



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

TRANSPORT LÉČIV V PŮDNÍCH SYSTÉMECH

TRANSPORT OF PHARMACEUTICALS IN SOIL SYSTEMS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Denisa Janebová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1662/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Denisa Janebová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Transport léčiv v půdních systémech

Zadání bakalářské práce:

1. Seznámit se s problematikou výskytu a chování léčiv v půdách.
2. Seznámit se s možnostmi studia transportu léčiv v půdách.
3. Na základě poznatků získaných v předchozích bodech navrhnout a provést experimenty.
4. Zhodnotit výsledky experimentů a formulovat závěry.

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

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

Denisa Janebová
studentka

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý
děkan

ABSTRAKT

Léčiva mají negativní vliv na přírodu. Pokud nedojde k jejich degradaci v čistírnách odpadních vod, mohou kontaminovat jezera, řeky a dokonce i pitnou vodu. Půda však obsahuje půdní organickou hmotu, která má chelatační vlastnosti a dokáže zabránit migraci daného léčiva.

Cílem této bakalářské práce bylo zmapovat transport vybraného léčiva v půdním sloupci a pokusit se stanovit jeho difuzivitu. Pro transport byl zvolen sulfapyridin. Sulfapyridin patří do skupiny sulfonamidových antibiotik, které jsou v životním prostředí často detekována. Používá se především ve veterinární medicíně k léčení různých infekcí.

Dílčím cílem bylo popsat základní vlastnosti půdy v závislosti na hloubce půdní vrstvy. Koncentrační profil léčiva v půdním sloupci byl stanoven pomocí UV–VIS spektrometrie v půdních výluzích. Pro vyluhování byla použita tato činidla: destilovaná voda, jako čisté rozpouštědlo bez přítomnosti dalších látek, kohoutková voda jako modelové činidlo nahrazující půdní roztok a roztok chloridu hořečnatého, který je používán pro půdní výluhy volně pohyblivých a iontově vázaných látek v půdě.

KLÍČOVÁ SLOVA

Sulfapyridin, půdní sloupec, půdní organická hmota, huminové látky, difúzní koeficient.

ABSTRACT

Drugs have a negative effect on nature. If they do not degrade in wastewater treatment plants, they can contaminate lakes, rivers and even drinking water. However, the soil contains soil organic matter, which has chelating properties and can prevent the migration of the drug.

The aim of this bachelor thesis was to map the transport of the selected drug in the soil column and try to determine its diffusivity. Sulfapyridine was chosen for transport. Sulfapyridine belongs to a group of sulfonamide antibiotics that are often detected in the environment. It is mainly used in veterinary medicine to treat various infections.

The partial goal was to describe the basic properties of the soil depending on the depth of the soil layer. The drug concentration profile in the soil column was determined by UV–VIS spectrometry in soil extracts. The following reagents were used for leaching: distilled water, as a pure solvent without the presence of other substances, tap water as a model reagent replacing the soil solution and magnesium chloride solution, which is used for soil extracts of freely moving and ionically bound substances in the soil.

KEYWORDS

Sulfapyridine, soil column, soil organic matter, humic substances, diffusion coefficient

JANEBOVÁ, Denisa. *Transport léčiv v půdních systémech* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-22]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139241>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Martina Klučáková.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla ráda poděkovat své vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za poskytnutí cenných rad, konzultace, ochotu a veškerou pomoc při zpracování. Mé poděkování patří též Ing. Petře Závodské, Ing. Vojtěchu Enevovi, Ph.D. a Leoně Kubíkové za pomoc v laboratoři. Na závěr bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům, kteří mě během studia podporovali.

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÁ ČÍST	9
2.1	Půda.....	9
2.1.1	Humínové látky.....	9
2.1.2	Metody používané pro charakterizaci půdy	12
2.2	Léčiva	13
2.2.1	Distribuce léčiv do prostředí.....	13
2.3	Sulfonamidová antibiotika	14
2.3.1	Charakteristika sulfonamidových antibiotik	14
2.4	Metody eliminace léčiv	15
2.4.1	Sorpce	15
2.4.2	Biodegradace.....	16
2.5	Izolace a detekce léčiv.....	17
2.5.1	Metody pro stanovení léčiv.....	18
2.6	Difúze	19
2.6.1	První Fickův zákon	19
2.6.2	Druhý Fickův zákon.....	19
2.7	Současný stav řešené problematiky.....	20
3	PRAKTICKÁ ČÁST	21
3.1	Použité chemikálie	21
3.2	Použité přístroje.....	21
3.3	Charakteristika půdy	21
3.3.1	Postup práce	21
3.3.2	TGA	22
3.3.3	EA	22
3.3.4	FT-IR.....	23
3.4	Příprava roztoků	23
3.4.1	Příprava roztoku chloridu hořečnatého	23
3.4.2	Příprava roztoku sulfapyridinu.....	24
3.5	První sada vzorků	24
3.5.1	Postup práce	24
3.6	Druhá sada vzorků.....	25

3.6.1	Postup práce	25
4	VÝSLEDKY	26
4.1.1	TGA	26
4.1.2	EA	28
4.1.3	FT-IR spektroskopie	29
4.2	UV-VIS spektrometrie	31
4.2.1	Výsledky z první sady vzorků.....	33
4.2.2	Výsledky z druhé sady vzorků.....	34
5	ZÁVĚR.....	35
6	SEZNAM POUŽITÉ LITARATURY.....	36
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	39
7.1	Použité symboly	39
7.2	Použité zkratky	39
8	SEZNAM PŘÍLOH	40
9	PŘÍLOHY	41

1 ÚVOD

V posledních letech roste spotřeba léčiv. Čističky odpadních vod nedokážou zachytit veškeré léčivo, velká část tak proniká do životního prostředí, což je velký problém. Nevýhodou je také používání čistírenských kalů, jako hnojiva zemědělské půdy. Kaly obsahují různé polutanty, kam řadíme i léčiva. Alespoň částečným řešením by mohla být tzv. samočistící schopnost půdy. Půdní organická hmota je schopna interagovat s různými typy polutantů a vázat je na sebe tak, že je částečně eliminuje z půdního roztoku a zabrání jejich další migraci.

Z provedených studií bylo zjištěno, že často detekovanou skupinou léčiv ve vodních tocích jsou sulfonamidová antibiotika. Do této skupiny řadíme i sulfapyridin, který nachází uplatnění především ve veterinární medicíně.

Cílem této bakalářské práce bylo zmapovat transport sulfapyridinu v půdním sloupci a určit jeho difuzivitu. Dílčím cílem bylo popsat vlastnosti půdy v závislosti na hloubce půdní vrstvy. Koncentrační profil sulfapyridinu byl v půdním sloupci stanoven UV–VIS spektrometrií v půdních výluzích. Pro vyluhování byly použity tato činidla: destilovaná voda, kohoutková voda a roztok chloridu hořečnatého.

2 TEORETICKÁ ČÍST

2.1 Půda

Půda je přírodním útvar, který se vyvinul z povrchových zvětralin a organických látek. Lze však snadno zničit, ale těžce obnovit. Působením klimatických podmínek a organismů, které se v půdě nacházejí, vzniklo výsledné složení půdy. V půdě je zastoupena pevná, kapalná i plynná fáze.

Plynnou fází půdy tvoří půdní vzduch, ve kterém je více CO_2 než O_2 . Půdní vzduch zajišťuje biologickou činnost a působením mineralizace na organické látky i uvolňování živin. Spolu s půdním roztokem vyplňuje volné póry v půdě a zajišťují tak transport látek v celém půdním systému.

Kapalná fáze je tvořena vodou a rozpuštěnými látkami, zejména minerálními a organickými. Tyto složky tvoří půdní roztok, který se účastní nejen reakcí půdotvorného procesu, ale hlavně zajišťuje výživu a transport látek v rostlinách. Jeho koncentrace se neustále mění v důsledku působení fyzikálních, chemických a biologických procesů.

Tuhou fází můžeme rozdělit na minerální a organický podíl. Minerální podíl je tvořen zejména jílovými minerály, oxidy, hydroxidy a primárními minerály. Nejvýznamnější a nejzastoupenější jsou jílové materiály, díky jejich vysoké sorpční schopnosti pro vodu a důležité živiny. Avšak při příliš vysokém obsahu jílových částic je půda nepříznivá pro vodní a vzdušný režim. Takovou půdu musíme proto vylepšovat.

Jako organický podíl označujeme složitý komplex různých odumřelých organických látek rostlinného a živočišného původu, které se nacházejí v různém stupni rozkladu. I když tvoří pouze malé procento z celkové tuhé fáze, podmiňuje celou řadu procesů, které příznivě ovlivňují výživu a růst rostlin. Celý organický podíl můžeme rozdělit do tří skupin, a to na látky nehumifikované, humifikované a přechodné [1].

2.1.1 Huminové látky

Jedná se o přírodní organické sloučeniny, které vznikají rozkladem organické hmoty pomocí mikroorganismů. Obsah huminových látek v půdě kolísá od stopových množství až po jednotky procent. V současnosti mají tyto látky široké využití [2]. Přítomnost těchto huminových látek kladně ovlivňuje vlastnosti půdy, především silnými chelatačními vlastnostmi dokáží poutat živiny, vyvazovat škodlivé sloučeniny, jako například těžké kovy a příznivě působí na fyzikální, biochemické a biologické vlastnosti půdy. V půdách, které nemají tak velký obsah huminových látek, dochází k přechodu těžkých kovů až do potravního řetězce [1,2].

Uplatnění nacházejí i v medicíně. Můžeme se s nimi setkat ve formě bahenních koupelí nebo masek [1,2]. Z provedených studií vyplývá, že mají protizánětlivé a antivirové účinky. Mohou tedy například vytvořit na povrchu sliznice trávicího traktu ochranný film a tím tak zabránit průniku infekce a toxinů do organismu. Dále mají pozitivní vliv na funkci jater, kde stimulují tvorbu enzymu ornitin dekarboxylázy. Tento enzym je důležitý pro růst buněk a stabilizaci nově tvořené DNA [2].

Vznik huminových látek

Huminové látky vznikají procesem zvaným humifikace. Při tomto procesu probíhá několik rozkladných dějů. Existuje řada teorií o vzniku těchto látek, i když princip jejich tvorby není zcela vysvětlen. Mezi tyto teorie můžeme zařadit degradační (ligninovou) teorii, syntetickou (polyfenolovou) teorii a teorii kondenzovaných cukrů s aminy. V novějších studiích se můžeme setkat i se supramolekulární teorií [3,4,5,9].

Degradační (ligninová) teorie

Teorie popisuje vznik huminových látek prostřednictvím mikrobiálního rozkladu odumřelého rostlinného materiálu. Při tomto procesu se rozkládají těžko rozložitelné látky, jako je například lignin, kutin nebo melanin za tvorby vysokomolekulární huminy. Vzniklé huminy jsou posléze oxidací transformovány přes huminové kyseliny na fulvokyseliny a dále na ještě menší molekuly. Pokud dojde k pokračování degradace, konečnými produkty jsou oxid uhličitý a voda [4].

Syntetická (polyfenolová) teorie

Tato teorie vychází z předpokladu, že nejprve dochází k degradaci rostlinné tkáně na malé molekuly (karboxylové kyseliny, fenoly atd.) a z nich se teprve vytvoří huminové látky. Nejdříve by tedy vznikaly fulvokyseliny a nakonec až huminy [4].

Kondenzace cukrů s aminy

Teorie je založena na vzniku dusíkatých polymerů vlivem kondenzace redukujících cukrů s aminy. Cukry a aminy vznikají v půdě díky přítomnosti mikroorganismů. Nevýhodou je, že při teplotě, která se v půdě vyskytuje za normálních podmínek, tato reakce probíhá velmi pomalu. Ale díky změnám v půdním prostředí (jako je například mráz, sucho, ...) dochází k urychlení kondenzace [3].

Struktura huminových látek

Navzdory mnoha rozsáhlým studiím je struktura huminových látek stále předmětem bádání. Vyvíjejí se lepší metody na analýzu a popis jejich struktury, proto máme alespoň hypotetické vzorce. Novější studie uvádějí, že huminové látky jsou supramolekulární asociace malých heterogenních molekul, bez makromolekulárního charakteru. Spojovány a stabilizovány jsou pomocí slabých přitažlivých sil, především vodíkových můstků a Van der Waalsových sil [9]. Typickými funkčními skupinami, které jsou přítomné ve struktuře huminových látek, jsou především karboxylové a hydroxylové, ale i methoxalové a karbonylové. Přítomností těchto různých skupin se mohou huminové látky podílet na různých procesech, jako jsou oxidační a redukční reakce, sorpce a další procesy [4,6,7]. Protože se jedná o látky aromatického charakteru, funkční skupiny mohou být navázány na aromatickém jádru nebo na postranním řetězci. Z prvků nejčastěji obsahují uhlík, kyslík, vodík, dusík a v malém množství i síru [4].

