

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra pedologie a ochrany půd**



**Vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami pěstovanými  
v hydroponních podmínkách**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Michal Kroc**

**Obor studia: Veřejná správa v zemědělství a krajině**

**Vedoucí práce: Ing. Aleš Klement, Ph.D.**

© 2019 ČZU v Praze



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami pěstovanými v hydroponních podmínkách" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17.4. 2019

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu práce panu Ing. Aleši Klementovi, Ph.D. za proběhlé konzultace, pomoc při měření a podporu při zpracovávání bakalářské práce. Rád bych také poděkoval paní prof. Ing. Radce Kodešové, CSc. a dalším členům katedry, za odborné konzultace a pomoc s interpretací výsledků. Velké poděkování patří i mé partnerce a všem členům rodiny, kteří mě po celou dobu bakalářského studia podporovali a byli mi oporou.

# Vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami pěstovanými v hydroponních podmínkách

## Souhrn

Tato práce se zabývá problematikou léčiv v životním prostředí. V rešeršní části práce jsou uvedeny nejvýznamnější zdroje kontaminace farmaceutickými látkami a jejich následný dopad na životní prostředí včetně možných cest, kterými se tyto látky mohou dostávat do potravního řetězce. V experimentální části práce jsme se s vedoucím práce, Ing. Alešem Klementem, PhD., zabývali pěstováním rostlin špenátu setého a rukoly seté v hydroponních podmínkách.

Pěstování rostlin v hydroponních podmínkách mělo za cíl eliminovat půdní vlastnosti, které by mohly na experiment působit negativně, a zároveň přinést nové poznatky o absorpci léčiv do rostlinných tkání z hydroponního prostředí.

Rostliny byly pěstovány s přidavkem mixu léčiv (carbamazepin, clindamycin, sulfamethoxazol) a byl zkoumán vliv pH na absorpci léčiv do rostlinných tkání. Zkoumané hodnoty pH (5,0; 6,5; 8,0) byly vybrány na základě hodnot pKa vybraných léčiv. Na odebraných vzorcích nadzemních a podzemních částí rostlin byla provedena analýza plochy pomocí softwaru ImageJ (verze 1.52a) a dále byly vzorky po zpracování odeslány k měření zbytkových koncentrací léčiv. Analýza koncentrací byla provedena specializovaným pracovištěm Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity ve Vodňanech metodou kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS).

Byl prokázán a popsán vliv zkoumaných hodnot pH na vstřebávání vybraných léčiv rostlinami špenátu setého a rukoly seté z hlediska příznivých i nepříznivých podmínek pro růst rostlin. Nejvyšší koncentrace léčiv byly u rostlin špenátu detekovány pro neutrální oblast pH, zatímco u rostlin rukoly pro oblast zásaditou. Rostliny nejlépe absorbovaly do rostlinných tkání léčivo carbamazepin, méně pak clindamycin a nejméně sulfamethoxazol.

**Klíčová slova:** rostliny; léčiva; hydroponie; vliv pH

# **The impact of pH on uptake of pharmaceuticals by plant planted under hydroponic conditions**

## **Summary**

This bachelor thesis deals with the issue of pharmaceuticals in the environment. In the research part of the thesis there are mentioned the most important sources of contamination by pharmaceutical substances and their subsequent impact on the environment including possible ways by which these substances can enter the food chain. In the experimental part of the thesis we are with the supervisor, Ing. Aleš Klement, PhD., were engaged in growing spinach plants and arugula planted in hydroponic conditions.

The cultivation of plants in hydroponic conditions was aimed at eliminating soil properties that could negatively affect the experiment and at the same time bring new knowledge about the absorption of pharmaceuticals into plant tissues from the aquatic environment.

Plants were grown with the addition of a drug mix (carbamazepine, clindamycin, sulfamethoxazole) and the effect of pH on drug absorption into plant tissues was investigated. The pH values examined (5.0; 6.5; 8.0) were selected based on pKa values of the selected pharmaceuticals. An analysis of the area using ImageJ software (version 1.52a) was performed on the above-ground and underground plant samples, and samples were sent for measurement of residual drug concentrations after processing. The analysis of concentrations was carried out by a specialized workplace of the Faculty of Fisheries and Protection of Waters of the University of South Bohemia in Vodňany using liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS / MS).

The influence of pH values on the absorption of selected pharmaceuticals by spinach and arugula plants in terms of both favorable and unfavorable conditions for plant growth was demonstrated and described. The highest drug concentrations were detected in the spinach plant for the neutral pH region, while in the plants the arugula was found to be basic pH. Plants best absorbed carbamazepine, less clindamycin, and the least sulfamethoxazole into plant tissues.

**Keywords:** plants; pharmaceuticals; hydroponics; pH influence

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1 pH</b> .....	<b>3</b>
<b>3.2 Hydroponické pěstování rostlin</b> .....	<b>4</b>
<b>3.3 Problematika léčiv v životním prostředí</b> .....	<b>5</b>
3.3.1 Vstupy léčiv do životního prostředí.....	5
3.3.2 Vlastnosti léčiv v životním prostředí.....	6
3.3.2.1 Vztah sorpce k ionizaci sloučenin.....	7
3.3.3 Chování léčiv v půdě.....	7
3.3.3.1 Sorpce léčiv v půdě.....	8
3.3.3.2 Poločas rozpadu léčiv v půdě.....	9
3.3.3.3 Mikrobiální degradace.....	10
3.3.3.4 Charakteristiky setrvávání léčiv v půdě.....	10
3.3.4 Vliv zavlažování přečištěnou odpadní vodou na vstup léčiv do potravního řetězce.....	10
3.3.5 Aplikace čistírenských kalů na zemědělské půdy.....	11
3.3.6 Vliv chovu hospodářských zvířat na výskyt kontaminace životního prostředí léčivy.....	14
3.3.7 Antibiotika jako zdroj kontaminace léčivy.....	14
<b>4 Materiál a metody</b> .....	<b>16</b>
<b>4.1 Hydroponické soustavy</b> .....	<b>17</b>
4.1.1 Mix přidaných léčiv.....	20
4.1.2 Hnojivo.....	20
<b>4.2 Měření pH a salinity</b> .....	<b>21</b>
4.2.1 Výběr pH hydroponního roztoku.....	21
<b>4.3 Měření výšky hladiny a výparu</b> .....	<b>24</b>
<b>4.4 Odběr vzorků hydroponního roztoku</b> .....	<b>26</b>
<b>4.5 Odběr vzorků rostlin</b> .....	<b>27</b>
<b>4.6 Analýza snímků pro výpočet plochy</b> .....	<b>28</b>
<b>4.7 Měření zbytkových koncentrací léčiv v rostlinách</b> .....	<b>30</b>
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>31</b>
<b>5.1 Vliv pH roztoku a přítomnosti léčiv na nárůst biomasy rostlin</b> .....	<b>31</b>
<b>5.2 Vliv pH roztoku a přítomnosti léčiv na plochu rostlin</b> .....	<b>32</b>
<b>5.3 Vliv nárůstu biomasy na plochu rostlin</b> .....	<b>41</b>
<b>5.4 Koncentrace léčiv v živném roztoku</b> .....	<b>42</b>

