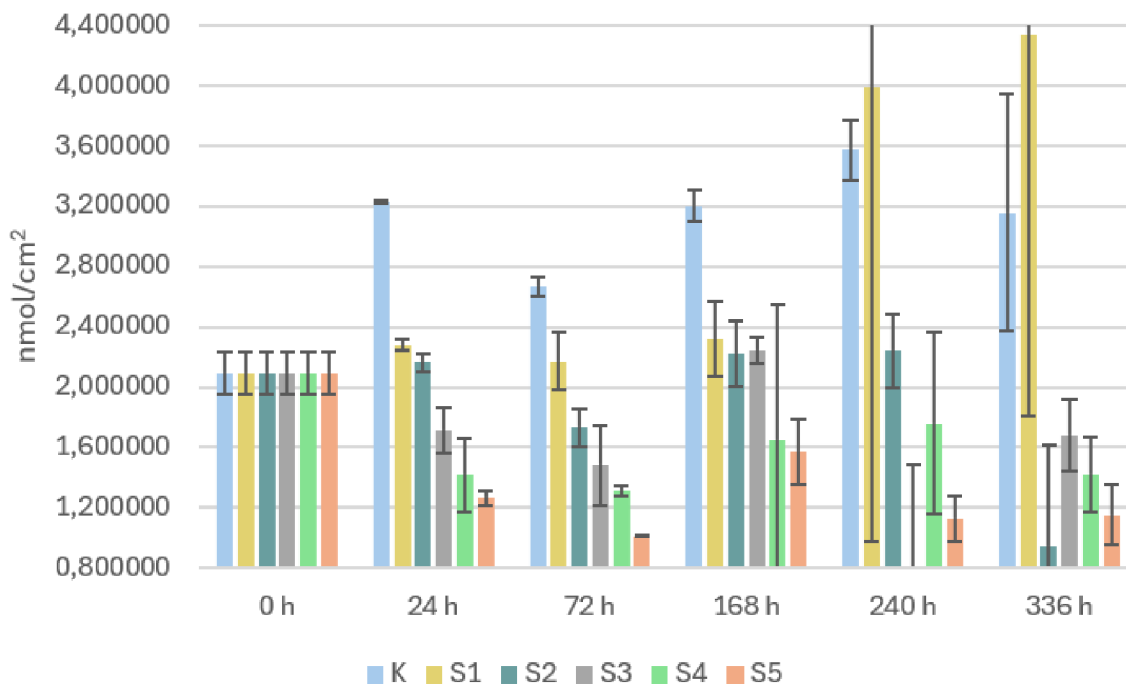
Graf 18: Obsah chlorofylů (nmol/cm²) listů rostlin kukuřice ošetřených směsí léčiv v závislosti na termínu a koncentraci.



Graf 19: Obsah karotenoidů (nmol/cm²) listů rostlin kukuřice ošetřených antipyrinem v závislosti termínu a koncentraci.



Graf 20: Obsah karotenoidů (nmol/cm²) listů rostlin kukuřice ošetřených omeprazolem v závislosti na délce působení stresoru a koncentraci léčiva.



Graf 21: Obsah karotenoidů (nmol/cm^2) listů rostlin kukuřice ošetřených směsí léčiv v závislosti na termínu a koncentraci.

Z grafů 19, 20 a 21 vyplývá, že obsah karotenoidů v listech juvenilních rostlin kukuřice byl ovlivněn nejenom koncentrací léčiv, ale také délkou působení příslušného stresoru na rostliny. Nejvyšší koncentrace léčiv působily na rostliny nejvíce negativně, což je patrné na průměrných hodnotách obsahů karotenoidů u koncentrací 500 a 1000 mg/l.

U variant A byl nalezen mezi 1. a 3. a 4. a 5. termínu statisticky významný rozdíl. Hodnoty obsahu karotenoidů kontrolních rostlin se pohybovaly v intervalu hodnot od $2,088 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ (1. termín) do $3,572 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ (5. termín). Nejnižší obsah karotenoidů u rostlin ošetřených antipyrinem byl zjištěn u varianty s nejvyšší koncentrací (A5) po 72 hodinách $1,531 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ a naopak nejvyšší u varianty A3 po 240 hodinách - $3,952 \text{ nmol}/\text{cm}^2$.

U rostlin ošetřených omeprazolem byl nejnižší obsah karotenoidů v listech naměřen u rostlin z varianty O4 po 240 hodinách $1,430 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ a nejvyšší u varianty s nejnižší koncentrací omeprazolu po 168 hodinách - $2,922 \text{ nmol}/\text{cm}^2$.

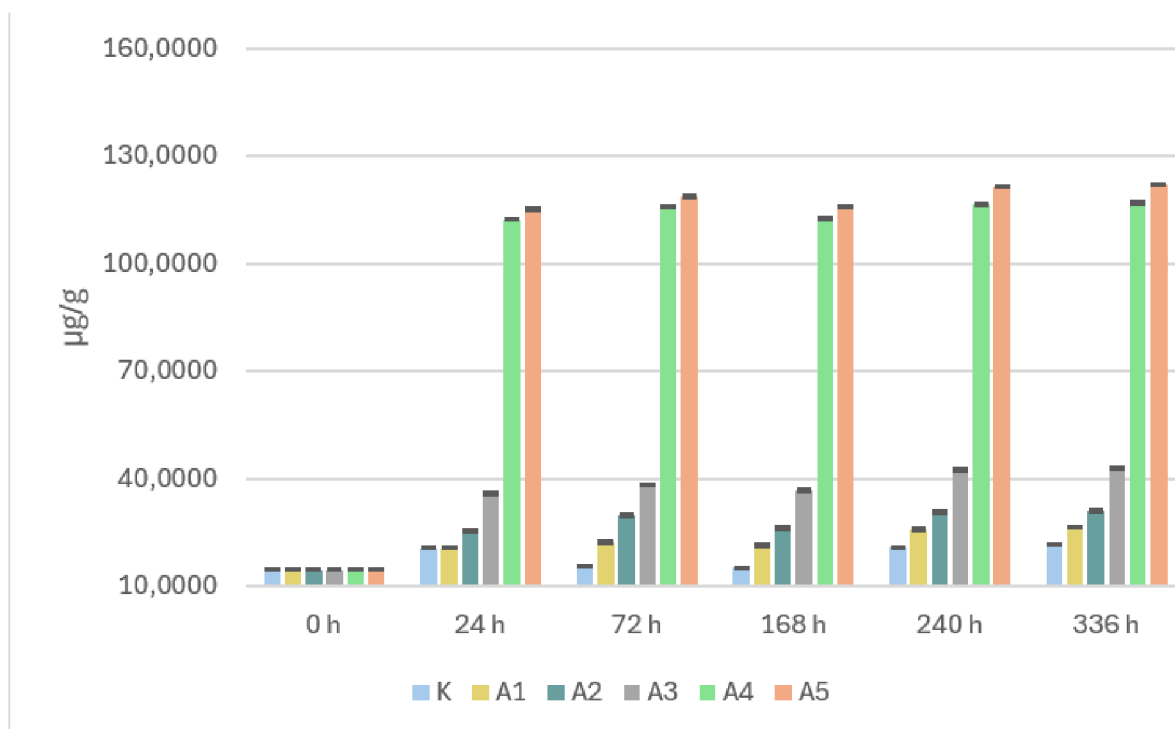
U rostlin ošetřených směsí léčiv se průměrný obsah karotenoidů pohyboval v rozpětí od $0,941 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ (S2, 6. odběr) do $4,339 \text{ nmol}/\text{cm}^2$ (S1, 6. odběr).