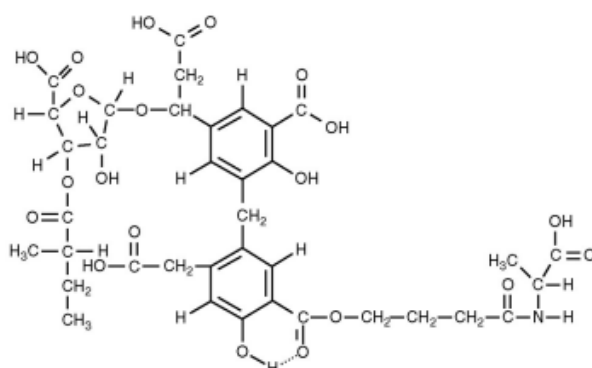
Rozdělení huminových látek a jejich vlastnosti

Humifikované látky rozdělujeme do tří skupin, a to na fulvinové kyseliny, huminové kyseliny a huminy. Přestože si jsou strukturně podobné, jejich rozdělení bylo vytvořeno z hlediska jejich rozdílné rozpustnosti, která závisí především na množství funkčních skupin [4].

Fulvokyseliny

Fulvokyseliny jsou rozpustné ve vodě při jakémkoliv pH. Jejich barva je žlutohnědá a jsou tedy i nejsvětlejší z huminových látek. Dále se vyznačují nejnižším stupněm polymerace [8]. V porovnání s huminovými kyselinami ve své struktuře obsahují méně aromatických struktur, ale více alifatických řetězců. Díky této struktuře tak mají nižší molekulovou hmotnost, která se pohybuje do 2kDa. Pokud se zaměříme na jejich elementární složení, obsahují vyšší podíl kyslík než uhlíku. [4,8].

Díky jejich rozpustnosti jak v zásadách i kyselinách, se mohou v půdě značně pohybovat. S některými látkami vytvoří rozpustné komplexy, což hraje důležitou roli při pohybu minerálních látek v půdě a tím zpřístupní prvky do forem, které mohou rostliny přijmout [1].



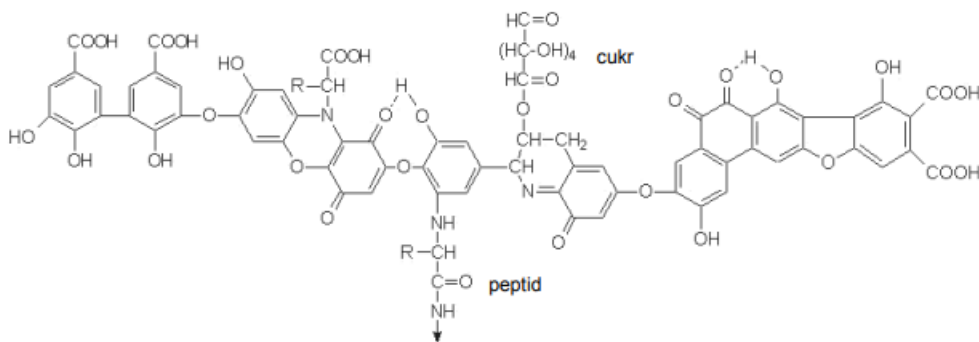
Obrázek 1: Hypotetický vzorec fulvokyseliny [7]

Huminové kyseliny

Huminové kyseliny jsou téměř nerozpustné ve vodě při pH 2 a nižším. Při pH 1 dochází k jejich vysrážení z roztoku. Pokud je chceme získat, můžeme použít alkalické loužení vhodné matrice a následně výluh okyselit. Mají hnědou až hnědočernou barvu. Díky tomu, že ve své struktuře obsahují vyšší počet aromatických kruhů, mají i vyšší molekulovou hmotnost [4,8].

Huminové kyseliny na sebe dokážou navázat řadu těžkých kovů, za vytvoření nerozpustné sloučeniny. Tím tak omezí jejich pohyblivost v půdě a rostliny je nedokážou přijmout. Jejich roztoky mají koloidní povahu.

Další jejich významnou vlastností je vytváření organominerálních komplexů. Tyto komplexy vznikají spojením huminových kyselin s jílovými minerály. Takto vzniklé komplexy mají značnou sorpční schopnost pro různé ionty [1].



Obrázek 2: Hypotetický vzorec huminové kyseliny [7]

Huminy

Huminy jsou ve vodě nerozpustné při jakémkoliv pH. Tato vlastnost je způsobena díky pevným vazbám s anorganickou složkou půdy. Jejich barva je černá. Při elementárních analýzách u nich bylo prokázáno, že z huminových látek obsahují nejvíce uhlíku a nejméně kyslíku. Dále se vyznačují nejvyšší molekulovou hmotností i polymeračním stupněm [8]. V půdě se postupně přetvářejí až na humusové uhlí [1].

2.1.2 Metody používané pro charakterizaci půdy

FT–IR spektroskopie

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT–IR) je metoda používaná ke studiu minerálních a organických složek půdy. Díky této metodě dokážeme charakterizovat strukturální a kinetické aspekty biogeochemických procesů, vysvětlit charakter zvětrávání. Funkční skupiny v půdní organické hmotě, které vykazují dipólový moment a jsou tedy IR absorbuující. Silně ovlivňují vlastnosti půdní organické hmoty. Přítomnost kyslíku, dusíku a síry ve funkční skupině poskytují organické hmotě vysokou chemickou reaktivitu, jako například kapacitu výměny iontů nebo sorpci kovů [9].

TGA

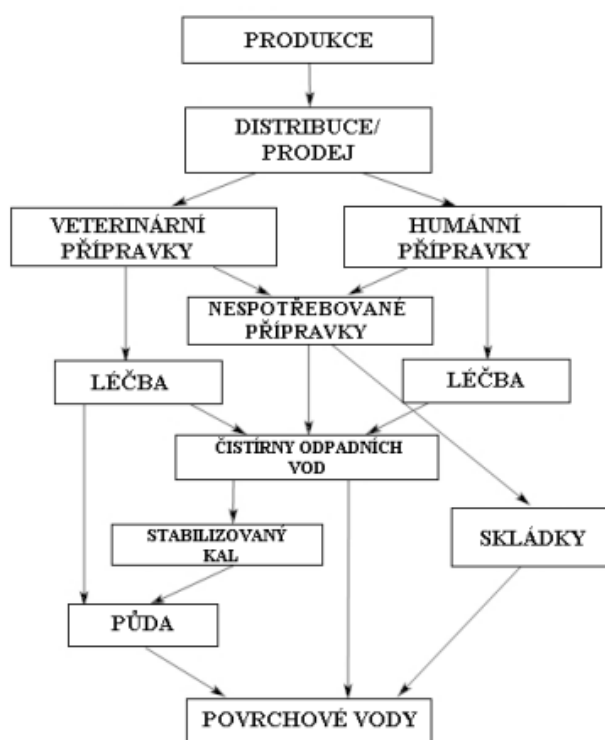
Termogravimetrická analýza je metoda používána k měření změny hmotnosti vzorku jako funkce teploty. Některé tepelné jevy nemusí způsobit změnu hmotnosti vzorku, může se jednat například o krystalizaci nebo skelný přechod. Existují některé výjimky, kam řadíme desorpci, absorpci, sublimaci, odpařování, oxidaci redukci a rozklad. Tato metoda tedy slouží k charakterizaci rozkladu a tepelné stability materiálu za různých podmínek. Dále také zkoumá kinetiku fyzikálně-chemických procesů, probíhajících ve vzorku [10].

2.2 Léčiva

Za léčiva se považují léčivé látky, případně jejich směsi, nebo léčivé přípravky, které pozitivně ovlivňují organismus. Může se jednat o humánní přípravky, tedy přípravky podávané lidem, nebo o veterinární přípravky, které jsou určeny zvířatům. Léčiva mohou být přírodního nebo syntetického původu, které se používají k prevenci a léčení různých nemocí. Před podáním léčiva pacientovi, musí být upraveny do požadované lékové formy. Tato forma se skládá z léčivé a pomocné látky. Pomocná látka je bez léčebného účinku, ale usnadňuje výrobu, přípravu, uchování a samotnou aplikaci léčivých přípravků. Podle způsobu podání dělíme léčiva na enterální a parentální [11].

2.2.1 Distribuce léčiv do prostředí

Humánní a veterinární léčiva se neustále uvolňují do životního prostředí v důsledku výrobních procesů, likvidací nepoužitých, případně prošlých léčiv. Největším rizikem jsou však samotní pacienti. Aktivní látky se po požití vylučují z těla buď ve formě metabolitů nebo nezměněné formě. Díky splaškům odcházejí tyto formy až na čističky odpadních vod (ČOV). Zde však nejsou tyto látky úplně zachyceny a přecházejí tak do různých částí ekosystému, kde se mohou akumulovat a indukovat nepříznivé účinky. Další nevýhodou je používání stabilizovaných čistírenských kalů jako druhotná hnojiva na zemědělských plochách. Odtud mohou odolná léčiva, případně jejich metabolity, proniknout až do potravních řetězců [5,12].



Obrázek 3: Tok léčiv a jejich metabolitů do životního prostředí [12]

Mezi nejběžnější skupinu léčiv, která se touto cestou dostávají do životního prostředí, jsou analgetika. Jedná se o skupinu léčiv, která různými způsoby působí na periferní a centrální

nervový systém. Jsou široce používány ke zmírnění bolesti. Skupina zahrnuje narkotická a nenarkotická analgetika a dále nesteroidní protizánětlivá léčiva. Nejznámějšími a nejpoužívanějšími léčivy z této skupiny jsou například diklofenak, aspirin a ibuprofen [13].

Druhou rozsáhlou skupinou jsou antibiotika. Existuje více než deset různých tříd antibiotik. Do třídy β -laktamy řadíme například hojně používaný penicilin. Další třídou jsou sulfonamidová antibiotika, kam patří sulfapyridin. Dále se jedná o léčiva, která slouží proti vysokému krevnímu tlaku, antiepileptika, psychostimulační léčiva a hormony [13].

2.3 Sulfonamidová antibiotika

Sulfonamidy se používají jako syntetická antibiotika nejdéle. Využívají se na léčení infekcí, které jsou způsobeny bakteriemi či jinými mikroorganismy. Strukturně se jedná o deriváty kyseliny sulfanilové. Jejich mechanismus účinku je založen na inhibici přeměny kyseliny p – aminobenzoové, která je nezbytná pro syntézu kyseliny listové. Tímto způsobem zabraňuje růstu a reprodukci mikroorganismů. Jejich výhodou je účinnost jak na gramnegativní, ale také na grampozitivní bakterie. Mezi tyto bakterie můžeme zařadit například známou bakterii *Escherichia coli*. Do skupiny sulfonamidových antibiotik řadíme například: sulfapyridin, sulfathiazol, sulfamethoxazol a další [14,15,16].

Sulfonamidová antibiotika mohou být předepsány k léčbě infekcí močových cest, ušních, očních a řadu dalších druhů infekcí. V posledních letech nacházejí značné uplatnění ve veterinární medicíně. Používají se jako růstové stimulanty a ke zlepšení účinnosti krmiva. Sulfonamidová antibiotika se metabolizují především v játrech, metabolity pak spolu se zbytky původní sloučeniny v moči. Teoreticky jsou metabolity odstraněny z organismu rychleji než původní lék [15].

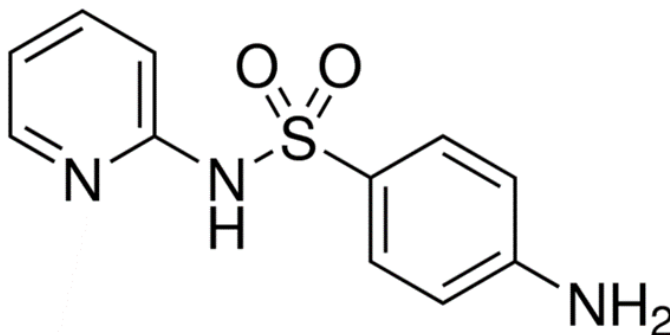
2.3.1 Charakteristika sulfonamidových antibiotik

Základní sulfonamidová struktura obsahuje sulfonamidovou skupinu a aminoskupinu v poloze para na benzenovém jádru. Velká řada sulfonamidových derivátů byla získána substitucí atomu vodíku na dusíku sulfonamidové skupiny. Pouze malý počet aktivních sulfonamidových látek je založen na substituci vodíku dusíkem z aromatické aminoskupiny. Zavedením různých substituentů vedlo k produktům o různých fyzikálně-chemických, farmakokinetických a farmakodynamických vlastnostech [16].