5.5	Koncentrace léčiv v biomase rostlin .....	46
6	Diskuze .....	50
6.1	Shrnutí poznatků literární rešerše .....	50
6.2	Vlastní výsledky.....	51
6.2.1	Vliv vlastností léčiv na výsledky experimentu .....	51
6.2.2	Vliv pH na růst rostlin .....	52
6.2.3	Vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami .....	53
6.2.4	Vliv pH na zbytkovou koncentraci léčiv ve vzorcích vody.....	54
6.2.5	Vliv pH na zbytkovou koncentraci léčiv ve vzorcích rostlin.....	55
6.3	Srovnání vlastních výsledků s existujícími studii.....	56
7	Závěr.....	57
8	Literatura.....	58
9	Seznam použitých zkratk.....	67
10	Doplňkové údaje k experimentu .....	I
10.1	Fotodokumentace experimentu.....	I
10.2	Vliv pH roztoku na spotřebu H <sub>2</sub> O rostlinami.....	IV



# 1 Úvod

Vlivem antropogenních činností se mohou léčiva dostávat do životního prostředí. Touto problematikou se zabývá celá řada vědeckých oborů, mezi které patří i pedologie.

Rostliny mohou léčiva a jejich metabolity absorbovat z kontaminované půdy a vody. Procesy, kterými rostliny tyto látky absorbují, jsou různé. Může to být fixace na kořenech, ale i akumulace v nadzemních částech rostlinného těla. Tímto způsobem se léčiva mohou dostávat přes zemědělskou produkci do potravního řetězce člověka (Madikizela et al. 2018).

Půda je náchylná ke kontaminaci farmaceutickými látkami zejména z důvodu používání přečištěné odpadní vody k zavlažování, stejně tak používáním šedé vody. Zavlažování kontaminovanou vodou je typické pro takové země, které trpí dlouhodobým nedostatkem vody (Kodešová 2018). Nicméně tento způsob není jediným, kterým se léčiva mohou do půdy dostávat. V zemích, kde se tento způsob zavlažování nevyužívá nebo je legislativně zakázán, patří mezi nejvýznamější zdroje kontaminace léčivy aplikace čistírenských kalů na půdu, nebo chov hospodářských zvířat. Nelze vyloučit ani možnost kontaminace půdy léčivy vlivem havárií, nebo průsakem vod ze skládek komunálního odpadu. Voda je také velice náchylná ke kontaminaci léčivými látkami, protože existuje mnoho cest, kterými se do vody dostávají. Počínaje farmaceutickými odpadními vodami, přes průsaky vod ze skládek komunálního odpadu, havárie, až po nadbytečné množství léčiv, jež lidé vylučují v téměř nezměněné podobě (Madikizela et al. 2018).

Kyselost či zásaditost prostředí může významně ovlivnit chování léčivých látek (Kodešová et al. 2016). Vliv pH hraje prokazatelnou roli nejen u léčiv, ale i u tzv. těžkých kovů, nebo jiných kontaminantů životního prostředí. Některé látky jsou v půdě mobilnější při kyselém pH půdy, jiné mají optimum v zásaditém pH (Kočárek et al. 2016). Stejně tak to platí i u vody. Kontaminanty znečišťující vodu jsou v ní rozpuštěné a každý z nich má své optimální pH prostředí, při kterém je více či méně mobilní a působí tak více či méně na prostředí, ve kterém se nachází (Schaffer & Licha 2015).

Pěstování rostlin v hydroponických systémech nám umožňuje eliminovat vliv půdních vlastností. Z tohoto důvodu byl pro tento experiment zvolen právě hydroponický způsob pěstování rostlin. Hydroponický systém je systém, v němž se rostliny pěstují bez půdy, jen v živném roztoku (Opitz et al. 2001). V takovém systému je možné zkoumat kontaminaci vody léčivy, i schopnost absorpce rostlin. Pokud bychom chtěli zkoumat schopnosti rostlin akumulovat farmaceutické látky a jejich metabolity z půdy, museli bychom brát zřetel na značné množství půdních vlastností, které mohou pozitivně nebo negativně ovlivňovat faktory jako jsou sorpční afinita nebo zrnitost. Dalšími neméně důležitými parametry jsou vlastnosti léčiv a metabolitů jako mobilita či poločas rozpadu.

## 2 Cíl práce

Cílem práce bylo na základě literární rešerše objasnit problematiku léčiv v životním prostředí a na základě vlastního laboratorního experimentu shrnout vliv pH hydroponního roztoku na vstřebávání mixu léčiv vybranými modelovými rostlinami.

Jako modelové rostliny byly vybrány špenát setý (*Spinacia oleracea* L. hybrid Clarinet F1) a roseta setá (*Eruca sativa* (L.) Mill. hybrid Speedy). Mix léčivých látek se skládal z kombinace tří léčiv, kterými byly carbamazepin, clindamycin a sulfamethoxazol.