5.5 Prolin

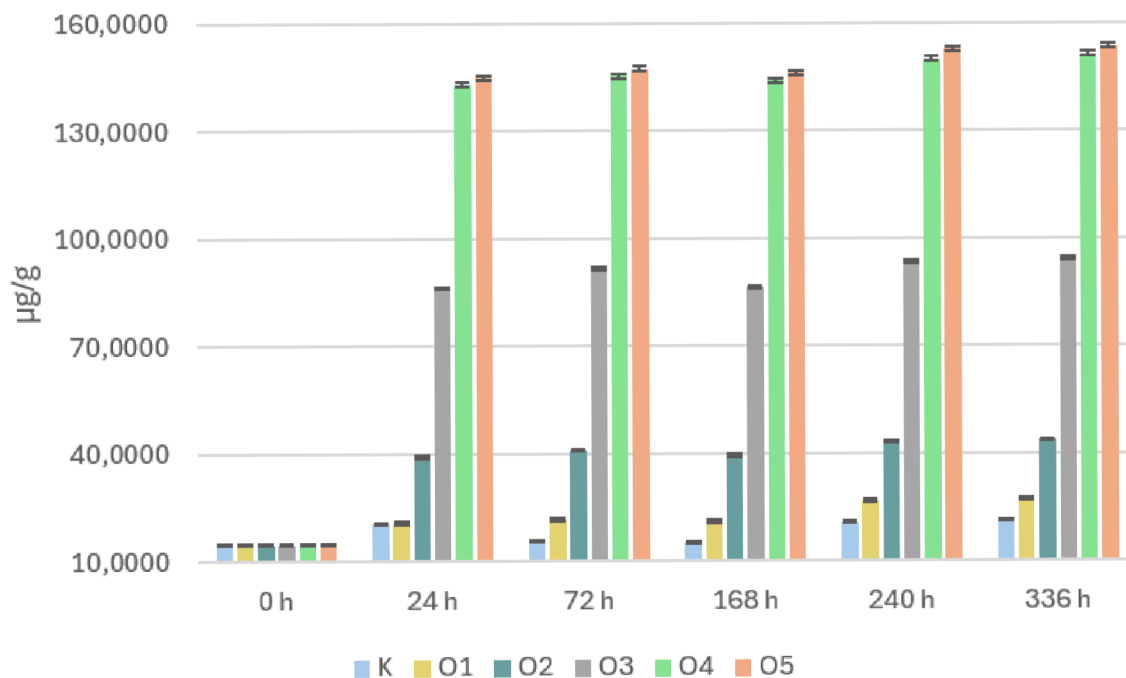
Grafy 22, 23 a 24 uvádějí obsah celkového prolinu v listech pokusných juvenilních rostlin kukuřice v závislosti na použitém léčivu a termínu odběru. Obsah celkového prolinu u všech ošetřených variant se statisticky významně zvýšil v porovnání s 1. odběrem (0 h), jehož průměrný obsah byl 14,667 $\mu\text{g/g}$. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi kontrolními rostlinami a ošetřenými variantami léčivy, kdy se obsah prolinu oproti kontrole zvýšil. Statisticky nejvýraznější rozdíl byl zjištěn mezi kontrolou a rostlinami z varianty S, u které se průměrné hodnoty pohybovaly od 31,067 $\mu\text{g/g}$ (S1, 2. měření) do 160,39 $\mu\text{g/g}$ (S5, 6. měření). Hodnoty obsahu prolinu se u kontrolních rostlin pohybovaly od 14,667 $\mu\text{g/g}$ (0 h) do 21,570 $\mu\text{g/g}$ (336 h). Zvyšující se obsahy prolinu naznačují, že léčiva vyvolávala stres u rostlin.

U varianty S1 se obsah prolinu průkazně zvýšil po 336 hodinách od aplikace léčiv (586,547 $\mu\text{g/g}$).