Sulfonamidy jsou slabé polární kyseliny, které jsou poměrně dobře rozpustné ve vodě. To má vliv i na jejich výskyt v životním prostředí, kde jsou distribuovány jak povrchovými, tak i podzemními vodami. Další nevýhodou je jejich udržování bakteriální rezistence. Při zkoumání léčiv v životním prostředí, je třeba zaměřit se i na jejich produkty metabolismu a degradaci jak z pohledu terapeutického, tak i toxického. I když velké množství metabolitů má menší aktivitu než původní sloučenina, některé metabolity však zůstávají bioaktivní a působí tak stále toxicky. Tyto antibiotika a jejich metabolity můžeme odstranit z životního prostředí různými technickými metodami, například oxidační techniky, adsorpční a membránové procesy a další [15,16].

Sulfapyridin

Sulfapyridin neboli 4-amino-N-pyridin-2-ylbenzensulfonamid, je léčivo patřící do skupiny sulfonamidových antibiotik. Jako většina sulfonamidů, je i sulfapyridin podáván orálně. Je to kompetitivní inhibitor bakteriálního enzymu. Jeho rozpustnost ve vodě je závislá na pH. Používal se na léčbu infekce herpetiformní dermatitidy. Kvůli jeho možné krystalizaci v močovém měchýři se dnes již v humánní medicíně nevyužívá. Uplatnění nachází ve veterinární medicíně [17,18].



Obrázek 4: Struktura sulfapyridinu [19]

Tabulka 1: Některé vlastnosti sulfapyridinu [20,21]

Molekulární vzorec	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S
Molární hmotnost	249,289 g/mol
Rozpustnost ve vodě	1,02 mg/l
Bod tání	192 °C
Difuzní koeficient	4,75 · 10 ⁻⁶ cm ² /s

Z provedených studií bylo dokázáno, že obsah sulfapyridinu byl stanoven jak v odpadních vodách, tak také v zemědělských půdách, i když se jednalo poměrně o malé koncentrace. Dále bylo prokázáno, že půdní organická hmota značně snižuje sorpci sulfapyridinu do půdy [22].

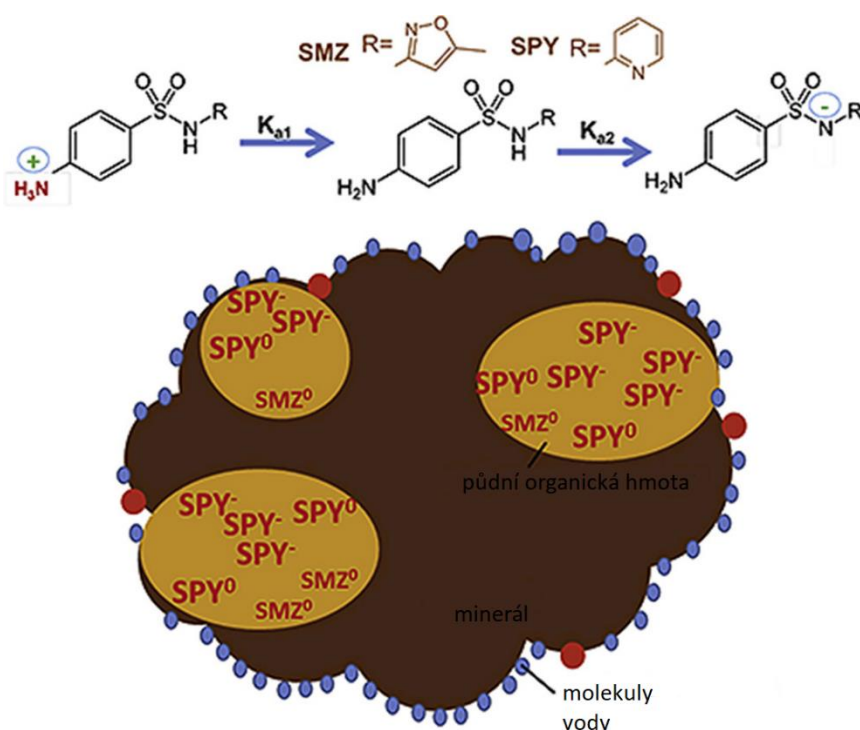
2.4 Metody eliminace léčiv

Jelikož jsou léčiva málo těkavá, jejich následná migrace do životního prostředí je závislá na vodním transportu. Při úpravách odpadních vod jsou dva důležité procesy: sorpce a biodegradace [13].

2.4.1 Sorpce

Sorpce antibiotik do půdní matrice může nejen snížit jejich mobilitu a dostupnost, ale také chrání antibiotika před jejich degradací. Antibiotika se mohou sorbovat různými mechanismy, včetně kovalentní vazby, π - π interakce, elektrostatická interakce, van der Waalsovy síly a další. Interakce mezi organickou hmotou a veterinárními antibiotiky je do značné míry

ovlivněna hodnotou pH a také ionizačním stavem daného antibiotika. Organická hmota může také tvořit komplexy s danými antibiotiky, která se mohou sorbovat na povrchu půdy. Dalším způsobem, jak může organická hmota snížit mobilitu léčiv, je obsazování aktivních míst na půdní matrici a tím tak poskytnout další sorpční místa. Organická hmota může mít i opačné účinky na sorpci antibiotik do půdy. Bylo dokázáno, že v některých případech dochází ke snížení sorpčního koeficientu pro některá veterinární antibiotika. Antibiotika se tak naváží na povrch vyvoláním maskovacího efektu, který je odpuzuje nebo desorbuje [22].



Obrázek 5: Sorpce sulfapyridinu (SPY) a sulfamethoxazolu (SMZ) na půdní organickou hmotu [17]

Jak již bylo zmíněno, aplikací stabilizovaných čistírenských kalů nebo kejdy na zemědělskou půdu, lze považovat za hlavní zdroj kontaminace prostředí veterinárními antibiotiky. Tato skutečnost může zvýšit výskyt genů rezistentních na antibiotika v půdě. Vnější rozpuštěná organická hmota může být zaváděna do zemědělské půdy spolu s antibiotiky, což má významný vliv na jejich transport prostřednictvím hydrologických procesů po dešti. Právě navázaná organická hmota může buď vyluhování veterinárního antibiotika zesílit nebo snížit, v závislosti na povaze, mobilitě a interakcích antibiotik s organickou hmotou [22].

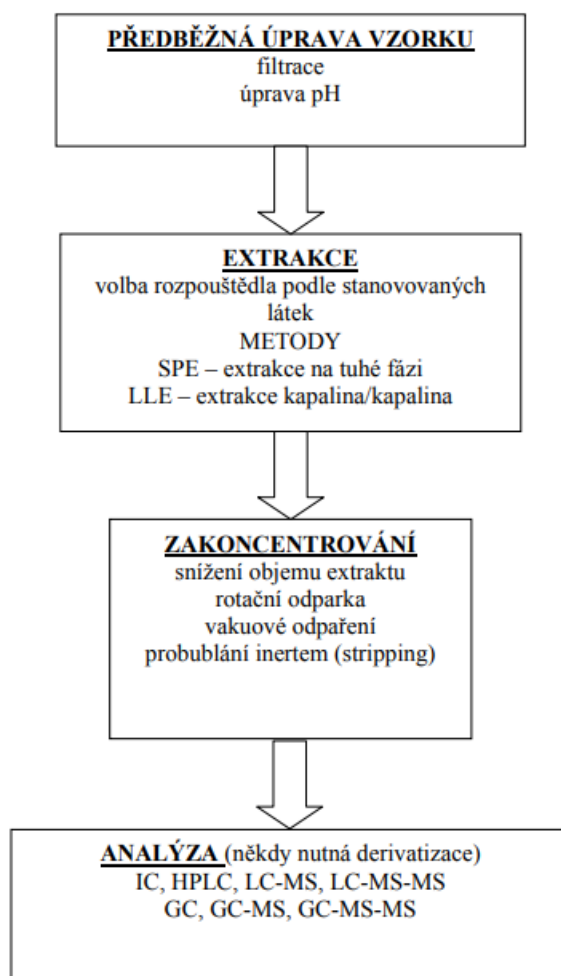
2.4.2 Biodegradace

Pokud jsou léčiva přítomná v rozpuštěné fázi, například v čističkách odpadních vod, považuje se biodegradace za nejdůležitější eliminační proces [23]. Názory výzkumníků na biologickou rozložitelnost sulfonamidů se liší. Příčinou můžou být rozdíly v mikrobiální aktivitě dané matrice, použitého inokula nebo použité metody k posouzení degradace sulfonamidů. Z provedených testů bylo zjištěno, že většina sulfonamidů nepodléhá přirozené biodegradaci.

V některých případech docházelo k začlenění sulfonamidů do mikroorganismů, nebo podlely reverzibilní transformací, jako je acetylace. Vymizení sulfonamidů v půdě může být důsledkem jejich vazby na organické nebo minerální částice, případně vlivem fotochemických procesů [14].

2.5 Izolace a detekce léčiv

V poslední době získala léčiva významnou pozornost v oblasti životního prostředí, kvůli jejich detekci například v povrchové a podzemní vodě, půdě a usazeninách. Proto musejí být vyvinuty spolehlivé metody, které by měřily koncentraci léčiv jak ve vodních, tak i pevných matricích. Pokud máme pevnou matici, ať už půdu nebo sediment, používala se Soxhletova extrakční metoda. Problémem u této metody je časová náročnost, ale také použití nebezpečných organických činidel. Z tohoto důvodu byla později tato metoda nahrazena extrakcí tlakovou kapalinou (PLE) za použití puřovacího roztoku. Obecně se používají dvě metody extrakce: extrakce kapalina-kapalin (LLE) a extrakce na pevné fázi (SPE). Na následujícím schématu jsou shrnuty možné analýzy léčiv v odpadních vodách [24].



Obrázek 6: Schéma analýzy vodných vzorků [12]

2.5.1 Metody pro stanovení léčiv

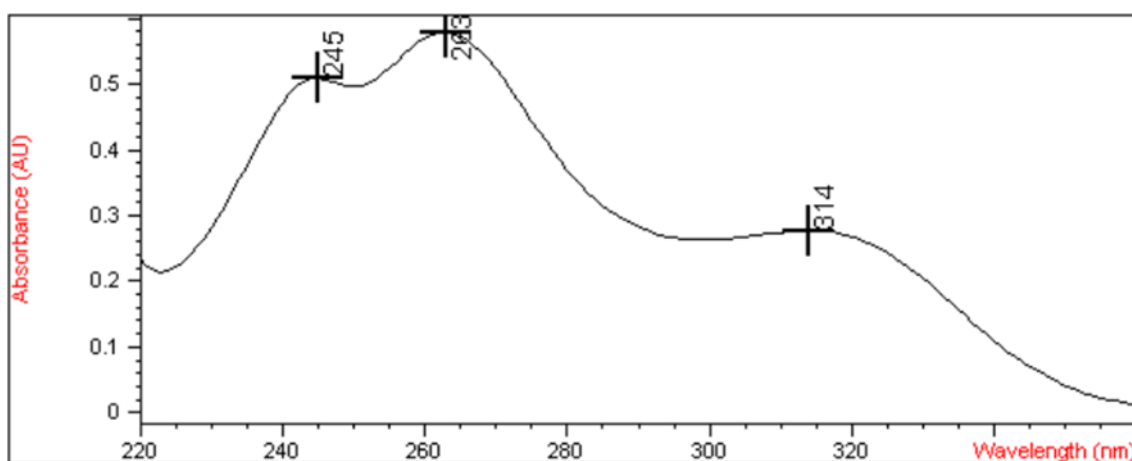
Nejvýhodnějšími technikami, které se používají k detekci léčiva ve vzorku i při nízkých koncentracích jsou plynová chromatografie (GC), kapalinová chromatografie (LC) v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (MS), případně tandemová hmotnostní spektrometrie (MS^2) [24].