Vliv pH hydroponního roztoku byl zkoumán v souvislosti s růstem modelových rostlin, nárůstem biomasy, hmotností sušiny, spotřebou H<sub>2</sub>O, velikostí plochy podzemních i nadzemních částí rostlin a koncentrací léčiv a jejich metabolitů v živném roztoku a biomase modelových rostlin.

V rešeršní části byla řešena problematika léčiv v životním prostředí, zejména odkud se léčivé látky a jejich metabolity berou. Zdroje vzniku kontaminace léčivy a jejich sledování. V neposlední řadě hodnocení rizik výskytu léčiv v životním prostředí a pokročilost výzkumu v dané oblasti.

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 pH

Zkratka pH pochází z latinského „pondus Hydrogenii“, tedy „váha vodíku“. Stupnici pH zavedl dánský chemik Søren Peder Lauritz Sørensen jako škálu, podle které lze měřit zásaditost či kyselost. Definoval pH jako záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů nabývající hodnoty od 0 do 14 (IUPAC 2004).

Rozeznáváme dva základní typy měření pH, kterými jsou použití acidobazických indikátorů a instrumentální metody. Acidobazických indikátorů je několik typů, působí také v různých oblastech pH. Lze uvést například lakmus, ten je považován za jeden z nejstarších indikátorů pH a má také širší oblast působení. Velmi častým použitím tohoto indikátoru je tzv. lakmusový papírek, což je proužek filtračního papíru napuštěný lakmusem. Dalšími acidobazickými indikátory jsou například fenolftalein, methyloranž, methylčerveň, nebo bromthymolová modř. Fenolftalein patří mezi ftaleiny, je indikátorem s přechodovou oblastí při pH 8,2 – 10,0 a používá se velmi často při volumetrické analýze slabých kyselin. Methyloranž a methylčerveň patří mezi azobarviva a jsou indikátory vhodné pro titraci slabých zásad. Funkční oblast pH těchto indikátorů je 3,1 – 4,5 pro methyloranž a 4,4 – 6,3 pro methylčerveň. Bromthymolová modř má své uplatnění v oblasti pH 6,0 – 7,6 a slouží také k titraci slabých zásad (IUPAC 2004).

Do instrumentálních metod řadíme potenciometrii, což je elektrochemická analýza založená na měření rovnovážného napětí. Přístroje na přesné měření pH zvané pH metry řadíme k podtypu potenciometrů (IUPAC 2004).

Zdali je půda kyselá či zásaditá lze po stanovení jejího pH odvodit ze stupnice hodnocení pH podle J. Zbírala (tab. 1).

Tab. 1. Stupnice hodnocení pH v půdách (Zbíral 2002).

$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	hodnocení reakce
< 4,9	silně kyselá
4,9 – 5,9	kyselá
5,9 – 6,9	slabě kyselá
6,9 – 7,1	neutrální
7,1 – 8,0	slabě alkalická
8,0 – 9,4	alkalická
> 9,4	silně alkalická

$\text{pH}_{\text{KCl}}$	hodnocení reakce
< 4,5	silně kyselá
4,5 – 5,5	kyselá
5,5 – 6,5	slabě kyselá
6,5 – 7,2	neutrální
> 7,2	alkalická

## 3.2 Hydroponické pěstování rostlin

První část tohoto slova „hydro-“, pochází z řečtiny a znamená „voda“. Druhá část, „-ponie“, pochází z latiny (*pono* = kladu) a dá se přeložit jako „vložit“ nebo „uložit“. Hydroponie tedy znamená pěstování rostlin ve vodném roztoku obohaceném o živiny (Opitz et al. 2001).

Všechny rostliny potřebují ke svému zdárnému růstu takzvané růstové faktory: vodu, světlo, teplo, vzduch a živiny (Šnobl & Pulkrábek 2007).

K zalévání hydroponicky pěstovaných rostlin v domácnostech se doporučuje odstátá voda z vodovodu. Jako ideální teplota vody při hydroponickém pěstování je uváděný rozsah mezi 22 až 26 °C. Hydroponicky pěstované rostliny, jejichž kořeny leží ve vodě, jsou totiž citlivé na nízké teploty. Hydroponické rostliny nejsou vodní rostliny, jejichž kořeny mohou stát trvale ve vodě, nesmíme je tedy zaměňovat s pěstováním vodních nebo bahenních rostlin. Aby se předešlo zahánění kořenů, je nutné, aby měly dostatečný přístup vzduchu. Pro hydroponicky pěstované rostliny nemusíme změkčovat ani tvrdou vodu, musíme ovšem použít hnojivo určené podle stupně tvrdosti vody. Je-li voda příliš měkká nebo příliš tvrdá, mohou nastat problémy s přijímáním některých živin (Opitz et al. 2001).

V hydroponii se hnojiva přidávají do vody. Tak vznikne živný roztok, z něhož kořeny čerpají živiny. Pro hydroponii se doporučují zejména tyto druhy hnojiv: hnojící tablety s vápníkem, tekutá hnojiva a zásobní hnojiva. Zásobní hnojiva se podávají ve formě snadno vyjímatelných živných baterií a vydrží až několik měsíců, naproti tomu tekutá hnojiva se do vody vytvářející živný roztok musejí přidávat podle objemu nádob po 1–2 týdnech. Z toho důvodu se měří salinita živného roztoku, abychom zjistili, jak je roztok zásoben živinami. Pro většinu hydroponických rostlin leží optimální hodnota pH v rozsahu od 5,5 do 6,5. Čím nižší je hodnota pH, tím méně obsahuje voda vápníku (Opitz et al. 2001).