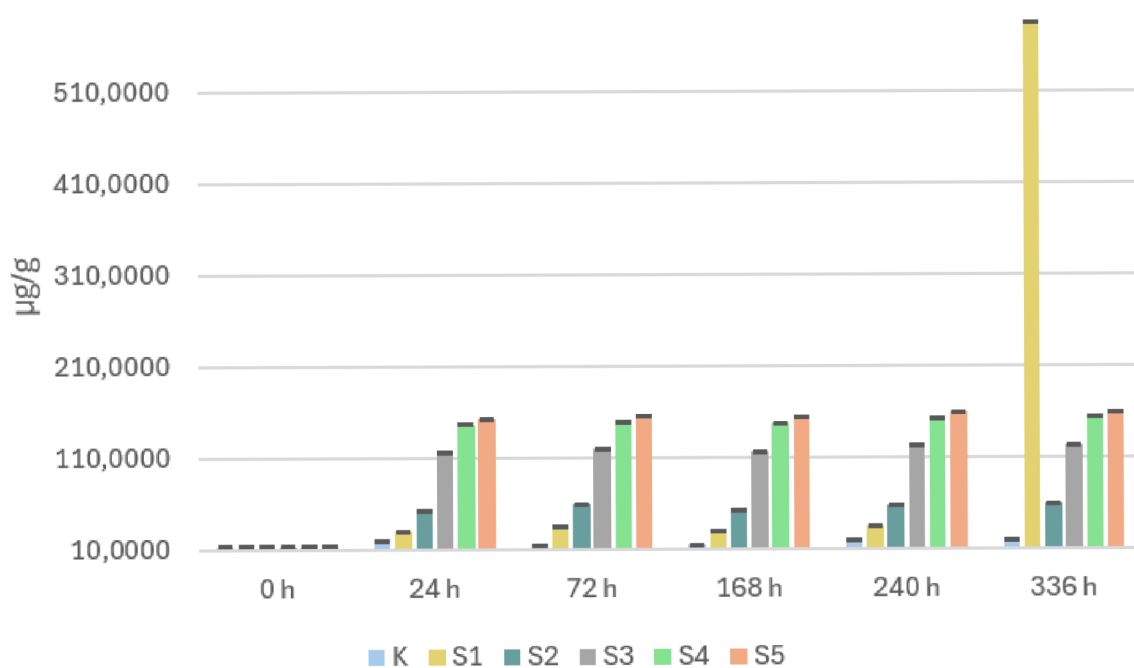
U rostlin ošetřených antipyrinem byl nejvyšší obsah prolinu u varianty A5 po 336 h (122,067 $\mu\text{g/g}$) a nejnižší u A1 při 2. termínu odběru (20,7 $\mu\text{g/g}$). Výjimku z uvedeného tvoří 1. odběr. Hodnoty prolinu u rostlin ošetřených omeprazolem byly v průběhu času průkazně vyšší než hodnoty u variant A a nejvyšší průměrný obsah prolinu byl zjištěn u varianty O5 po 336 hodinách 153,523 $\mu\text{g/g}$. U variant se směsí antipyrinu a omeprazolu byl obsah prolinu u varianty S5 160,390 $\mu\text{g/g}$ (336 hodin).



Graf 22: Změny obsahu prolinu ($\mu\text{g/g}$) rostlin kukuřice ošetřených antipyrinem v závislosti na termínu a na koncentraci.



Graf 23: Změny obsahu prolinu ($\mu\text{g/g}$) rostlin kukuřice ošetřených omeprazolem v závislosti termínu a koncentraci.



Graf 24: Změny obsahu prolinu ($\mu\text{g/g}$) rostlin kukuřice ošetřených směsí léčiv v závislosti na termínu a koncentraci.

6 Diskuze

6.1 Osmotický potenciál

Abiotické stresy mohou u rostlin vyvolat přímý nebo nepřímý hyperosmotický stres. Osmoregulace je adaptace rostlinných buněk na stresové podmínky, kdy se zvýší koncentrace rozpuštěných látek, především akumulací anorganických a organických látek, tím se sníží osmotický potenciál a zvýší se schopnost rostliny zadržovat vodu (Zhang et al. 2023).

Z výsledků vyplývá, že se po přidání léčiv hodnoty osmotického potenciálu snížily u všech ošetřených rostlin. Velké snížení osmotického potenciálu nastalo již po 24 hodinách od přidání léčiv. Nejnížší zvýšení vodního potenciálu vykazovaly rostliny ošetřené antipyrinem, následně omeprazolem a nejvyšší snížení bylo zaznamenáno u variant ošetřených směsí antipyrinu a omeprazolu. Tyto výsledky naznačují, že směs léčiv u rostlin vyvolávala větší stresové podmínky než jednotlivá léčiva i v nižších koncentracích. Největší snížení nastalo u rostlin ošetřených směsí léčiv u koncentrací 500 a 1000 mg/l, které byly u 6. termínu odběru o 578 % nižší než kontrolní rostliny odebrané ve stejném termínu.

Odlišné výsledky byly zjištěny ve studii Mascellani et al. (2023), kde sledovali účinek karbamazepinu přidaného do substrátu v koncentracích 0,1, 1, 10, and 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na rostliny kukuřice ve fenologické fázi 4. listu. V této studii se hodnoty osmotického potenciálu zvýšily u rostlin kukuřice v půdě, která obsahovala léčiva. Rozdílný výsledek této práce mohl být způsoben vyššími koncentracemi léčiv a rozdílným způsobem pěstování.

V rámci této práce byl prokázán negativní vliv antipyrinu, omeprazolu a jejich směsí na juvenilní rostliny kukuřice. Lze předpokládat, že se vzhledem k adaptaci rostlin na koncentrace léčiv významně snížil osmotický potenciál.

6.2 Fluorescence

Ke zjištění ztráty funkce reakčních center PSII se používá poměr F_v/F_m , který představuje odhad maximální fotochemické účinnosti. Hodnoty F_v/F_m se obvykle pohybují mezi 0,75 a 0,85, což je úměrné kvantovému výtěžku fotochemie. Pokles těchto hodnot je brán jako dobrý ukazatel fotoinhibice, která může být důsledkem poklesu rychlostní konstanty fotochemie PSII způsobeného poškozením reakčních center PSII. To vede k nárůstu počáteční fluorescence v otevřených pastech PSII (F_0), nebo zvýšením rychlostní konstanty nezářivé disipace excitační energie, což vede k poklesu počáteční fluorescence (F_0), tak maximální fluorescence v uzavřených pastech PSII (F_m) (Guidi et al. 2019). F_v/F_0 je citlivější k detekci změn vyvolaných stresem v rostlinách (Lichtenthaler et al. 2005).