Použití techniky LC–MS je výhodné z toho důvodu, že většina léčiv jsou vysoce polární látky, které mají funkční skupiny schopné ionizace. Při analýze je důležité nastavení přístroje a složení mobilní fáze, které ovlivňuje kvalitu separace. Pomocí této metody lze analyzovat pouze netěkavé látky. Další nevýhodou LC–MS metod je, že dochází k interferenci signálů v hmotnostním spektru. Výsledné píky jsou tak navrstveny na sebe a špatně se identifikují. V případě použití LC–MS–MS sice nedochází k navrstvení píků, ale nemáme knihovnu spekter neznámých látek [24].

Nevýhodou techniky GC–MS je časová náročnost. Dále tato technika vyžaduje práci navíc, která nám může způsobit i poškození vzorku. Výhodou u těchto metod je ale práce při atmosférickém tlaku [24].

Další metoda určená pro stanovení léčiv v životním prostředí je LC–TOF–MS. Tato metoda nahrazuje nedostatky předešlých technik a je často používána ve spojení s LC–MS–MS. Výhodou této techniky je její přesnost měření hmotnosti a identifikace přítomných fragmentů [25].

Další možností stanovení léčiv je použití UV–VIS. Tato metoda je založená na výměně energie mezi látkou a elektromagnetickým zařízením. Detekujeme absorbanci, z jejíž hodnoty můžeme pak určit výslednou koncentraci léčiva. V průběhu měření dochází k ozáření vzorku monochromatickým zářením, které nám vyvolá excitaci elektronů a deexcitaci. V této metodě se pohybujeme v oblasti od 200 nm do 800 nm, tedy jak ve viditelné i v UV oblasti [26]. Na Obrázku 7 je znázorněné spektrum sulfapyridinu [20].



Obrázek 7: Spektrum sulfapyridinu [20]

2.6 Difúze

Procesem difúze rozumíme samovolný děj, kdy dochází k pohybu částic rozpuštěné látky u oblasti s vysokou koncentrací do oblasti s nízkou koncentrací. To má za následek rovnoměrnou distribuci částic rozpuštěné látky v rozpouštědle. K tomu, aby molekuly mohly reagovat, musí dojít k jejich srážkám. Dynamika difúze je založena na transportu, ve směru koncentračního spádu. Když se koncentrace vyrovnají, zmizí tedy koncentrační spád, dojde k zastavení makroskopického transportu [27,28].

2.6.1 První Fickův zákon

První Fickův zákon je definovaný pomocí difúzního toku J , který nám udává množství látky, které projde za jednotku času jednotkovou plochou. Tento tok je přímo úměrný zápornému gradientu koncentrace a to proto, že látka difunduje ve směru klesající koncentrace [28].

$$J = -D \cdot \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

Konstantou úměrnosti je v této rovnici difúzní koeficient D . Difúzní koeficient nám udává schopnost konkrétní látky difundovat v konkrétním prostředí [28].

2.6.2 Druhý Fickův zákon

Protože dochází ke snižování gradientu během difúze, znamená to, že koncentrace nezávisí jen na prostorové souřadnici, ale taky na čase. Proto se k prvnímu Fickovu zákonu musí přidat podmínka hmotné bilance. Tato podmínka nám říká, že látka mění svoje rozložení v prostoru a v čase, její množství se ale zachovává. Uplatněním podmínky tak získáme diferenciální rovnici druhého Fickova zákona [28].

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2)$$

kde c je koncentrace difundující látky v čase t a poloze x [28].

Druhý Fickův zákon uplatňujeme při neustálené difúzi. Pokud je dodržena podmínka, že v čase $t = 0$, difúzní látka je nanesena rovinně $x = 0$ a dochází k šíření do prostoru pro $t > 0$, získáme vztah [29]:

$$c = \frac{m}{\sqrt{\pi \cdot D \cdot t}} \exp\left(-\frac{x^2}{4 \cdot D \cdot t}\right) \quad (3)$$

Pokud tento vztah zlogaritmujeme, získáme konečný vzorec, ze kterého lze jednodušeji určit difúzní koeficient [29]:

$$\ln c = \ln \frac{m}{\sqrt{\pi \cdot D \cdot t}} - \frac{x^2}{4 \cdot D \cdot t} \quad (4)$$

Když nám difundující látka v průběhu difúze nějak chemicky interaguje s jinou látkou, ať už je to například s huminovými kyselinami, považujeme stanovený difúzní koeficient za tzv. efektivní (D_{eff}). Tento koeficient v sobě zahrnuje nejen strukturu prostředí, ve kterém částice difundují, ale také jejich interakce s okolní maticí [30].

2.7 Současný stav řešené problematiky

Problematicke výskytu léčiv v životním prostředí se větší pozornost začala věnovat teprve nedávno. Je to způsobeno jejich detekcí nejenom v povrchových a podzemních vodách, ale i v půdě a usazeninách. Na základě provedených studií, jsme schopni nejenom stanovit jejich množství v příslušných maticích, ale i popsat jejich interakci například s půdní organickou hmotou.

V článku [31] autoři studovali sorpční koeficienty léčiv na huminové kyseliny, včetně sulfonamidových antibiotik. Pro studování byly zvoleny čtyři druhy půdy a u všech druhů byla stanovena nízká hodnota sorpčních koeficientů. Proto se u těchto látek očekává vysoká mobilita s vysokým potenciálem kontaminovat životní prostředí. Dále bylo zjištěno, že při přirozeném pH půdy jsou molekuly sulfonamidů v neutrální formě, sorpční procesy jsou tedy řízeny slabými hydrofobními silami a jejich retence v půdě je nižší [31].

V dalším článku [17] autoři zkoumali sorpci sulfapyridinu a sulfamethoxazolu na dvou sorbentech bohatých na organické látky: komerční rašelinová půda a kompostovaný hnůj. Z provedených měření zjistili, že u těchto sulfonamidových antibiotik převládá především hydrofobní mechanismus sorpce. Dále prokázali, že přítomnost pyridinové skupiny ve struktuře sulfapyridinu je zodpovědná za sorpci při vysoké hodnotě pH. V dalším pokusu sledovali vliv rozpuštěného kyslíku, kde zjistili, že malé organické molekuly, které jsou podobné fulvinovým kyselinám, mají vyšší afinitu k sorpci sulfonamidů. Tato studie tak prokázala, že chemická struktura a vlastnosti antibiotik a chemická povaha organických látek v půdě výrazně ovlivňuje osud a transport sulfonamidových antibiotik v životním prostředí [17].

V článku [32] autoři zkoumali vliv rozpuštěné organické hmoty na sorpci sulfapyridinu v půdě. Sulfapyridin zvolili proto, že je to jeden z nejčastěji detekovaných sulfonamidů v životním prostředí. Dále také vykazuje relativně vysokou hodnotu pK_a , která může pomoci při objasnění sorpčního chování polárních neionizovaných organických polutantů v půdě. Při provádění experimentu zavedli rozpuštěnou organickou hmotu do půdy s nízkým obsahem suspendované organické hmoty. V takto připravených půdách zkoumali sorpční chování. Jejich hypotézou bylo, že množství rozpuštěné organické hmoty, její složení a způsob aplikace do půdy ovlivní sorpci sulfapyridinu. Z provedených pokusů zjistili, že rozpuštěná organická hmota může představovat v některých případech konkurenci při sorpci sulfapyridinu a tak napomáhat i jeho následné desorpci [32].

Při zkoumání [21] difúzního koeficientu pro různá léčiva, autoři použili difuzní gradienty v tenkých filmech pro organické látky. Jejich cílem otestovat tuto metodu, vzhledem k její schopnosti kvantitativně měřit koncentraci i stopových organických kontaminantů. Z naměřených hodnot byli schopni vypočítat difuzní koeficienty pro jednotlivá léčiva. Pro sulfapyridin autoři článku stanovili difuzní koeficient na hodnotu $4,75 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. Znalost difuzních koeficientu pro léčiva hraje klíčovou roli při výpočtech vodných koncentracích [21].

3 PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Bylo pracováno s následujícími chemikáliemi:

- Sulfapyridin, SIGMA – ALDRICH S 6252 – 25G
- Půda
- Destilovaná voda
- Kohoutková voda
- Chlorid hořečnatý hexahydrát, PENTA

3.2 Použité přístroje

Byly používány následující přístroje a pomůcky:

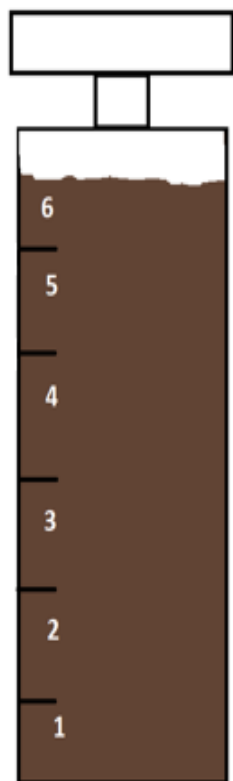
- Běžné laboratorní vybavení
- Analytické váhy, SCALTECH SBC 31
- Filtry na stříkačky, nylon 0,45 μm
- UV-VIS spektrometr, HITACHI U-3900H
- Varian Cary 50 UV-VIS spektrometr
- EURO VECTOR EA 3000
- FT-IR spektrometr, NICOLET iS50

3.3 Charakteristika půdy

3.3.1 Postup práce

Pro tento experiment byly použity tři 150 ml stříkačky, od kterých bylo odříznuto dno. Takto upravené stříkačky byly umístěny do půdy, přibližně po rysku 130 ml. První stříkačka byla odebrána po jednom dni, druhá po třech dnech a třetí stříkačka byla odebrána po sedmnácti dnech. Každá stříkačka byla po odebrání rozdělena na šest dílů po přibližně 20 ml. Obrázek stříkačky a čísla jednotlivých vrstev půdy je uveden na obrázku níže. Půda byla zbavena větších nečistot a nechána vysušit při laboratorní teplotě. Následně byla rozdrovena na jemný prášek v hmoždíři.

Poté se z každé stříkačky a každé vrstvy část půdy odebrala pro provedení TGA, EA a FT-IR.



Obrázek 8: Půdní sloupec s čísly jednotlivých vrstev

3.3.2 TGA

Pro termickou analýzu byly jednotlivé vzorky půdy naváženy do platinových mistichek. Vzorky se spalovaly od laboratorní teploty do 900 °C s krokem 10 °C za minutu. V průběhu měření se zaznamenával úbytek hmotnosti a teplota. Z naměřených hodnot se určila vzdušná vlhkost a organický podíl v jednotlivých vzorcích.

Někdy termogravimetrická křivka obsahuje více překrývajících se reakcí, jejichž vyhodnocení je obtížné a nepřesné. Pokud se vynese derivace hmotnosti, lze z jejích lokálních extrémů separovat jednotlivé reakce.

3.3.3 EA

Pro elementární analýzu byly použity stejné vzorky jako pro termickou analýzu. Při analýze se jednotlivé prvky stanovují následujícím způsobem: dusík jako NO_x , uhlík jako CO_2 , vodík jako vzdušná vlhkost a síra jako SO_2 . Obsah kyslíku byl stanoven jako rozdíl mezi hodnotou obsahem organické hmoty, která byla získána pomocí termické analýzy a sumou obsahu dusíku, vodíku a uhlíku. Protože z hodnot nedokážeme určit obsah síry, je v obsahu kyslíku zastoupeno i malé množství síry.

Před samotným měřením byly jednotlivé vzorky půdy zabaleny do obalu z cínu.



Obrázek 9: Zabalené vzorky

3.3.4 FT-IR

Dále byla použita infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací. Metoda se používá pro měření infračervených spekter a vyžaduje minimální přípravu vzorku. Pomocí této metody byly proměřeny stejné vzorky jako při termogravimetrické a elementární analýze. Měření probíhalo ve spektrálním rozsahu $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Ze změřených spekter bylo pozorováno několik společných znaků, ale také rozdíly.

3.4 Příprava roztoků

3.4.1 Příprava roztoku chloridu hořečnatého

Na analytických vahách bylo naváženo 203,2890 g hexahydrátu chloridu hořečnatého. Navážka byla rozpuštěna v 1 litru destilované vody. Takto připravený roztok měl koncentraci 1 mol/l a byl použit při měření kalibrační křivky a louhování půdy.

3.4.2 Příprava roztoku sulfapyridinu

Na analytických vahách bylo naváženo 0,1246 g sulfapyridinu. Navážka byla rozpuštěna v 0,5 litru destilované vody. Z důvodu nízké rozpustnosti sulfapyridinu, byl zásobní roztok zahříván za stálého míchání, dokud se veškerá navážka nerozpustila. Vzniklý zásobní roztok sulfapyridinu měl koncentraci 1 mmol/l.