Pokud přirozené světlo nestačí, musíme zajistit umělé osvětlení například pomocí vysokotlaké rtuťové výbojky. Světelné spektrum musí být pro rostlinu vhodné, zdroj musí vyzařovat modré světlo o vlnové délce ( $\lambda$ ) 436 nm a červené světlo o vlnové délce ( $\lambda$ ) 630 nm. Obě vlnové délky jsou důležité pro tvorbu chlorofylu a správný průběh fotosyntézy, zajišťují správnou tvorbu kořenů a zdravý růst. Intenzita osvětlení v místě, kde jsou rostliny pěstovány, se dá změřit luxmetrem. Pokud intenzita světla nedosahuje 300 lx, musí svítidlo umělého osvětlení svítit 8 až 10 h denně. U rostlin, které rostou ve tmě, dochází k tzv. etiolizaci (nedostatečné tvorbě chlorofylu), v důsledku čehož rostlina vytváří slabé a dlouhé výhony, protože se snaží vytáhnout ke světlu (Opitz et al. 2001).

Teplo je rozhodující podmínkou pro růst všech rostlin. Většina rostlin pěstovaných v půdě prosperuje při teplotním rozsahu od 18 do 22 °C. Není na škodu, jestliže teplota v místnosti klesne v noci k 16 °C nebo ve výjimečných případech v létě dosáhne až 30 °C. Příliš mnoho tepla rostlinám škodí, může způsobit odumírání rostlinných buněk a nekrózu listů. Ani nedostatek tepla rostlinám nesvědčí, některé rostliny například reagují shazováním listů (Opitz et al. 2001).

Neméně důležitým parametrem je vlhkost vzduchu. Při poklesu relativní vlhkosti vzduchu pod 50 % je vzduch suchý téměř pro všechny rostliny s výjimkou sukulentů a dochází ke žloutnutí a opadu listů, či zkroucení nebo svěšení stonku. Relativní vlhkost vzduchu

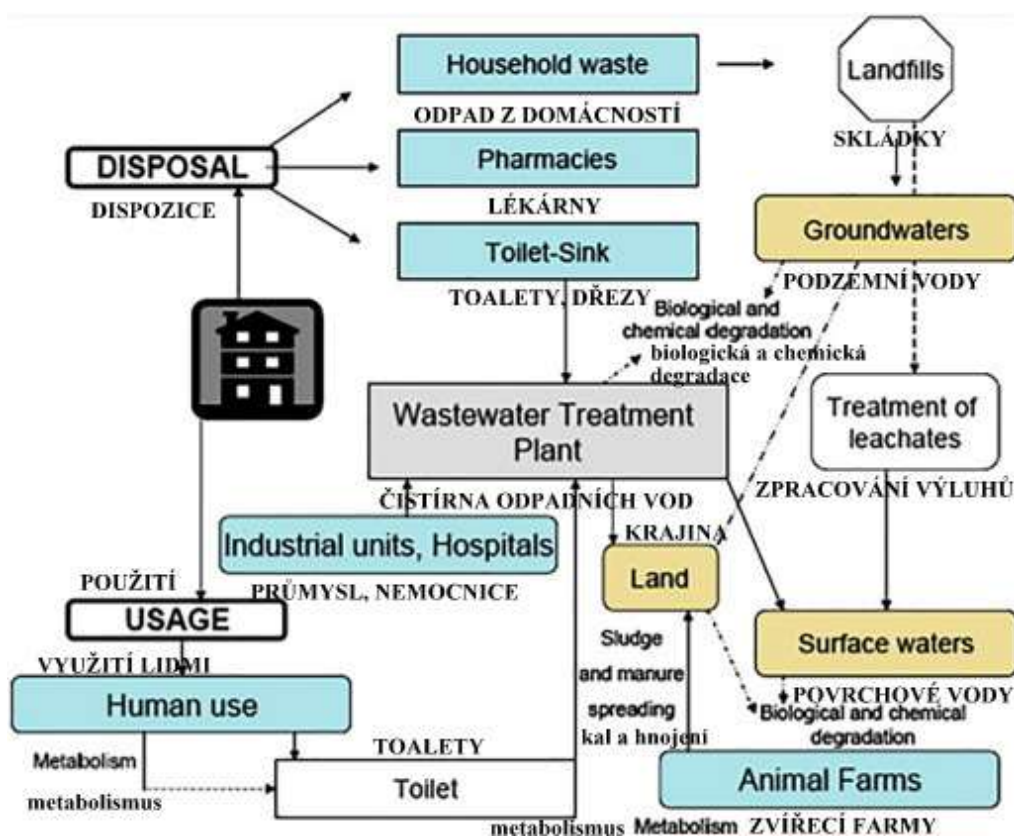
70 až 80 % a vyšší podporuje napadení rostlin houbami a tvorbu plísní. Tím se snižuje látková výměna rostlin, které pak trpí nedostatečnou výživou (Opitz et al. 2001).

Příkladem průmyslového využití hydroponického pěstování je systém aquaponie. Aquaponie je systém produkce potravin fungující na principu chovu ryb a pěstování rostlin v hydroponních podmínkách. Jedná se o integrovaný multi-trofický systém, který kombinuje prvky recirkulační akvakultury a hydroponie, kde se voda z rybích nádrží obohacených o živiny používá pro růst rostlin. Je to přirozený proces bez půdy, který lze nalézt v jezerech, rybnících a řekách, přičemž organický odpad produkovaný rybami využívají pěstované plodiny jako hnojivo. V průmyslu zabývajícím se aquaponickým pěstováním rostlin se voda k pěstování odebírá z povrchových a podzemních vod a mimo to se využívá také vyčištěná odpadní voda z ČOV (Goddek et al. 2015).

### 3.3 Problematika léčiv v životním prostředí

#### 3.3.1 Vstupy léčiv do životního prostředí

Díky pokročilým metodám pro detekci a analýzu mikopolutantů byl v posledních letech zjištěn výskyt léčiv v řadě složek životního prostředí, včetně půdního prostředí (Kodešová 2018). Taktéž byla v minulých letech nalezena léčiva ve vodních systémech zahrnujících pitnou vodu (Odendaal et al. 2015), odpadní vody (Yang et al. 2017), povrchové vody a podzemní vody (Balakrishna et al. 2017). Léčiva vstupují do životního prostředí prostřednictvím různých zdrojů, jak je popsáno na obr. 1 (Kostopoulou & Nikolaou 2008).