Výsledky maximálních kvantových výtěžků (F_v/F_m) byly u všech variant podobné i přes různé koncentrace léčiv v průběhu času. Hodnoty F_v/F_m u ošetřených rostlin byly v rámci celého pokusu nižší než u kontrolních rostlin. Hodnoty F_v/F_m se nejvíce snížily u posledního měření u variant ošetřených směsí antipyrinu a omeprazolu.

Potenciální účinnost fluorescence (F_v/F_0) byla u rostlin ošetřených léčivou nižší než u kontrolních rostlin. Nejvíce se hodnoty potenciální účinnosti fluorescence snížily u 6. měření. Nejvyšší snížení F_v/F_0 bylo naměřeno u varianty ošetřené 500 mg/l směsí antipyrinu a

omeprazolu a průměrná hodnota byla o 44 % nižší než u kontrolních rostlin během stejného měření (336 h).

Ve studii Hájková et al. (2019) zaznamenali podobné výsledky po ošetření *Lemna minor* diklofenakem. Při koncentracích diklofenaku 100 a 1000 μM se snížily hodnoty maximálního i efektivního kvantového výtěžku PSII. F_v/F_m se snížila o 21 % a Φ_{II} o 44 %.

Snížení F_v/F_m a F_v/F_0 zaznamenali i Siemieniuk et al. (2021), kdy přidali do růstových médií naproxen a diklofenak a sledovali jejich vliv na rostlinách kukuřice a rajčat. U naproxenu se v listech kukuřice snížily hodnoty F_v/F_m přibližně o 52 % a u F_v/F_0 o 75 %. U rajčat se F_v/F_m po 14 dnech snížilo o 5 % a F_v/F_0 o 20 %. Přidání diklofenaku do média u kukuřice v kratším časovém úseku neměl průkazný vliv na hodnoty fluorescence, ale po dvou týdnech došlo k výraznému poklesu. Listy rajčat měly hodnoty fluorescence nižší bez ohledu na délku trvání pokusu.

Ve studii Mascellani et al. (2023) se hodnoty F_v/F_m a F_v/F_0 u rostlin kukuřice ve fenologické fázi 4. listu ošetřených karbamazepinem snížily u koncentrací 1, 10 a 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, výjimkou byla koncentrace 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, u které poklesly pouze hodnoty F_v/F_m .

V této práci byl potvrzen negativní účinek léčiv na fluorescenci ošetřených juvenilních rostlin kukuřice. Výsledky ukazují, že léčiva mají na rostliny negativní účinek vzhledem ke snížení hodnot potenciální účinnosti fluorescence a maximálních kvantových výtěžků, což nasvědčuje tomu, že u rostlin došlo k fotoinhibici (Guidi et al. 2019) způsobené farmaky. Nejvyšší snížení fluorescence bylo potvrzeno u směsi léčiv, díky čemuž lze říct, že směs léčiv měla větší negativní účinek na rostliny kukuřice než jednotlivá léčiva. Negativní účinek léčiv na hodnoty fluorescence byl potvrzen i ve studiích Mascellani et al. (2023), Siemieniuk et al. (2021) a Hájková et al. (2019).

6.3 Rychlost výměny plynů

Kyselina abscisová hraje roli v reakcích rostlin na abiotické stresy, které indukují její syntézu. Kyselina abscisová se podílí na regulaci několika fyziologických a biochemických procesů v rostlinách jako je třeba změna stomatální rezistence, která vede k regulaci rychlosti transpirace listů. Tento hormon zvyšuje toleranci vůči různým stresům u různých plodin (Zhang et al. 2023).

Rychlost fotosyntézy se významně snížila oproti prvnímu termínu měření u všech variant a v průběhu času se hodnoty nadále snižovaly. Nejnižší snížení rychlosti fotosyntézy vykazovaly rostliny ošetřené antipyrinem, poté následovaly rostliny ošetřené omeprazolem, a nakonec rostliny ošetřené směsí léčiv. To naznačuje, že směs antipyrinu a omeprazolu vyvolávala v rostlinách vyšší stresové reakce než jednotlivá léčiva. Nejnižší hodnoty byly o 11,75 % (varianta ošetřená 1000 mg/l směsí léčiv) nižší než kontrola měřená ve stejném čase (336 h). Nejvyšší hodnoty byly o 1,56 % (varianta ošetřená 0,1 mg/l antipyrinu) nižší než u kontrolních rostlin měřených ve stejný čas (72 h).

Podobné výsledky zaznamenali ve studii Kudrna et al. (2023), kde sledovali fyziologické parametry juvenilních rostlin kukuřice ošetřené různými koncentracemi acetaminofenu. U rostlin byl zaznamenán negativní vliv zvyšujících se koncentrací léčiva na rychlost fotosyntézy.

U koncentrace 800 mg/l byla rychlost fotosyntézy snížena o 72 % a u 1000 mg/l o 77 % ve srovnání s kontrolní variantou. Nejméně inhibičně působily na rostliny nižší koncentrace léčiv.

Rychlost transpirace se u všech variant průkazně snížila u 2. a 3. měření a následně se začala zvyšovat (4. měření). K nejvyššímu snížení rychlosti transpirace došlo u variant ošetřených antipyrinem. U rostlin s omeprazolem v pěstebním roztoku se zvýšily nejvíce hodnoty u rostlin s nejvyšší koncentrací léčiva u 4. termínu měření a vysoké hodnoty se držely až do konce pokusu. U kukuřic, které byly pěstované v roztocích s koncentracemi směsi léčiv, se rychlost transpirace v průběhu pokusu zvýšila nejvíce ve 4. termínu měření, a to zejména u varianty ošetřené 10 mg/l, která se prokazatelně srovnala s kontrolními rostlinami.

Na základě výsledků této práce lze konstatovat, že byly rostliny negativně ovlivněny koncentracemi použitých léčiv vzhledem ke snížení rychlosti výměny plynů oproti kontrolním rostlinám. Také to naznačuje, že v rostlině probíhala zvýšená tvorba kyseliny abscisové (Zhang et al. 2023), díky které se pravděpodobně snížila rychlost transpirace od 0. do 72. hodiny z důvodu pokusu rostlin zvýšit toleranci vůči jmenovaným stresorům.