Ze zásobního roztoku byly připraveny roztoky pro tři kalibrační křivky. Koncentrace roztoků byly zvoleny na 0,1; 0,05; 0,025; 0,02 a 0,01 mmol/l. Pomocí pipety byly ze zásobního roztoku jednotlivé objemy odpipetovány do odměrných baněk. Každých pět odměrných baněk o různé koncentraci, bylo doplněno destilovanou vodou, kohoutkovou vodou a roztokem chloridu hořečnatého na objem 50 ml.

Takto připravené roztoky byly proměřeny na UV–VIS spektrometru v rozmezí. Z naměřených hodnot byly sestaveny kalibrační křivky pro dané roztoky.

3.5 První sada vzorků

3.5.1 Postup práce

Půdní sloupec byl vytvořen stejným způsobem, jako v kapitole 3.3.1. Jedenáct stříkaček bylo umístěno do půdy a zapsán čas umístění. V první sadě byl do deseti stříkaček umístěn pomocí pinzety vystřížený filtrační papír, namočený v zásobním roztoku léčiva o koncentraci 1 mmol/l. Jedenáctá stříkačka sloužila jako blank. Každá stříkačka byla zakryta parafilmem.



Obrázek 10: Stříkačky umístěné v půdě

Zbylé filtrační papíry namočené v roztoku léčiva, byly louhovány 48 hodin v destilované vodě, kohoutkové vodě a roztoku chloridu hořečnatého. Poté byly výluhy proměřeny na UV–VIS spektrometru a vypočten obsah léčiva ve filtračním papíru.

Jednotlivé stříkačky byly postupně odebírány v různých časech. Jedenáctá stříkačka, která sloužila jako blank, byla odebrána s poslední umístěnou stříkačkou, přibližně po 17 dnech. Každá stříkačka byla rozdělena a zpracována jako v kapitole 3.3.1. Na analytických vahách bylo třikrát naváženo přibližně pět gramů rozdělené půdy z každé vrstvy do plastových lahvíček. Takto navážená půda z každé vrstvy, byla louhována v 25 ml destilované vody, kohoutkové vody a roztoku chloridu hořečnatého nejméně 48 hodin. Vzniklé výluhy byly pomocí stříkačkového filtru přefiltrovány a proměřeny na UV–VIS spektrometru. Ze získané absorbance bylo pomocí kalibračních křivek vypočítán obsah léčiva v dané vrstvě.

3.6 Druhá sada vzorků

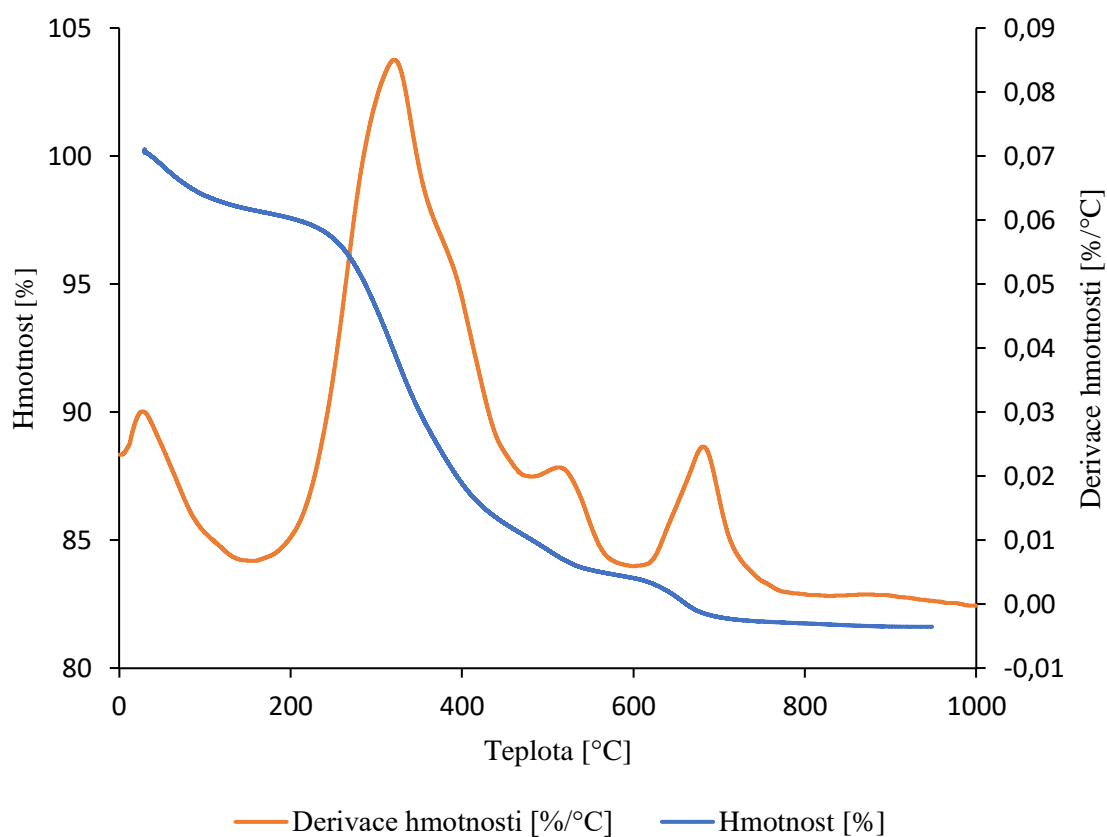
3.6.1 Postup práce

V druhé sadě vzorků se postupovalo obdobným způsobem, jako v první. Rozdílem bylo, že místo namočených filtračních papírů, bylo do stříkačky nalito 20 ml zásobního roztoku léčiva o koncentraci 1 mmol/l. Dále se postupovalo stejným způsobem jako v kapitole 3.5.1. Výluhy se měřily od osmé stříkačky na přístroji Varian Cary (UV–VIS), z důvodu nefunkčního UV–VIS spektrometru HITACHI U–3900H.

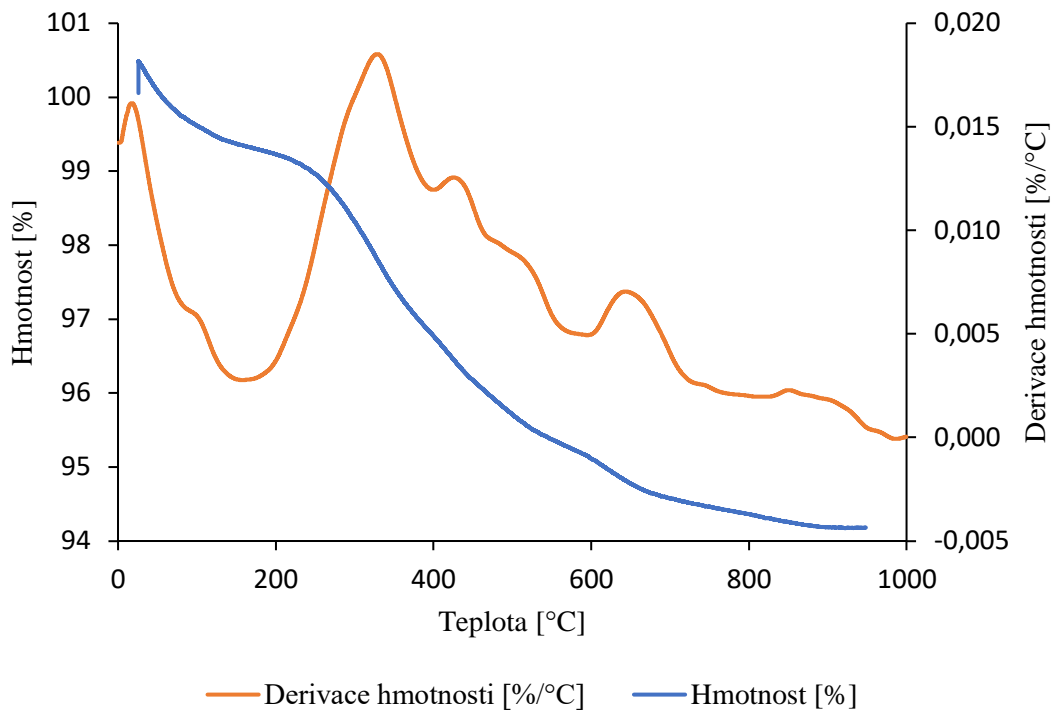
4 VÝSLEDKY

4.1.1 TGA

U Grafu 1 a Grafu 2 můžeme pozorovat, že k úbytku hmotnosti docházelo už při laboratorní teplotě. To může být způsobeno nedostatečným dosušením půdy, proto začátek reakce nastával přibližně při 180 °C a končil při 750 °C. Graf 1 obsahuje tři lokální extrémy a Graf 2 přibližně pět lokálních extrémů. Z toho vyplývá, že v první vrstvě probíhá více rozkladných reakcí, než v šesté vrstvě, proto je v první vrstvě pozorován větší úbytek hmotnosti, než u šesté vrstvy. To je způsobeno obsahem organického podílu, který nelze spálit. Šestá vrstva půdy, která se nacházela nahoře, obsahuje tedy více organické podílu než vrstva první.

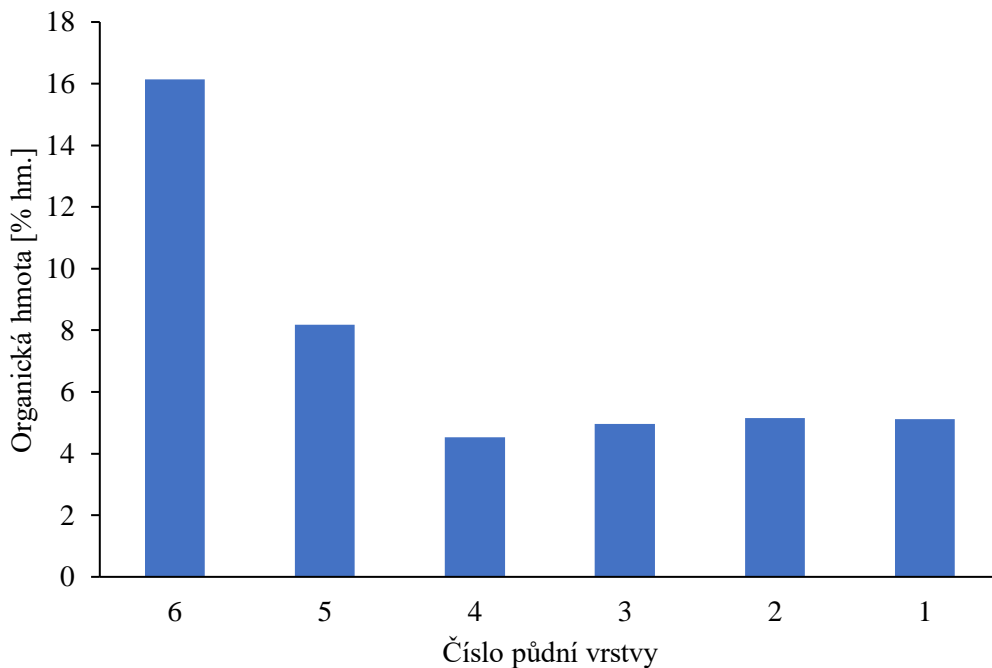


Graf 1: TGA šesté vrstvy



Graf 2: TGA první vrstvy

Na sloupcovém Grafu 3, který je pouze pro první stříkačku, si můžeme potvrdit, že čím hlouběji se vrstva v půdě nachází, tím obsah organické hmoty klesá. Nejmenší obsah organické hmoty je ve vrstvě číslo 4.