Obr. 1. Zdroje léčiv v životním prostředí, upraveno dle Kostopoulou & Nikolaou (2008).

Tyto zdroje zahrnují přímý vstup léčiv do vodních zdrojů a vylučování do kanalizací, které vede k přepravě vysokého množství léčiv do ČOV.

Je všeobecně známo, že čistírny odpadních vod (ČOV) nedokážou zcela odstranit organické látky, které zahrnují také léčiva (Madikizela et al. 2018). Tím mohou farmaceutické látky pronikat do životního prostředí z vyčištěné odpadní vody, která je následně vypouštěna do recipientu. Pravděpodobným zdrojem léčiv v oblasti potravinových zdrojů může být použití kalů z ČOV jako biosolidů nebo hnojiv zemědělských půd (Thiele Bruhn 2003, Verlicchi & Zambello 2015). Velké množství farmaceutických sloučenin vstupuje do půdy zavlažováním pomocí kontaminované vody, nebo tzv. šedé vody (gray water). Dalšími velice častými zdroji jsou aplikace statkových hnojiv z intenzivních chovů hospodářských zvířat, jako je chlévský hnůj, kejda a močůvka (McClellan & Halden 2010, Karci & Balcioğlu 2009, Lindberg et al. 2014) (obr. 1) a neméně významným faktorem je vstup farmaceutických kontaminantů do půdy prostřednictvím extenzivních chovů hospodářských zvířat, tedy například zvířat pasených na pastvinách (Popot et al. 2007).

### 3.3.2 Vlastnosti léčiv v životním prostředí

Některá léčiva mohou být sorbována v půdě, zatímco jiná mohou být transportována do povrchové a podpovrchové vody odtokem a infiltrací (Thiele-Bruhn 2003).

Mobilita kontaminantů v půdách závisí na mnoha půdních i farmaceutických vlastnostech jako například sorpční afinita na částice půdy nebo rychlost degradace léčiv. Sorpce na půdní částice je hlavním parametrem, jenž ovlivňuje mobilitu léčiv v půdě (Kodešová et al. 2015).

Sorpce je výsledkem fyzikálních a chemických vlastností půdy a léčiv, a je taktéž ovlivněna teplotou a vlhkostí půdy. Hlavními vlastnostmi léčiv ovlivňující jejich chování v půdě je jejich rozpustnost ve vodě, hodnota pKa, velikost a tvar molekul (Kočárek et al. 2016). Sorpce léčiv v půdách je jedním z klíčových faktorů, které řídí jejich distribuci rostlinami (Wu et al. 2015). U některých půd jsou půdní agregáty pokryty povlaky, které mohou mít značně odlišné složení oproti vnitřnímu složení půdních agregátů, které tyto povlaky pokrývají. Rozdíly sorpce farmaceutických látek mezi půdními agregáty a jejich povlaky se zabývala studie Féra et al. (2018). Tato studie zkoumala tři vybrané farmaceutické látky, konkrétně se jednalo o atenolol, carbamazepin a sulfamethoxazol. U těchto látek byly zjištěny rozdíly mezi sorpcí iontových sloučenin na organo-minerálních povlácích půdních agregátů a vnitřním prostředním zmíněných agregátů. Proběhlé studie zabývající se sorpcí léčiv na pevných látkách, se většinou soustředily na sorpci léčiv v kalu z ČOV, jako např. studie Horsinga et al. (2011). Důvodem byl vysoký výskyt léčiv v odpadních vodách, proto se sorpční škály studovaly hlavně v čistírenských kalech (Klement et al. 2018). Existují také studie, které se zaměřily na sorpci vybraných léčiv v sedimentech (Martínez et al. 2014, Niedbala et al. 2013, Schaffer et al. 2012) s úmyslem charakterizovat mobilitu těchto sloučenin v podpovrchových vodách (Kodešová et al. 2015). Studována je také sorpce léčiv v půdě (Tolls 2001). Studie zaměřené na sorpci léčiv v půdách jsou méně časté a bývají zaměřené na úžší rozsah sloučenin (např. Féra et al. 2018, Kočárek et al. 2016, Kodešová et al. 2015, Klement et al. 2018, Schaffer & Licha 2015, Tolls 2001, Verlicchi & Zambello 2015).

Absorpce a bioakumulace léčiv byla často studována za hydroponních podmínek (např. Dogen et al. 2013, 2015, Riemenschneider et al. 2017, Shenker et al. 2011, Wu et al. 2013). Absorpce z půdy byla studována především za skleníkových podmínek (Kodešová et al. 2019), ale také v polních podmínkách (např. Ahmed et al. 2015, Calderón-Preciado et al. 2013, Chung et al. 2017, Goldstein et al. 2014, Holling et al. 2012, Hurtado et al. 2016, Malchi et al. 2014, Montemurro et al. 2017, Mordechay et al. 2018, Shenker et al. 2011, Williams et al. 2015, Winke et al. 2010, Wu et al. 2010, 2012, 2013). Studie se většinou soustředily na konečné koncentrace léčiv v rostlinných tkáních a nezabývaly se vlivem půdních typů na sorpci a rozptýlení léčiv, a vlivem půdních vlastností na absorpci léčiv kořeny (Kodešová et al. 2019).

### 3.3.2.1 Vztah sorpce k ionizaci sloučenin

Různé studie dokládají, že sorpce mnoha léčiv je způsobena jejich ionizací, která je vysoce ovlivněna pH půdy (Kočárek et al. 2016, Srinivasan et al. 2013, Zhang et al. 2014). Minerální povrch půdních částic a jílové minerály přítomné v půdě také ovlivňují sorpci léčiv (Gao & Pedersen 2005, Martínez et al. 2014).