6.4 Fotosyntetické pigmenty

U rostlin mají stresové podmínky jako salinita, chlad, sucho, toxicita kovů a dalších látek vliv na strukturu chloroplastů a vedou k úbytku chlorofylu, čímž se snižuje fotosyntetická aktivita (Sherin et al. 2022). Uvedený závěr byl potvrzen u pokusu s juvenilními rostlinami kukuřice v této práci, kdy měla léčiva negativní vliv na obsah fotosyntetických pigmentů.

Z výsledků vyplývá, že koncentrace léčiv měly vliv na obsah celkového chlorofylu. Byl zaznamenán pokles jejich obsahu u stresovaných rostlin v porovnání s kontrolou. Nejnížší naměřené hodnoty byly naměřeny u variant, které byly ošetřeny směsí antipyrinu a omeprazolu, i když při posledním měření (336 hodin) se hodnoty zvýšily a byly téměř vyrovnané. Nejnížší hodnoty u všech variant byly naměřeny u nejvyšších koncentrací (500 a 1000 mg/l). U varianty S4 (500 mg/l směsi léčiv, 4. termín) se průměrný obsah celkového chlorofylu snížil oproti kontrole o 68,9 %. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u variant s koncentrací léčiv 0,1 mg/l.

Tyto výsledky částečně korelují s výsledky Zezulka et al. (2019), kde konstatují, že ke snížení obsahu chlorofylu a a b u ošetřených rostlin hrachu a kukuřice dochází u koncentrací 5 a 10 mg/l diklofenaku a paracetamolu.

Obsahy karotenoidů byly ovlivněny koncentracemi léčiv a jejich hodnoty se u nejvyšších koncentrací snižovaly v průběhu času. U obsahu karotenoidů byl však pozorován nárůst hodnot oproti kontrolám měřených ve stejný čas, a to u variant A3 (5. měření) o 10,6 %, A1 (4. měření) 0,88 % a S1 (5. a 6. měření) o 11,7 % a 37,4 %.

Částečně odlišné výsledky získali ve studii Kudrna et al. (2020), kdy se obsah chlorofylu v listech salátu (*Lactuca sativa*) při akutním působení acetaminofenu při ošetření koncentrací 500 μ M zvýšil o 8,12 % a u karotenoidů o 21,51 % ve srovnání s kontrolními rostlinami. U chronického působení léčiva u koncentrací 500 μ M se obsah fotosyntetických pigmentů zvýšil o 27,46 % u chlorofylu a o 41,8 % u karotenoidů oproti kontrolním rostlinám. Rozdílné výsledky mohly být způsobené koncentracemi léčiv, které byly v této práci vyšší a také vzhledem k tomu, že rostliny byly ošetřené jinými druhy léčiv.

6.5 Prolin

Prolin se v rostlinách akumuluje při nedostatku vody, zasolení, nízké teplotě, expozici těžkým kovům a při dalších stresových situacích. Prolin působí jako osmolyt pro osmotickou úpravu, přispívá ke stabilizaci subcelulární struktury, zachycuje volné radikály a tlumí buněčný redoxní potenciál za stresových podmínek (Hayat et al. 2012). Prolin hraje důležitou roli v toleranci rostlin vůči stresu, také hraje roli v adaptaci, obnově a signalizaci během abiotického stresu (Kaur & Asthir 2015). Kyselina abscisová hraje roli v syntéze a akumulaci prolínu (Zhang et al. 2023).

Z výsledků vyplývá, že se ve všech variantách významně zvýšil průměrný obsah prolínu v kukuřicích ošetřených léčiv. Nejvyšší obsahy byly naměřeny u variant s 500 a 1000 mg/l, kdy byl nejvyšší průměrný obsah naměřen při 6. odběru u varianty S5 (160,39 $\mu\text{m/g}$) a rozdíl oproti kontrole (6. odběr) činil 643,58 %. Výsledky naznačují, že rostliny reagovaly na negativní účinky léčiv zvýšením obsahu prolínu, který byl nejvyšší u vyšších koncentrací léčiv. Nejnižší nárůst prolínu byl zaznamenán u rostlin, které byly ošetřené nižšími koncentracemi (0,1 a 10 mg/l). U varianty A1 byl naměřen stejný obsah prolínu po 24 hodinách od aplikace léčiva jako u kontroly odebrané ve stejný termín (20,7 $\mu\text{g/g}$). Zlom v růstu obsahu prolínu byl u variant ošetřených 100 mg/l, kdy se několikanásobně zvýšil oproti nižším koncentracím. U varianty S1 při 6. odběru bylo naměřeno 586,5467 $\mu\text{m/g}$ (2619 % zvýšení oproti kontrole odebrané ve stejný termín), což nekorelovalo s trendem obsahů prolínu v průběhu času a s koncentrací léčiv. Tento fakt nasvědčuje tomu, že během zpracovávání došlo k chybě.

Mezi léčivý měly nejnižší obsahy prolínu rostliny pěstované v roztocích obsahujících antipyrin, dále byly rostliny ošetřené omeprazolem a nejvíce prolínu vykazovaly rostliny pěstované v roztoku obsahující směs těchto léčiv. Z tohoto vyplývá, že směs více negativně ovlivňovala rostliny juvenilní kukuřice než jednotlivá léčiva.

Podobné výsledky uvádí ve studii Martins et al. (2020), kde sledovali hladiny prolínu u rajčat (*Solanum lycopersicum* L.) a zjistili, že se obsah při nejnižší koncentraci (0,5 mg/l) nezměnil. U nejvyššího ošetření (5 mg/l) byla pozorována akumulace prolínu ve výhoncích a v kořenech.

Jelikož prolín funguje jako silný antioxidant proti nadbytku reaktivních forem kyslíku (Martins et al. 2020), tak lze konstatovat, že v této studii trpěly všechny rostliny kukuřice stresem způsobeným koncentracemi léčiv v roztoku. Mimo jiné vysoké koncentrace léčiv způsobovaly vyšší produkci reaktivních forem kyslíku a tím pádem byly i koncentrace prolínu mnohem vyšší než u nižších koncentrací. Byl také potvrzen vyšší vliv směsi antipyrinu a omeprazolu na rostliny.