Graf 3: Obsah organického podílu jednotlivých vrstev v první stříkačce

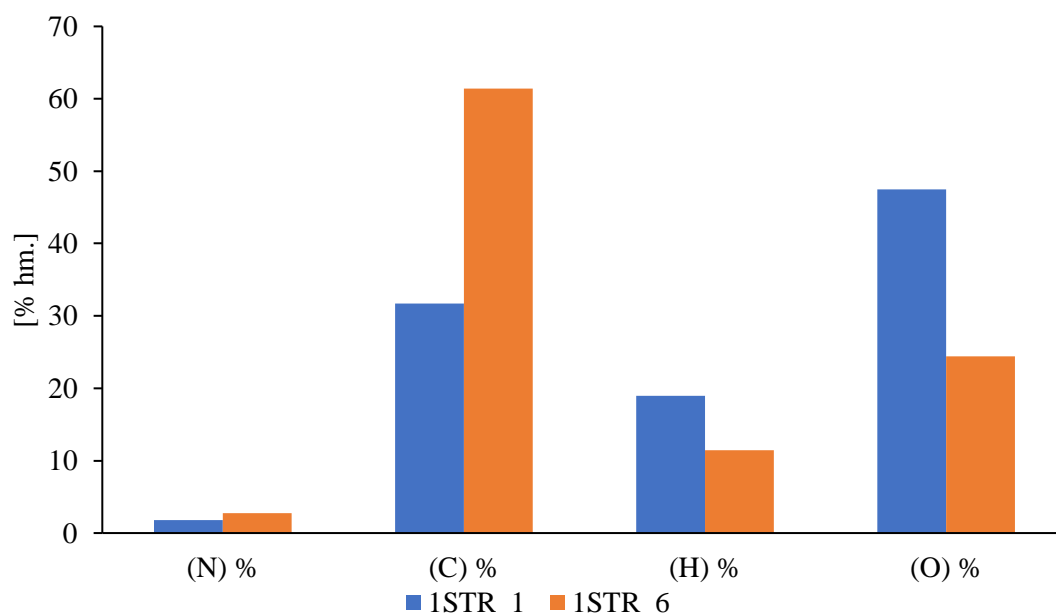
Z naměřených a vypočtených hodnot pro jednotlivé stříkačky, byly vypočteny průměrné hodnoty pro jednotlivé vrstvy i s odchylkami. Průměrné hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2: TGA průměrné hodnoty

					vztaženo na suchou hmotu		
	vlhkost (% hm.)	spalitelný podíl (% hm.)	organika (% hm.)	popel (% hm.)	popel (% hm.)	organika (% hm.)	suchý
6	1,973	16,249	14,276	83,984	85,458	14,248	98,260
±	0,404	3,175	2,791	3,456	2,928	2,819	0,665
5	1,829	14,642	12,814	85,504	86,947	12,786	98,318
±	0,738	6,361	5,624	6,129	5,796	5,579	0,515
4	1,040	7,813	6,773	92,360	93,168	6,758	99,133
±	0,252	2,539	2,307	2,328	2,324	2,285	0,251
3	1,077	6,861	5,784	93,315	94,162	5,774	99,099
±	0,333	1,063	0,730	1,054	0,754	0,728	0,390
2	1,154	6,424	5,271	93,770	94,678	5,261	99,040
±	0,126	0,235	0,185	0,390	0,197	0,194	0,226
1	0,965	6,564	5,599	93,591	94,355	5,590	99,189
±	0,191	0,709	0,558	0,777	0,575	0,562	0,229

4.1.2 EA

V Grafu 4 jsou zaznamenány v hmotnostních procentech jednotlivé prvky pro šestou a první vrstvu u první stříkačky. Šestá vrstva obsahuje nejvíce uhlíku, poté kyslíku, vodíku a nejméně dusíku. První (nejhlubší) vrstva obsahuje nejvíce kyslíku, poté uhlíku, vodíku a nakonec dusíku.



Graf 4: Zastoupení jednotlivých prvků v první a šesté vrstvě

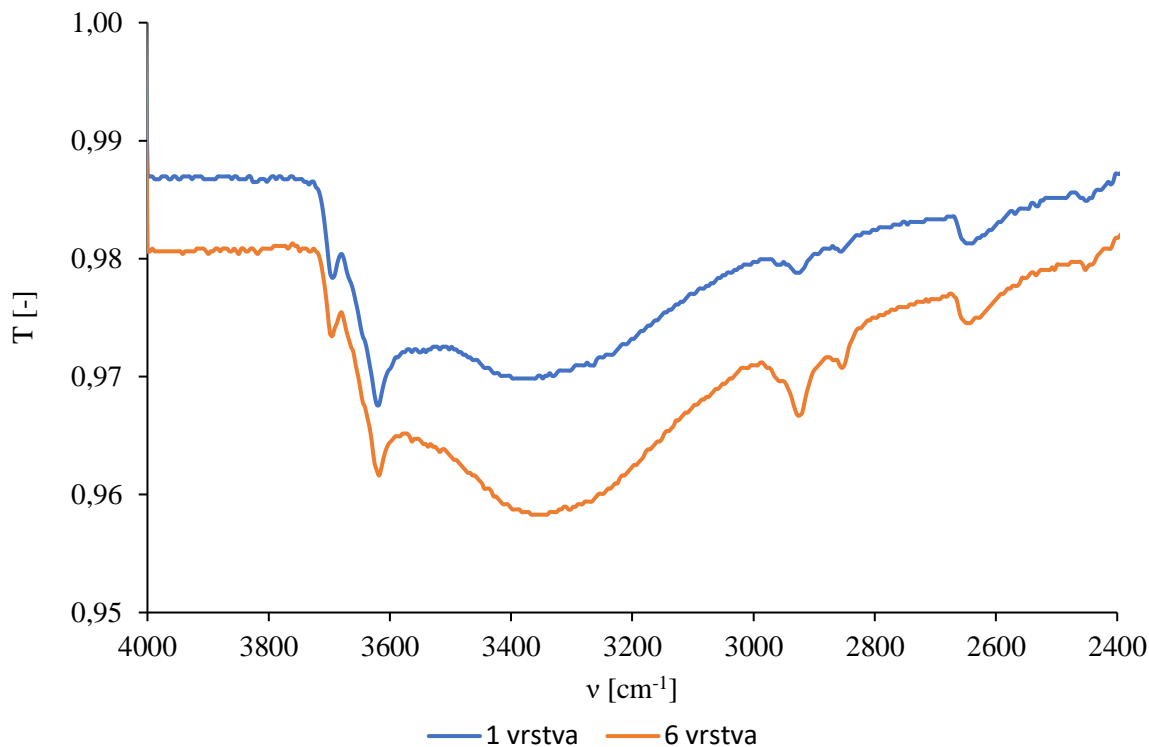
V následující tabulce jsou zaznamenány vypočtené průměrné hodnoty ze tří stříkaček pro jednotlivé vrstvy i s odchylkami. Z průměrných hodnot vyplývá, že nejvíce zastoupeným prvkem v jednotlivých vrstvách je kyslík, tedy kromě šesté vrstvy. Pak následuje uhlík, který je v šesté vrstvě zastoupen nejvíce. Za ním následuje vodík, jehož je nejméně v páté vrstvě. Nejméně zastoupeným prvkem je dusík, jehož obsah se pohybuje mezi 1–3 % hm.

Tabulka 3: Zastoupení prvků v % hm. pro jednotlivé vrstvy

	(N) %	(C) %	(H) %	(O) %
1	1,774	31,595	18,011	48,620
±	0,076	2,267	1,595	1,347
2	1,920	32,508	18,317	47,255
±	0,227	2,761	0,666	3,155
3	2,026	36,121	18,105	43,748
±	0,159	3,666	1,970	5,174
4	1,939	35,907	16,033	46,121
±	0,507	3,586	4,658	8,585
5	2,280	40,118	12,002	45,600
±	0,539	7,580	3,089	11,109
6	3,127	64,426	16,527	20,399
±	0,511	9,573	4,863	5,997

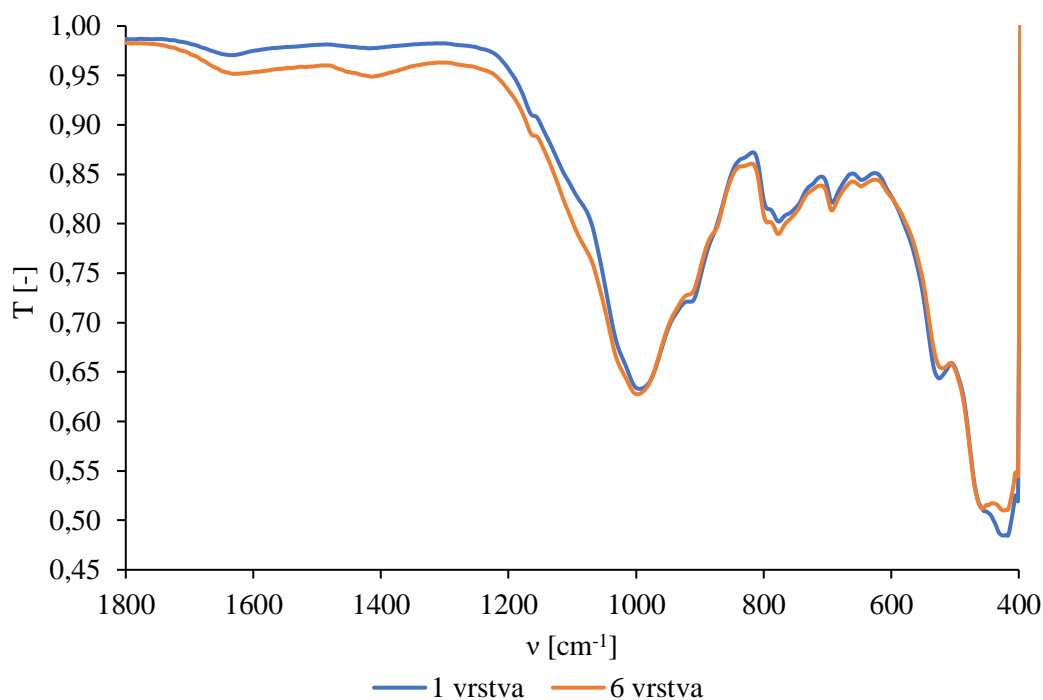
4.1.3 FT–IR spektroskopie

Na Grafu 5 je znázorněná část spektra o vlnočtu 4000–2400 cm⁻¹ pro první stříkačku. Pro přehlednost je zde pouze šestá a první vrstva. Společným znakem byl široký pás přibližně se středem při 3300 cm⁻¹. Tento pás je přisuzován roztažení vazby O–H různých funkčních skupin, nebo napínání vazby N–H. Při vlnočtu v rozmezí 3000–2800 cm⁻¹ můžeme pozorovat, že u šesté vrstvy dochází k vibracím alifatických vazeb C–H ve skupinách CH₂. U první vrstvy nejsou píky tak intenzivní. Další rameno, se střed přibližně při vlnočtu 2630 cm⁻¹ znázorňuje roztahování C=O v karboxylových skupinách.



Graf 5: Část FT-IR spektra při vlnočtu 4000-2400 cm^{-1}

Na Grafu 6 je znázorněná část spektra pro šestou a první vrstvu první stříkačky o vlnočtu v rozmezí 1800-400 cm^{-1} . Charakteristický pás o slabé intenzitě se středem při vlnočtu 1620 cm^{-1} můžeme přiřadit deformacím $-\text{NH}_2$ ve skupině $-\text{CO}-\text{NH}_2$. K tomuto pásu můžeme přiřadit i doprovodný pás při 1420 cm^{-1} . Oba tyto pásy jsou intenzivnější pro šestou vrstvu. Další intenzivní pík se středem při 990 cm^{-1} lze připisovat mimorovinným deformacím CH ve skupinách $-\text{CH}=\text{CH}_2$. Odpovídalo by tomu i rameno při 910 cm^{-1} . Další deformační pásy C-H mimo rovinu byly nalezeny v oblasti 820–760 cm^{-1} . Tyto skupiny se nacházejí především na aromátech. Tomu odpovídá i pík při 690 cm^{-1} .