V závislosti na hodnotě disociační konstanty léčiva ( $pK_a$ ) a pH půdního roztoku se mohou léčiva v půdním roztoku vyskytovat v několika formách (Kočárek et al. 2016, Schaffer & Licha 2015). Jedná se o tyto formy: neutrální, aniontová, kationtová a zwitteriontová forma. Zmíněné formy mohou v půdním roztoku existovat současně (Schaffer & Licha 2015).

Sorpce neutrálních molekul je převážně řízena hydrofobním dělením na půdní organickou hmotu prostřednictvím Van der Waalsových sil, vodíkovou vazbou s hydroxylovými skupinami na pevném povrchu a koordinačními vazbami (donor-akceptor). Iontové sloučeniny jsou sorbovány organickými látkami v půdě, ale mohou se také vázat na jílovité částice a oxidy hliníku a železa (Kočárek et al. 2016). Sorpce iontových sloučenin na nabitěm povrchu sorbentu je řízena elektrostatickými mechanismy, jako je výměna kationtů, přemostění kationtů a komplexace (Klement et al. 2018). Sorpce kationtových molekul je ovlivňována především přitažlivostí záporných nábojů pevného povrchu, zatímco aniontové molekuly jsou vázány na kladně nabitý povrch půdních složek vlivem kationtového přemostění na záporné náboje. Zwitteriontové molekuly obsahují kladný i záporný náboj, ale jejich celkový náboj je neutrální. To má za následek optimální interakci se sorpčními místy v půdě (Kočárek et al. 2016). Carrasquillo et al. (2008) uvádí, že sorpce u zwitteriontových sloučenin závisí také na celé řadě dalších vlastností takových sloučenin, jako je například poloha funkčních skupin nebo orientace molekul v mezivrstvách minerálů. Adsorpce iontových sloučenin je vysoce citlivá na změny pH (Kah & Brown 2006, Kodešová et al. 2015). Menší neutrální molekuly s nízkým počtem vodíkových vazeb, které jsou spíše hydrofilní, bývají rostlinami vstřebávány nejnárodněji a také intenzivněji dále translokovány (Kodešová 2018).

### 3.3.3 Chování léčiv v půdě

Sloučeniny jsou méně bioaktivní při nižších hodnotách pH a proto se rozkládají pomaleji než za podmínek s vyšší hodnotou pH. Je třeba poznamenat, že degradace léčiv v půdě je spojena s mikrobiální aktivitou, která se v různých půdách liší (Kodešová et al. 2016).

Sorpce léčiv na půdní složky může být snížena konkurencí mezi molekulami různých sloučenin při aplikaci ve směsi (Conkle et al. 2010, Lerman et al. 2013, Jung et al. 2015, Carrillo et al. 2016, Kočárek et al. 2016, Wu et al. 2017) nebo zvýšena synergií sloučenin v půdním roztoku (Kočárek et al. 2016, Zhang et al. 2017).

### 3.3.3.1 Sorpce léčiv v půdě

Sorpci na vybraných reprezentativních půdách sedmi nejčastěji se vyskytujících léčiv v odpadních a povrchových vodách České republiky publikovala studie Kodešová et al. (2015). Tato léčiva jsou atenolol, carbamazepin, clarithromycin, clindamycin, metoprolol, sulfamethoxazol a trimethoprim.

Atenolol patří do skupiny  $\beta$ -blokátorů, což jsou léčiva kardiovaskulárního systému používaná především jako antihypertenziva a léčiva ovlivňující srdeční činnost. Carbamazepin patří mezi iminostilbeny, což jsou antiepileptika 2. generace používaná pro léčbu parciálního (sekundárního) typu záchvatů vyvolaných epilepsií. Clarithromycin patří mezi makrolidy, což jsou antibiotika odvozená od erythromycinu. Clarithromycin je polysyntetické antibiotikum s vysokou účinností proti širokému spektru aerobních i anaerobních, grampozitivních i gramnegativních mikroorganismů. Clindamycin patří mezi linkosamidy, což jsou antibiotika používaná jako alternativa k léčbě infekcí vyvolaných grampozitivními a anaerobními bakteriemi u pacientů přecitlivělých na  $\beta$ -laktamová antibiotika, jako jsou například peniciliny. Metoprolol patří do skupiny  $\beta$ -blokátorů, což jsou léčiva kardiovaskulárního systému používaná především jako antihypertenziva. Toto léčivo se také používají k léčbě srdečních arytmií a ischemických onemocnění srdce. Sulfamethoxazol patří mezi sulfonamidy, což jsou antibiotika používaná k léčbě močových infekcí mající bakteriostatický účinek. Trimethoprim patří do skupiny chemoterapeutik, což jsou látky podobné antibiotikům, mají však syntetický původ. Používá se k léčbě infekcí močových cest a zánětů středního ucha pro svůj bakteriostatický účinek. Používá se v kombinaci s látkou zvanou sulfamethoxazol jako kotrimoxazol, který má účinek bakteriocidní (SÚKL 2019). Carbamazepin je jednou z nejčastěji zjištěných farmaceutických sloučenin v povrchových a podpovrchových vodách po celém světě. Jako další uvádějí studie farmaceutické látky sulfamethoxazol a trimethoprim (Fram & Belitz 2011, Godfrey et al. 2007, Huntscha et al. 2012, Li 2014, Radovic et al. 2015).

Jako reprezentativní půdy byly v této studii zvoleny černice modální, černoze modální, černoze arenická, šedoze modální, hnědoze modální, kambize modální, kambize dystrická, regoze modální, spraš a písek.

Výsledky studie vypovídají, že ve dvou případech (trimethoprim a carbamazepin) byla sorpční afinita převážně regulována obsahem organického uhlíku (Cox), což je očekávatelné u organických sloučenin (Kodešová et al. 2016). Ve čtyřech dalších případech závisela sorpce na dvou faktorech. Prvním z těchto faktorů bylo pH půdy ovlivňující ionizaci sloučenin, a druhým počet dostupných míst sorpce. Tyto faktory ovlivňovaly sorpci atenololu, clindamycinu, metoprololu a sulfamethoxazolu. V posledním případě sehrál nejvýznamnější roli faktor saturace sorpčního komplexu, jenž nastal v případě clarithromycinu (Kodešová et al. 2015).