7 Závěr

Účinky antipyrinu, omeprazolu a jejich směsi byly sledovány u kukuřice (*Zea mays* L. odrůda RGT Exxotik). Jejich vliv byl sledován na sedmi fyziologických parametrech, kterými byl osmotický potenciál, fluorescence, rychlost fotosyntézy a transpirace, celkový obsah chlorofylu a karotenoidů a obsah prolinu v listech kukuřice. Ze získaných výsledků se došlo k následujícím závěrům:

- Byl potvrzen vliv léčiv a jejich kombinace na fyziologické parametry juvenilních rostlin kukuřice.
- U rostlin, které byly pěstovány v pěstebním roztoku s léčivy, byly hodnoty zpravidla nižší než kontrolní rostliny.
- Hodnoty obsahu prolinu byly u ošetřených rostlin léčivy vyšší než u kontrolních rostlin.
- Vliv kombinace léčiv na fyziologické parametry byl vyšší než jednotlivá aplikace. Pouze rychlost transpirace v listech kukuřice byla nejnižší u rostlin ošetřených jednotlivými léčivy.
- Byl prokázán vliv délky působení stresoru na fyziologické parametry.
- Byl potvrzen negativní vliv antipyrinu na fyziologické parametry.
- Omeprazol měl negativní vliv na sledované parametry rostlin kukuřice.
- U rostlin ošetřených směsí antipyrinu a omeprazolu byly potvrzeny negativní účinky na fyziologické parametry.

8 Literatura

- Agren GI, Franklin O. 2003. Root : Shoot Ratios, Optimization and Nitrogen Productivity. *Annals of Botany* **92**:795-800.
- Al-Asheh S, Bagheri M, Aidan A. 2021. Membrane bioreactor for wastewater treatment: A review. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 4 (e100109) DOI: 10.1016/j.cscee.2021.100109.
- Aronson JK. 2015. *Meyler's Side Effects of Drugs: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*. Elsevier.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* **39**:205-207.
- Bello MM, Raman AAA, Asghar A. 2019. A review on approaches for addressing the limitations of Fenton oxidation for recalcitrant wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection* **126**:119-140.
- BioScientific. 2013. LCPro+. ADC Bioscientific Ltd. Available from https://www.adc.co.uk/wp-content/uploads/2013/09/LCProSD_8_Page.pdf (accessed March 2024).
- Boix C, Ibáñez M, Sancho JV, Niessen WMA, Hernández F. 2013. Investigating the presence of omeprazole in waters by liquid chromatography coupled to low and high resolution mass spectrometry: degradation experiments. *Journal of Mass Spectrometry* **48**:1091-1100.
- Castellano-Hinojosa A, Gallardo-Altamirano MJ, González-López J, González-Martínez A. 2023. Anticancer drugs in wastewater and natural environments: A review on their occurrence, environmental persistence, treatment, and ecological risks. *Journal of Hazardous Materials* 447 (e130818) DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.130818.
- CSUF. 2021. The Dangers of Pharmaceuticals, Insecticides to Human Health, Environment. CSUF News, Fullerton. Available from <https://news.fullerton.edu/2021/05/the-dangers-of-pharmaceuticals-insecticides-to-human-health-environment/> (accessed April 2024).
- ČSÚ. 2021. Vodovody, kanalizace a vodní toky – 2021. Český statistický úřad, Praha. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2021> (accessed September 2023).
- ČSÚ. 2022. Vodovody, kanalizace a vodní toky – 2022. Český statistický úřad, Praha. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2022> (accessed September 2023).
- Davididou K, Monteagudo JM, Chatzisyneon E, Durán A, Expósito AJ. 2017. Degradation and mineralization of antipyrine by UV-A LED photo-Fenton reaction intensified by ferrioxalate with addition of persulfate. *Separation and Purification Technology* **172**:227-235.
- Ehlers W, Goss M. 2016. *Water Dynamics in Plant Production*. CABI Publishing, Velká Británie.

- Elattar KM, Fadda AA. 2016. Chemistry of antipyrine. *Synthetic Communications* **46**:1567-1594.
- Esplugas S, Bila DM, Krause LGT, Dezotti M. 2007. Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials* **149**:631-642.
- European Medicines Agency. 2022. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2021. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* **76**:122-159.
- Ferrando-Climent L, Rodriguez-Mozaz S, Barceló D. 2014. Incidence of anticancer drugs in an aquatic urban system: From hospital effluents through urban wastewater to natural environment. *Environmental Pollution* **193**:216-223.
- Ganiyu SO, Hullebusch ED, Cretin M, Esposito G, Oturan MA. 2015. Coupling of membrane filtration and advanced oxidation processes for removal of pharmaceutical residues: A critical review. *Separation and Purification Technology* **156**:891-914.
- Gong H, Chu W, Chen M, Wang Q. 2017. A systematic study on photocatalysis of antipyrine: Catalyst characterization, parameter optimization, reaction mechanism and toxicity evolution to plankton. *Water Research* **112**:167-175.
- Guidi L, Lo Piccolo E, Landi M. 2019. Chlorophyll Fluorescence, Photoinhibition and Abiotic Stress: Does it Make Any Difference the Fact to Be a C3 or C4 Species?. *Frontiers in Plant Science* 10 (e438548) DOI: 10.3389/fpls.2019.00174.
- Gworek B, Kijeńska M, Wrzosek J, Graniewska M. 2021. Pharmaceuticals in the Soil and Plant Environment: a Review. *Water, Air, & Soil Pollution* 232 (e145) DOI: 10.1007/s11270-020-04954-8.
- Haghverdi A, Najarchi M, Öztürk HS, Durner W. 2020. Studying Unimodal, Bimodal, PDI and Bimodal-PDI Variants of Multiple Soil Water Retention Models: I. Direct Model Fit Using the Extended Evaporation and Dewpoint Methods. *Water* 12 (e900) DOI: 10.3390/w12030900.
- Hájková M, Kummerová M, Zezulka Š, Babula P, Váczi P. 2019. Diclofenac as an environmental threat: Impact on the photosynthetic processes of *Lemna* minor chloroplasts. *Chemosphere* **224**:892-899.
- Hayat S, Hayat Q, Alyemeni MN, Wani AS, Pichtel J, Ahmad A. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signaling and Behavior* **7**:1456–1466.
- Herrero-Villar M, Delepouille É, Suárez-Regalado L, Solano-Manrique C, Juan-Sallés C, Iglesias-Lebrija JJ, Camarero PR, González F, Álvarez E, Mateo R. 2021. First diclofenac intoxication in a wild avian scavenger in Europe. *Science of The Total Environment* 782 (e146890) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146890.