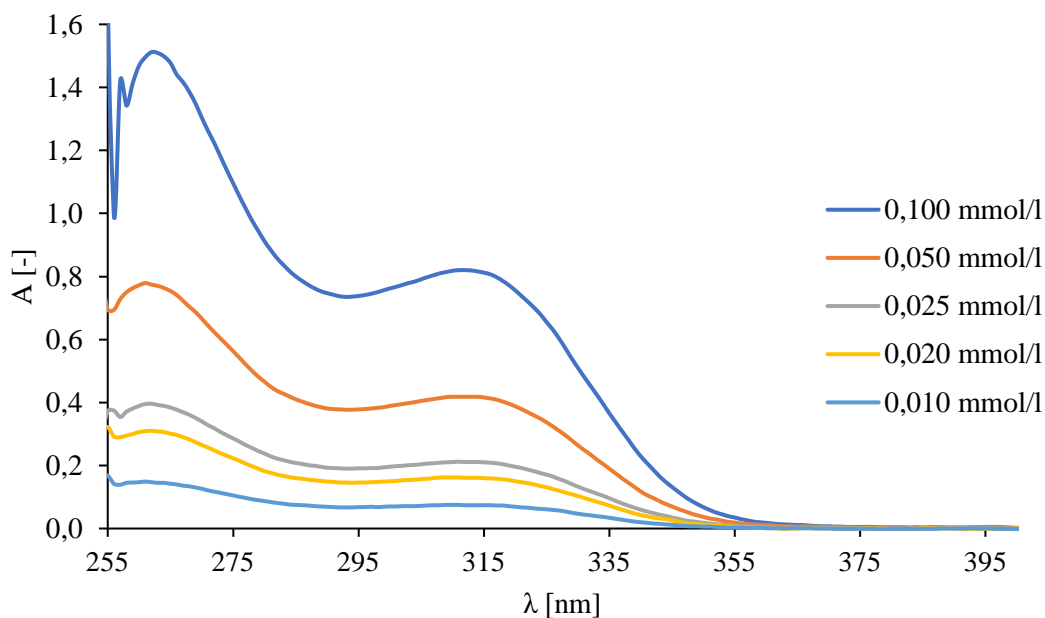


Graf 6: Část FT-IR spektra při vlnočtu 1800-400 cm^{-1}

4.2 UV–VIS spektrometrie

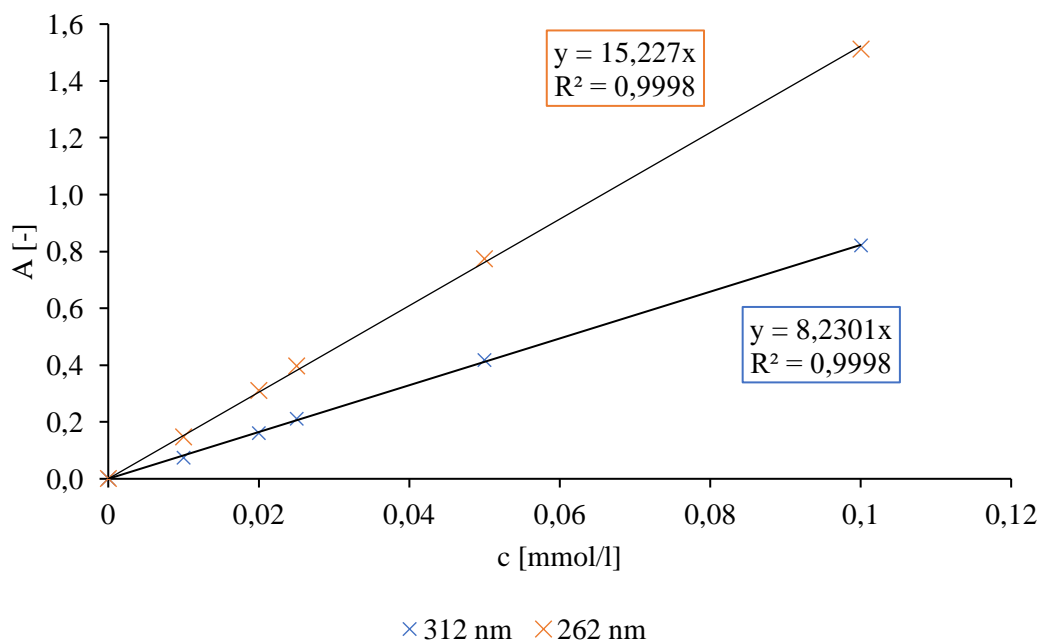
Pro analýzu všech vzorků byla použita metoda UV–VIS spektrometrie v rozsahu 200 až 800 nm. Nejdříve se proměřily kalibrační roztoky. Bylo zjištěno, že sulfapyridinu absorbuje nejvíce při 312 nm a 262 nm. Z vybraných absorbancí byly sestaveny jednotlivé kalibrační křivky pro daná louhovací činidla.

Nejdříve byla provedena analýza jednotlivých roztoků, které byly určeny pro sestavení kalibračních křivek. Na Grafu 7 je zaznamenáno absorpční spektrum sulfapyridinu. Bylo zjištěno, že sulfapyridinu absorbuje nejlépe při 262 nm a 312 nm. Z důvodu použití kyvety do 250 nm nebylo počítáno se třetím absorpčním maximem.



Graf 7: Absorpční spektrum sulfapyridinu

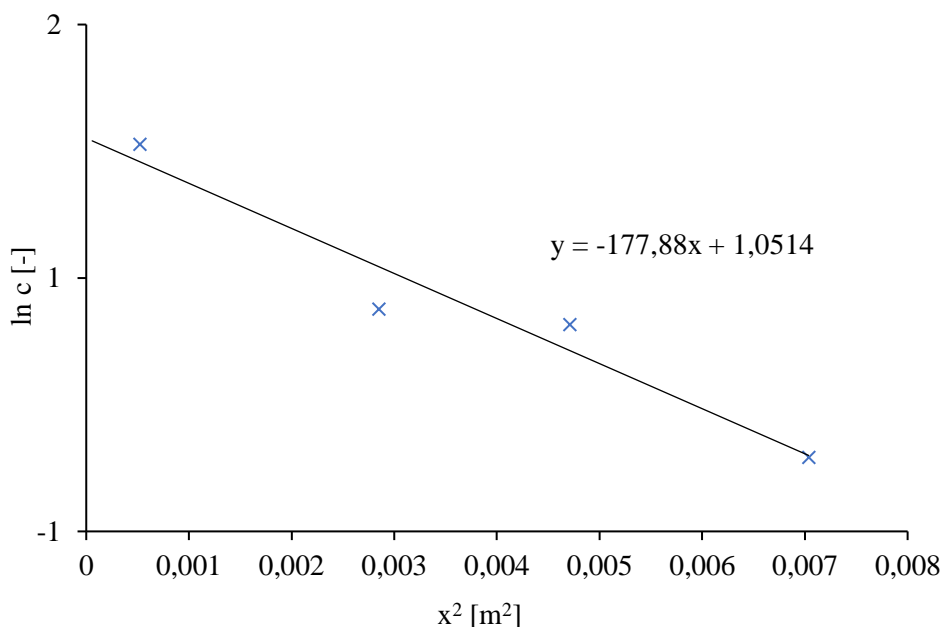
Po proměření všech kalibračních řad, byly sestaveny jednotlivé kalibrační křivky pro destilovanou vodu, kohoutkovou vodu a roztok chloridu hořečnatého. Na Grafu 8 jsou znázorněny kalibrační křivky pro destilovanou vodu. Zbylé kalibrační křivky jsou uvedeny v příloze.



Graf 8: Kalibrační křivky pro destilovanou vodu

4.2.1 Výsledky z první sady vzorků

Difúzní koeficienty pro sulfapyridinu byly vypočítány pomocí vzorce (4). Vynesáním závislosti $\ln c$ na x^2 můžeme ze směrnice určit difúzní koeficient. Na Grafu 9 je závislost pro pátou stříkačku při 262 nm, která byla louhována pomocí zásobního roztoku chloridu hořečnatého.



Graf 9: Závislost $\ln c$ na x^2 pro pátou stříkačku

Průměrné hodnoty efektivních difúzních koeficientů pro jednotlivé louhující roztoky jsou uvedena v Tabulce 4.

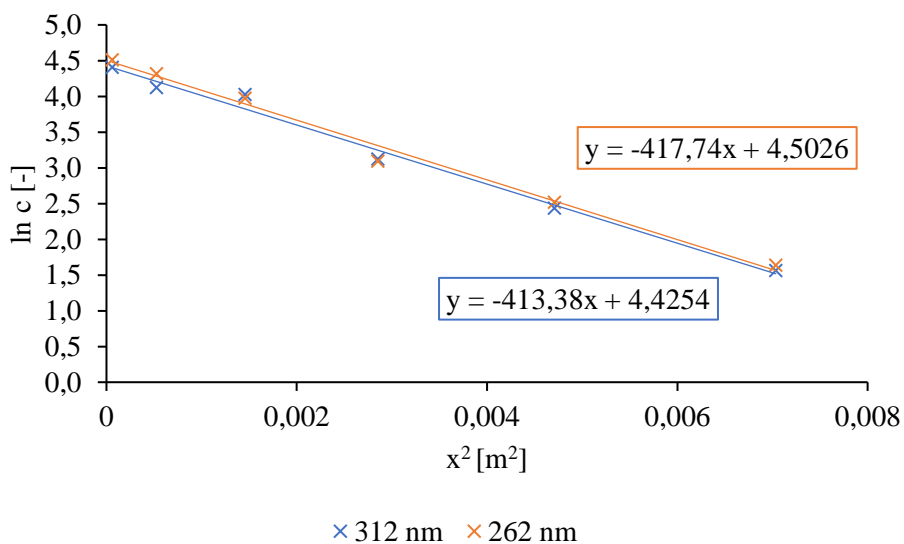
Tabulka 4: Průměrné hodnoty efektivních difúzních koeficientu pro první sadu

	D_{eff} [m ² /s]
Destilovaná voda	$3,52 \cdot 10^{-10}$
Kohoutková voda	$3,47 \cdot 10^{-10}$
Roztok chloridu hořečnatého (1M)	$4,35 \cdot 10^{-10}$

Hodnoty efektivních difúzních koeficientů byly nižší, než který uváděli autoři článku [21]. To mohlo být způsobeno nízkou koncentrací sulfapyridinu na filtračním papíru. Odchyly činily přibližně 10 %. Nejbližší hodnota difúzního koeficientu vyšla pro louhovací roztok chloridu hořečnatého.

4.2.2 Výsledky z druhé sady vzorků

Efektivní difúzní koeficienty pro sulfapyridin byly vypočteny stejným způsobem, jako pro první sadu. Na Grafu 10 je uvedena závislost pro osmou stříkačku, která byla louhována pomocí destilované vody.



Graf 10: Závislost $\ln c$ na x^2 pro osmou stříkačku

Průměrné efektivní difúzní koeficienty pro jednotlivé louhující roztoky jsou uvedeny v Tabulce 5.

Tabulka 5: Průměrné hodnoty efektivních difúzních koeficientů

	D_{eff} [m ² /s]
Destilovaná voda	$4,23 \cdot 10^{-10}$
Kohoutková voda	$4,39 \cdot 10^{-10}$
Roztok chloridu hořečnatého (1M)	$5,59 \cdot 10^{-10}$

Odchylka u vypočtených efektivních difúzních koeficientu činila přibližně 10 %. To mohlo být způsobeno nalitím roztoku léčiva do půdního sloupce. V porovnání s difúzním koeficientem, který je uveden v článku [21], byly hodnoty bližší, než v první sadě vzorků.

5 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo zmapovat transport sulfapyridinu v půdním sloupci. Sulfapyridin patří mezi sulfonamidová antibiotika, která se do životního prostředí často dostávají. Půda však obsahuje půdní organickou hmotu, která dokáže léčivu díky sorpci zabránit v další migraci.

Transport léčiva byl proveden dvěma způsoby. V prvním případě, se roztok léčiva uvolňoval do půdy z filtračního papíru a v druhém případě, byl do půdního sloupce nalit samotný roztok sulfapyridinu. K vyhodnocení byla použita metoda UV–VIS spektrometrie. Jako louhovací roztoky sloužily destilovaná voda, kohoutková voda a roztok chloridu hořečnatého. Z naměřených absorbcí byly pomocí kalibračních křivek vypočteny koncentrace v jednotlivých půdních vrstvách. Nejvyšší koncentrace sulfapyridinu byly v louhovacím roztoku chloridu hořečnatém. To je způsobeno tím, že chlorid hořečnatý dokáže vyvézt léčivo z povrchu půdy a navázat se místo něho.

Následně byl z naměřených hodnot vypočten efektivní difúzní koeficient pro jednotlivé louhující roztoky a porovnán s difúzním koeficientem uvedeným v článku [21].