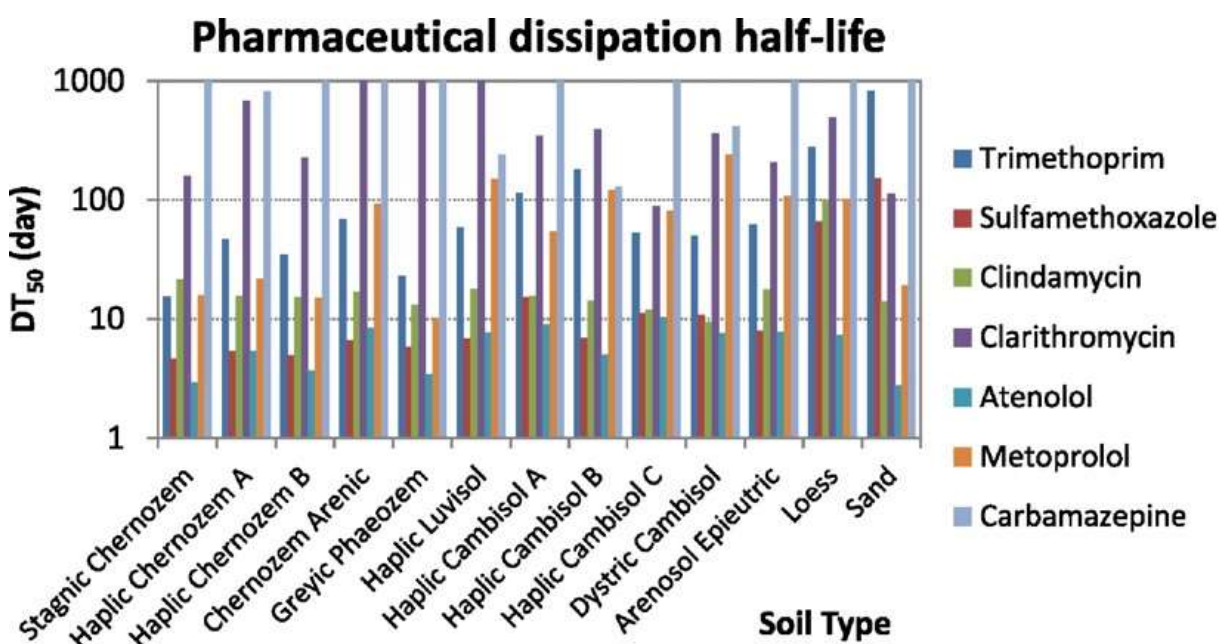
Existují také novější studie, které mají za cíl rozšířit poznatky o sorpci léčiv v životním prostředí. Jednou z takových je např. studie Klementa et al. (2018), ve které se autoři zaměřili na tři různá léčiva vyskytující se často v odpadních vodách České republiky a dalších



evropských zemích. Jedná se o léčiva citalopram, fexofenadin a irbesartan, která se svým výskytem řadí k velmi často se vyskytujícím farmaceutickým látkám v životním prostředí. Citalopram řadíme mezi antidepresiva 3. generace používaná k léčbě deprese a profylaxi před návratem onemocnění. Fexofenadin patří mezi antihistaminika, což jsou látky specificky blokuující účinky histaminu a tím zmírňující projevy alergické reakce. Irbesartan je látka ze skupiny léčiv označovaných jako antagonisté receptoru pro angiotenzin II. Používá se k léčbě hypertenze a k ochraně ledvin u pacientů s hypertenzí a diabetem 2. typu.

### 3.3.3.2 Poločas rozpadu léčiv v půdě

Studie Kodešové et al. (2016) analyzovala poločas rozpadu sedmi farmaceutických přípravků ve vybraných reprezentativních půdách České republiky.



Obr. 2. Poločas rozpadu léčiv v půdě. Zleva: půdotvorné substráty černice modální, černozem modální A, černozem modální B, černozem arenická, šedozem modální, hnědozem modální, kambizem modální A, kambizem modální B, kambizem modální C, kambizem dystrická a regozem modální, spraš a písek (Kodešová et al. 2016).

Nejvyšší perzistence v půdách podle obr. 2 byla stanovena pro carbamazepin, následovaný postupně clarithromycinem, trimethoprimem, metoprololem, clindamycinem, sulfamethoxazolem a atenololem. Záměrem studie bylo objasnit vztah mezi sorpcí léčiv a jejich poločasem rozpadu. Výsledky studie vypovídají, že farmaceutická perzistence je závislá na typu půdy, a sorpce léčiv s poločasem rozpadu působí neprůkazně. Vztah mezi sorpcí a poločasem rozpadu jednotlivých léčiv je tedy individuální (Kodešová et al. 2016).

### 3.3.3.3 Mikrobiální degradace

Mechanismy transformace léčiv v půdě jsou různé, převažuje však mikrobiální degradace. Léčiva, která v půdě podléhají mikrobiální degradaci, jsou tak rychleji metabolizována v půdách s vhodnými podmínkami pro mikroorganismy, jako jsou například černozemě než v biologicky méně kvalitních půdách, jako jsou třeba kambizemě (Kodešová et al. 2016). Řada látek, které jsou více odolné proti mikrobiální degradaci, jsou však perzistentní, a tím se zvyšuje možnost jejich absorpce do rostlin (Kodešová 2018).

### 3.3.3.4 Charakteristiky setrvávání léčiv v půdě

Stupeň odbouratelnosti zkoumaných sloučenin v půdách lze hodnotit na základě kritérií FAO (2000): snadno odbouratelný (<20 dní), poměrně odbouratelný (20-60 dní), lehce odbouratelný (60-180 dní) a velmi mírně rozložitelný (>180 dní) vypovídající nestabilitu směsi, nízkou stabilitu, stabilitu nebo vysokou stabilitu (Kodešová et al. 2016).