- Hoagland DR, Arnon DI. 1938. The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circulation* **347**:1-39.
- Holá D, Benešová M, Honnerová J, Hnilička F, Rothová O, Kočová M, Hniličková H. 2010. The evaluation of photosynthetic parameters in maize inbred lines subjected to water deficiency: Can these parameters be used for the prediction of performance of hybrid progeny?. *Photosynthetica* **48**:545-558.
- Homayoonfal M, Mehrnia MR. 2014. Amoxicillin separation from pharmaceutical solution by pH sensitive nanofiltration membranes. *Separation and Purification Technology* **130**:74-83.
- Chauhan S, Shafi T, Dubey BK, Chowdhury S. 2023. Biochar-mediated removal of pharmaceutical compounds from aqueous matrices via adsorption. *Waste Disposal & Sustainable Energy* **5**:37-62.
- Chuang YH, Liu CH, Sallach JB, Hammerschmidt R, Zhang W, Boyd SA, Li H. 2019. Mechanistic study on uptake and transport of pharmaceuticals in lettuce from water. *Environment International* 131 (e104976) DOI: /10.1016/j.envint.2019.104976.
- Jelic A, Gros M, Ginebreda A, Cespedes-Sánchez R, Ventura F, Petrovic M, Barcelo D. 2011. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research* **45**:1165-1176.
- Jia XH, Feng L, Liu Y, Zhang L. 2017. Oxidation of antipyrine by chlorine dioxide: Reaction kinetics and degradation pathway. *Chemical Engineering Journal* **309**:646-654.
- Kaur G, Asthir B. 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum* **59**:609-619.
- Khasawneh OFS, Palaniandy P. 2021. Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants. *Process Safety and Environmental Protection* **150**:532-556.
- Kim I, Yamashita N, Tanaka H. 2009. Performance of UV and UV/H₂O₂ processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. *Journal of Hazardous Materials* **166**:1134-1140.
- Kimura A, Osawa M, Taguchi M. 2012. Decomposition of persistent pharmaceuticals in wastewater by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry* **81**:1508-1512.
- Kodešová R, Grabic R, Kočárek M, Klement A, Golovko O, Fér M, Nikodem A, Jakšík O. 2015. Pharmaceuticals' sorptions relative to properties of thirteen different soils. *Science of The Total Environment* **511**:435-443.
- Kodešová R, Švecová H, Klement A, Fér M, Nikodem A, Fedorova G, Rieznyk O, Kočárek M, Sadchenko A, Chroňáková A, Grabic R. 2024. Contamination of water, soil, and plants by micropollutants from reclaimed wastewater and sludge from a wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment* 907 (e167965) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.167965.
- Kosma CI, Lambropoulou DA, Albanis TA. 2017. Photochemical transformation and wastewater fate and occurrence of omeprazole: HRMS for elucidation of transformation

- products and target and suspect screening analysis in wastewaters. *Science of The Total Environment* **590**:592-601.
- Kudrna J, Hnilička F, Kubeš J, Vachová P, Hniličková H, Kuklová M. 2020. Effect of Acetaminophen (APAP) on Physiological Indicators in *Lactuca sativa*. *Life* 10 (e303) DOI: 10.3390/life10110303.
- Kudrna, J, Popov, M, Hnilička, F, Lhotská, M, Zemanová, V, Vachová P, Kubeš, J, Česká, J, Tunklová, B. 2023. Effects of Acetaminophen Contamination on 5-Methylcytosine Content in *Zea mays* and Plant Physiological Parameters. *Agriculture* 13 (e1333) DOI: 10.3390/agriculture13071333.
- Kurade MB, Ha YH, Xiong JQ, Govindwar SP, Jang M, Jeon BH. 2021. Phytoremediation as a green biotechnology tool for emerging environmental pollution: A step forward towards sustainable rehabilitation of the environment. *Chemical Engineering Journal* 415 (e129040) DOI: 10.1016/j.cej.2021.129040.
- Li Y, Sallah JB, Zhang W, Boyd SA, Li H. 2019. Insight into the distribution of pharmaceuticals in soil-water-plant systems. *Water Research* **152**:38-46.
- Lichtenthaler HK, Buschmann C, Knapp M. 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio Rfd of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica* **43**: 379-393.
- Martins M, Sousa B, Lopes J, Soares C, Machado J, Carvalho S, Fidalgo F, Teixeira J. 2020. Diclofenac shifts the role of root glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase for maintaining nitrogen assimilation and proline production at the expense of shoot carbon reserves in *Solanum lycopersicum* L. *Environmental Science and Pollution Research* **27**:29130–29142.
- Mascellani A, Mercl F, Kurhan S, Pierdona L, Kudrna J, Zemanová V, Hnilička F, Klouček P, Tlustoš P, Havlík J. 2023. Biochemical and physiological changes in *Zea mays* L. after exposure to the environmental pharmaceutical pollutant carbamazepine. *Chemosphere* 329 (e138689) DOI: 10.1016/j.chemosphere.2023.138689.
- Meier U. 1997: BBCH-Monograph. Growth stages of plants. *EntwicklungsstadienvonPflanzen. Estadios de Las Plantas* **622**.
- Miller EL, Nason SL, Karthikeyan KG, Pedersen JA. 2016. Root Uptake of Pharmaceutical and Personal Care Product Ingredients. *Environmental Science & Technology* **50**:525-541.
- Nzila A, Razzak SA, Zhu J. 2016. Bioaugmentation: An Emerging Strategy of Industrial Wastewater Treatment for Reuse and Discharge. *Environmental Research and Public Health* 13 (e846) DOI: 10.3390/ijerph13090846.
- OECD. 2023. Pharmaceutical consumption. OECD Health Statistics. Available from <https://stats.oecd.org/Index.aspx?ThemeTreeId=9#> (accessed March 2024).
- Opti-Sciences. 2023. OS5p+. Opti-Sciences. Available from <https://www.optisci.com/os5p.html> (accessed March 2024).