6 SEZNAM POUŽITÉ LITARATURY

- [1] VRBA, Vladimír a Ludvík HULEŠ. Humus - půda - rostlina (2) Humus a půda: Biom.cz [online]. 2006-11-14 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/humus-puda-rostlina-2-humus-a-puda>
- [2] Envi produkt: vysoce účinné přípravky do zemědělství: *Huminové kyseliny* [online]. 2018 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.enviprodukt.cz/clanek/huminove-kyseliny#:~:text=Huminov%C3%A9%20kyseliny%20jsou%20selektivn%C3%ADmi%20inhibitory%20replikace%20Cytomegalovir%C5%AF%20a,A%20a%20B%20a%20dal%C5%A1%C3%ADch%20infekc%C3%AD%20d%C3%BDchac%C3%ADho%20apar%C3%A1tu>.
- [3] STEVENSON, F. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons, c1994, xiii, 496 s. ISBN 04-715-9474-1.
- [4] Pivokonský, Martin, Pivokonská, Lenka, Bubáková, Petra, Janda, Václav. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické listy* 104, 1015-1022 (2010)
- [5] DÍAZ-CRUZ, M.Silvia, María J LÓPEZ DE ALDA a Damià BARCELÓ. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *TrAC, Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* [online]. Amsterdam: Elsevier B.V, 2003, 22(6), 340-351 [cit. 2022-03-22]. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(03)00603-4
- [6] LIPCZYNSKA-KOCHANY, Ewa. Humic substances, their microbial interactions and effects on biological transformations of organic pollutants in water and soil: A review. *Chemosphere (Oxford)* [online]. England: Elsevier, 2018, 202, 420-437 [cit. 2022-05-11]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2018.03.104
- [7] VESELÁ, Lenka, KUBAL Martin, KOZLER, Josef a Petra INNEMANOVÁ. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy* 99, 711-717 (2005)
- [8] ALVAREZ-PUEBLA, R.A, P.J.G GOULET a J.J GARRIDO. Characterization of the porous structure of different humic fractions. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2005, 256(2), 129-135 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0927-7757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2004.12.062
- [9] IR Spectroscopy, Soil Analysis Applications. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* [online]. 2016 [cit. 2022-05-09]. ISBN 9780128032244.
- [10] HATAKEYAMA, T a F.X QUINN. *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications* Polymer Science. 2nd Ed. Chichester: John Wiley, 1999, 180 s. ISBN 0-471-98362-4
- [11] HAMPL, František a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie*. Praha: VŠCHT, 2002, 413 s. ISBN 80-7080-495-5.
- [12] KOTYZA, Jan, Petr SOUDEK, Zdeněk KAFKA a Tomáš VANĚK. Léčiva - "nový" environmentální polutant. *Chemické listy*. 2009, 103(7), 540-547. ISSN 0009-2770.

- [13] LI, W.C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental pollution* (1987) [online]. OXFORD: Elsevier, 2014, 187, 193-201 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2014.01.015
- [14] BARAN, Wojciech, Ewa ADAMEK, Justyna ZIEMIAŃSKA a Andrzej SOBCZAK. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of hazardous materials* [online]. Kidlington: Elsevier B.V, 2011, 196, 1-15 [cit. 2022-05-11]. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2011.08.082
- [15] GARCÍA-GALÁN, M^a Jesús, M SILVIA DÍAZ-CRUZ a Damià BARCELÓ. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *TrAC, Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* [online]. OXFORD: Elsevier B.V, 2008, 27(11), 1008-1022 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2008.10.001
- [16] TAČÍČ, Ana, et al. Antimicrobial sulfonamide drugs. *Advanced technologies*, 2017, 6.1: 58-71.
- [17] CHEN, Kuen-lin, Li-chun LIU a Wan-ru CHEN. Adsorption of sulfamethoxazole and sulfapyridine antibiotics in high organic content soils. *Environmental pollution* (1987) [online]. OXFORD: Elsevier, 2017, 231(Pt 1), 1163-1171 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2017.08.011
- [18] Sulfapyridine [online]. 2021 [cit. 2022-5-11]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5145.html>
- [19] Sulfapyridine. Merck [online]. Germany, 2021 [cit. 2022-5-10]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sial/s6252>
- [20] Chem Spider: Search and share chemistry [online]. Londýn: Royal Society of Chemistry. [cit. 2022-05-10]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5145.html?rid=aee07fc8-3f15-4d54-95fe-4f6316e365ae>
- [21] CHEN, Chang-er, Hao ZHANG, Guang-guo YING a Kevin C JONES. Evidence and Recommendations to Support the Use of a Novel Passive Water Sampler to Quantify Antibiotics in Wastewaters. *Environmental science & technology* [online]. WASHINGTON: American Chemical Society, 2013, 47(23), 13587-13593 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es402662g
- [22] GBADEGESIN, Lanre Anthony, Xiangyu TANG, Chen LIU a Jianhua CHENG. Transport of Veterinary Antibiotics in Farmland Soil: Effects of Dissolved Organic Matter. *International journal of environmental research and public health* [online]. Switzerland: MDPI, 2022, 19(3), 1702 [cit. 2022-05-09]. ISSN 1661-7827. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph19031702
- [23] ŠÍDLOVÁ, Petra, PODLIPNÁ, Radka a Tomáš VANĚK. Cytostatická léčiva v životním prostředí. *Chemické listy* 105, 8-14 (2011)

- [24] KIM, Sung-chul a Kenneth CARLSON. LC-MS2 for quantifying trace amounts of pharmaceutical compounds in soil and sediment matrices. *TrAC, Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* [online]. OXFORD: ELSEVIER SCI, 2005, 24(7), 635-644 [cit. 2022-05-10]. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2005.04.006
- [25] FERRER, Imma a E.Michael THURMAN. Liquid chromatography/time-of-flight/mass spectrometry (LC/TOF/MS) for the analysis of emerging contaminants. *TrAC, Trends in analytical chemistry (Regular ed.)* [online]. Elsevier B.V, 2003, 22(10), 750-756 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(03)01013-6
- [26] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. V Brně: Vutium, 2000, 347 s. : il. ; 29 cm. ISBN 80-214-1742-0.
- [27] SAVVA, Michalakis. *Pharmaceutical Calculations*. Cham: Springer International Publishing. ISBN 3030203344. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-20335-1
- [28] Kubáček, Pavel. *Základy fyzikální chemie. Transport látky*. [Online]: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js11/fyz_chem/web/dynamika/transport.htm?msclkid=2f82e163b27511ec9a36dc2d6d4a640f
- [29] HLAVÁČ, Jan. *Základy technologie silikátů*. 2. uprav.vyd. Praha: SNTL, 1988, 516 s.
- [30] KLUČÁKOVÁ, Martina a Michal KALINA. Diffusivity of Cu(II) ions in humic gels – influence of reactive functional groups of humic acids. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* [online]. Elsevier B.V, 2015, 483, 162-170 [cit. 2022-05-12]. ISSN 0927-7757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2015.05.041
- [31] RATH, Susanne, Anne Hélène FOSTIER, Leandro Alves PEREIRA, et al. Sorption behaviors of antimicrobial and antiparasitic veterinary drugs on subtropical soils. *Chemosphere (Oxford)* [online]. England: Elsevier, 2019, 214, 111-122 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2018.09.083
- [32] HAHAM, Hai, Adi OREN a Benny CHEFETZ. Insight into the Role of Dissolved Organic Matter in Sorption of Sulfapyridine by Semiarid Soils. *Environmental science & technology* [online]. Washington, DC: American Chemical Society, 2012, 46(21), 11870-11877 [cit. 2022-05-09]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es303189f

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

7.1 Použité symboly

Symbol	Význam symbolu	Jednotka
J	difúzní tok	$\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
D	difúzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
c	koncentrace látky	$\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$
x	prostorová souřadnice	m
t	čas difúze	s
π	ludolfovo číslo	
m	množství nanesené látky	mg
D_{eff}	efektivní difúzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$

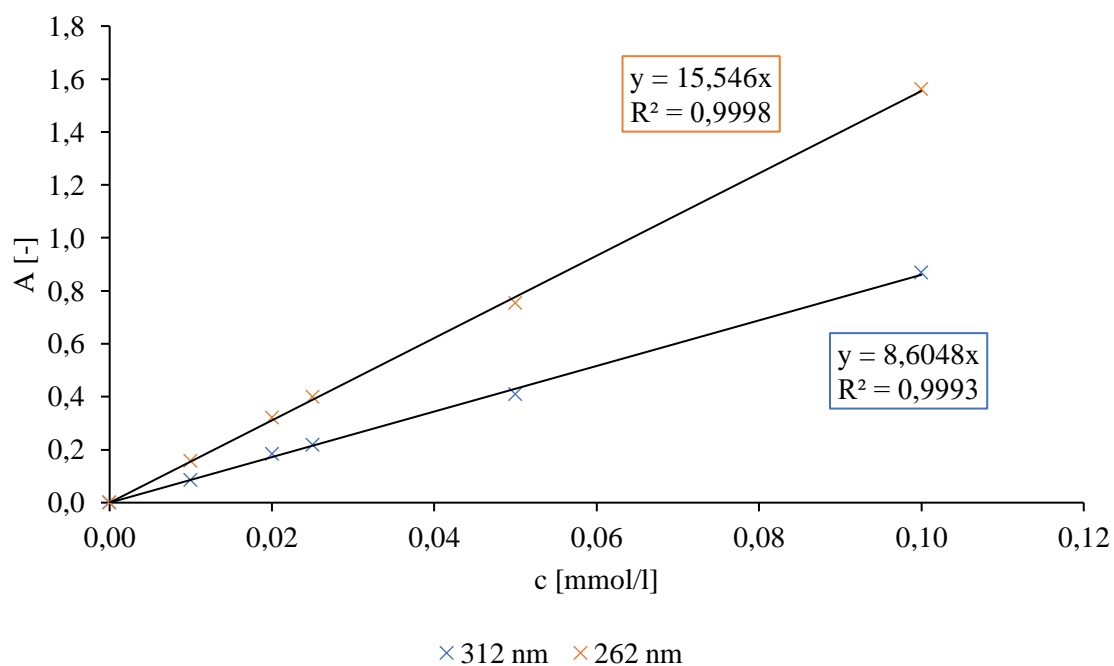
7.2 Použité zkratky

Zkratka	Význam zkratky
ČOV	čistička odpadních vod
UV	část ultrafialového světla elektromagnetického záření
VIS	viditelná část elektromagnetického záření
FT–IR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
TGA	termogravimetrické analýza
SPY	sulfapyridin
SMZ	sulfamethoxazol
EA	elementární analýza
GC	plynová chromatografie
LC–TOF–MS	kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem a analyzátozem doby letu
MS	hmotnostní spektrometr

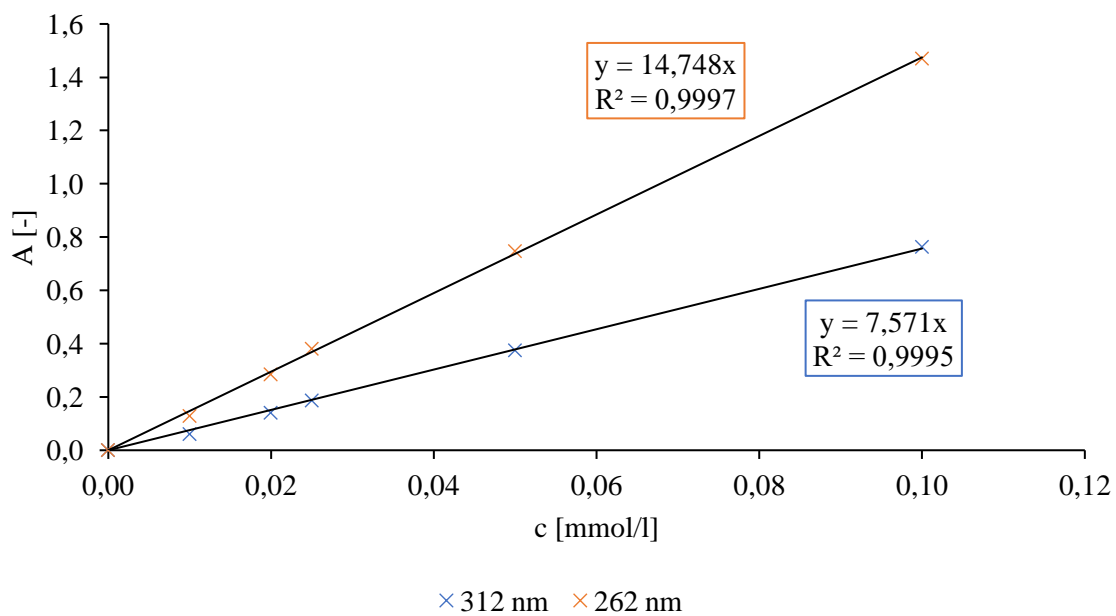
8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1. Kalibrační křivky pro roztok chloridu hořečnatého	41
Příloha 2. Kalibrační křivky pro kohoutkovou vodu	41

9 PŘÍLOHY



Příloha 1: Kalibrační křivky pro roztok chloridu hořečnatého



Příloha 2: Kalibrační křivky pro kohoutkovou vodu