- Pal P. 2017. Treatment and Disposal of Pharmaceutical Wastewater: Toward the Sustainable Strategy. *Separation & Purification Reviews* **47**:179-198.
- Pawłowska B, Telesiński A, Biczak R. 2021. Effect of diclofenac and naproxen and their mixture on spring barley seedlings and *Heterocypris incongruens*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **88** (e103746) DOI: 10.1016/j.etap.2021.103746.
- Pérez EM, Martín N. 2015. π - π Interactions in Carbon Nanostructures. *Chemical Society Reviews* **44**:6425-6433.
- Pistocchi A, Andersen HR, Bertanza G, Brander A, Choubert JM, Cimbritz M, Drewes JE, Koehler C, Krampe J, Launay M, Nielsen PH, Obermaier N, Stanev S, Thornberg D. 2022. Treatment of micropollutants in wastewater: Balancing effectiveness, costs and implications. *Science of The Total Environment* **850** (e157593) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157593.
- Porra RJ, Thompson WA, Kriedemann PE. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* **975**:384-394.
- Puckey M. 2022. Omeprazole. *Drugs.com*. Available from <https://www.drugs.com/omeprazole.html> (accessed March 2024).
- PVK. 2024. FTN a PVK představují projekt nové čistírny nemocničních odpadních vod. Pražské vodovody a kanalizace, Praha. Available from <https://www.pvk.cz/aktuality/ftn-a-pvk-predstavuji-projekt/> (accessed March 2024).
- Roháček K, Barták M. 1999. Technique of the Modulated Chlorophyll Fluorescence: Basic Concepts, Useful Parameters, and Some Applications. *Photosynthetica* **37**:339-363.
- Rouphael Y, Raimondi G, Lucini L, Carillo P, Kyriacou MC, Colla G, Cirillo V, Pannico A, El-Nakhel C, De Pascale S. 2018. Physiological and Metabolic Responses Triggered by Omeprazole Improve Tomato Plant Tolerance to NaCl Stress. *Frontiers in Plant Science* **9** (e355440) DOI: 10.3389/fpls.2018.00249.
- Sherin G, Aswathi KR, Puthur JT. 2022. Photosynthetic functions in plants subjected to stresses are positively influenced by priming. *Plant Stress* **4** (e100079) DOI: 10.1016/j.stress.2022.100079.
- Siemieniuk A, Ludynia M, Rudnicka M. 2021. Response of Two Crop Plants, *Zea mays* L. and *Solanum lycopersicum* L., to Diclofenac and Naproxen. *International Journal of Molecular Sciences* **22** (e8856) DOI: 10.3390/ijms22168856.
- Státní veterinární správa. 2023. Spotřebu veterinárních antibiotik se daří v ČR dlouhodobě snižovat, je nižší než průměr EU. Státní veterinární správa. Available from <https://www.svscr.cz/spotrebu-veterinarnich-antibiotik-se-dari-v-cr-dlouhodobe-snizovat-je-nizsi-nez-prumer-eu/> (accessed January 2023).

- ÚSKVBL. 2020. Spotřeba antimikrobik ve veterinární medicíně v ČR: Detailní komentované srovnání trendů ve spotřebách antimikrobik 2010-2018. ÚSKVBL 1-48.
- Van Oosten MJ, Dell'Aversana E, Ruggiero A, Cirillo V, Gibon Y, Woodrow P, Maggio A and Carillo P. 2019. Omeprazole Treatment Enhances Nitrogen Use Efficiency Through Increased Nitrogen Uptake and Assimilation in Corn. *Frontiers in Plant Science* 10 (e482540) DOI: 10.3389/fpls.2019.01507.
- Wang J, Chu L. 2016. Irradiation treatment of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in water and wastewater: An overview. *Radiation Physics and Chemistry* **125**:56-64.
- Wang J, Wang S. 2016. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. *Journal of Environmental Management* **182**:620-640.
- Weber K, Quicker P. 2018. Properties of biochar. *Fuel* **217**:240-261.
- WHO. 2012. Pharmaceuticals in drinking-water. World Health Organization.
- Wu X, Dodgen LK, Conkle JL, Gan J. 2015. Plant uptake of pharmaceutical and personal care products from recycled water and biosolids: a review. *Science of The Total Environment* **536**:655-666.
- Xu M, Wu C, Zhou Y. 2020. Advancements in the Fenton Process for Wastewater Treatment. 61-77 in Bustillo-Lecompte CF, editor. *Advanced Oxidation Processes - Applications, Trends, and Prospects*. IntechOpen, United Kingdom.
- Yanatma S. 2023. The world is grappling with a mental health crisis. In Europe, antidepressant consumption has more than doubled in the last 20 years. Euronews. Available from <https://www.euronews.com/health/2023/09/09/europes-mental-health-crisis-in-data-which-country-uses-the-most-antidepressants> (accessed March 2024).
- Zezulka Š, Kummerová M, Babula P, Hájková M, Oravec M. 2019. Sensitivity of physiological and biochemical endpoints in early ontogenetic stages of crops under diclofenac and paracetamol treatments. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:3965–3979.
- Zhang M, Shen J, Zhong Y, Ding T, Dissanayake PD, Yang Y, Tsang YF, Ok YS. 2022. Sorption of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from water and wastewater by carbonaceous materials: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **52**:727-766.
- Zhang Y, Xu J, Li R, Ge Y, Li Y, Li R. 2023. Plants' Response to Abiotic Stress: Mechanisms and Strategies. *International Journal of Molecular Sciences* 24 (e10915) DOI: 10.3390/ijms241310915.
- Zheng W, Guo M. 2021. Soil–Plant Transfer of Pharmaceuticals and Personal Care Products. *Current Pollution Reports* **7**:510-523.