Kombinovaná mobilita lze určit podle stupnice FAO (2000) za použití logaritmu rozdělovacího koeficientu organického uhlíku (Log  $K_{oc}$ ): vysoce pohyblivý (<1), pohyblivý (1-2), mírně pohyblivý (3-4), špatně pohyblivý (4-5), nehybný (>5) (Kodešová et al. 2016).

Chování léčiv v životním prostředí není stále zcela objasněno a vyžaduje proto další zkoumání, zejména chování léčivých přípravků v půdách. Zhang et al. (2011) publikuje sorpci antibiotik z řad sulfonamidů v zemědělské půdě shromážděné ze tří hloubek (0-20, 20-80 a 80-100 cm), avšak jediného půdního profilu.

### 3.3.4 Vliv zavlažování přečištěnou odpadní vodou na vstup léčiv do potravního řetězce

Studie ukázaly, že se léčiva mohou akumulovat v rostlinách (Rajapaksha et al. 2014, Tanoue et al. 2012, Winke et al. 2010, Wu et al. 2010, 2012, 2013) konzumovaných lidmi i zvířaty (Kodešová et al. 2015).

V některých zemích se používá pro účely zavlažování v zemědělství přečištěná odpadní voda, nebo šedá voda („gray water“). Mezi tyto země patří například Španělsko a Izrael. Šedá voda je odpadní voda neobsahující fekálie a moč, v praxi to znamená odpadní vody vzniklé například při vaření, praní prádla, nebo osobní hygieně. Růst rostlin v kontaminované vodě nebo vlivem zavlažování šedou vodou, či přečištěnou odpadní vodou může vést k absorpci léčiv rostlinami (Kodešová 2018).

Z důvodu nedostatku pitné vody v některých zemích se stává opětovné využití upravené odpadní vody pro účely zavlažování ideálním řešením, a to zejména v aridních a semiaridních oblastech (Wu et al. 2013). Absorpce kontaminátů z odpadní vody do potravinových zdrojů ale znamená zdravotní riziko (Madikizela et al. 2018). Hlavním zdrojem léčiv ve vypěstované zelenině je použití kontaminované vody pro zavlažování (Wu et al. 2014a).

Negativní účinky některých léčiv na rostliny byly zdokumentovány v literatuře (Amy-Sagers et al. 2017, Carter et al. 2015, Kong et al. 2007, Lin & Li 2016, Marsoni et al. 2014). Tyto negativní účinky jsou například snížení růstu rostlin nebo sorpce léčiv do rostlinných tkání, odkud se léčiva dostávají do potravního řetězce. Účinky léčiv na

rostliny závisí na několika faktorech: délka expozice rostliny léčivem, koncentrace léčiva v prostředí a o jakou farmaceutickou látku se jedná (Bartrons & Peñuelas 2017). Výskyt léčiv ve vypěstované zelenině by mohl mít za následek potencionální riziko dopadu na lidské zdraví (Madikizela et al. 2018).

Zatím není přítomnost farmaceutických produktů a jejich metabolitů v potravinách a povrchových vodách nijak regulována. Výskyt léčiv v potravinových zdrojích, jako je například zelenina, může vést ke zvýšenému příjmu farmaceutických látek a jejich metabolitů lidmi. Objevuje se zde riziko příjmu vyšších dávek léčiv, než předepisují lékaři při onemocnění. Tento fakt indikuje možnost vytvoření rezistence na některé léčivé látky, jako jsou například antibiotika (Madikizela et al. 2018).

Studie v minulosti ukázaly, že většina jednotlivých léčiv nalezených v konzumovatelných tkáních rostlin nebo plodů sklizených z rostlin vystavených potenciální kontaminaci léčivy, vlivem zavlažování tzv. šedou vodou (gray water) nebo používáním čistírenských kalů coby biosolidů v zemědělství představuje minimální riziko pro lidské zdraví (Christou et al. 2017, Prosser et al. 2014, Prosser & Sibley 2015). Podobné pozorování uvádějí Ahmed et al. (2015) ve svém výzkumu, v němž zjistili vysoké podíly sulfonamidů v nekonzumovatelných částech některých rostlin (Madikizela et al. 2018). Tyto části byli zejména kořeny a listy okurek a rajčat, přičemž plody těchto rostlin obsahovaly koncentrace sulfonamidů výrazně nižší, než jsou přijatelné denní dávky (Ahmed et al. 2015).

Vlivem omezené translokace mnohých léčiv v rostlinách a transformací látek v rostlinách se riziko nechtěné konzumace těchto látek snižuje (Kodešová 2018).

Studie Fedorové et al. (2016) však prokázala, že jsou-li konzumovány kontaminované části rostlin jako kořeny, listy nebo plody, dochází k akumulaci některých látek v lidském organismu. Tyto látky byly carbamazepin a jeho metabolity, které se do vypěstované zeleniny dostaly vlivem zavlažování přečištěnou odpadní vodou.

V poslední době se zvyšuje počet studií zaměřených na výskyt léčiv ve vodních zdrojích zahrnující také pitnou vodu (Madikizela et al. 2018). Bylo však zjištěno, že průnik léčiv do potravního řetězce je stejně nebo více potencionálně nebezpečný v porovnání s kontaminací pitné vody (Shenker et al. 2011). Měly by proto být provedeny další studie týkající se výskytu léčivých přípravků v potravinách (Madikizela et al. 2018).

Předpokládá se však, že s rostoucím trendem a poptávkou po využití alternativních zdrojů zavlažování a zvýšenému používání čistírenských kalů z ČOV na zemědělské půdě se zvýší koncentrace farmaceutických zbytků v půdě. Tento předpoklad znamená hrozbu, jež přináší léčiva obsažená ve vypěstované zelenině a měl by být předmětem dalšího zkoumání (Carter et al. 2014). Zaměření se postupně rozšiřuje i na další farmaceutické přípravky (Madikizela et al. 2018).

### **3.3.5 Aplikace čistírenských kalů na zemědělské půdy**

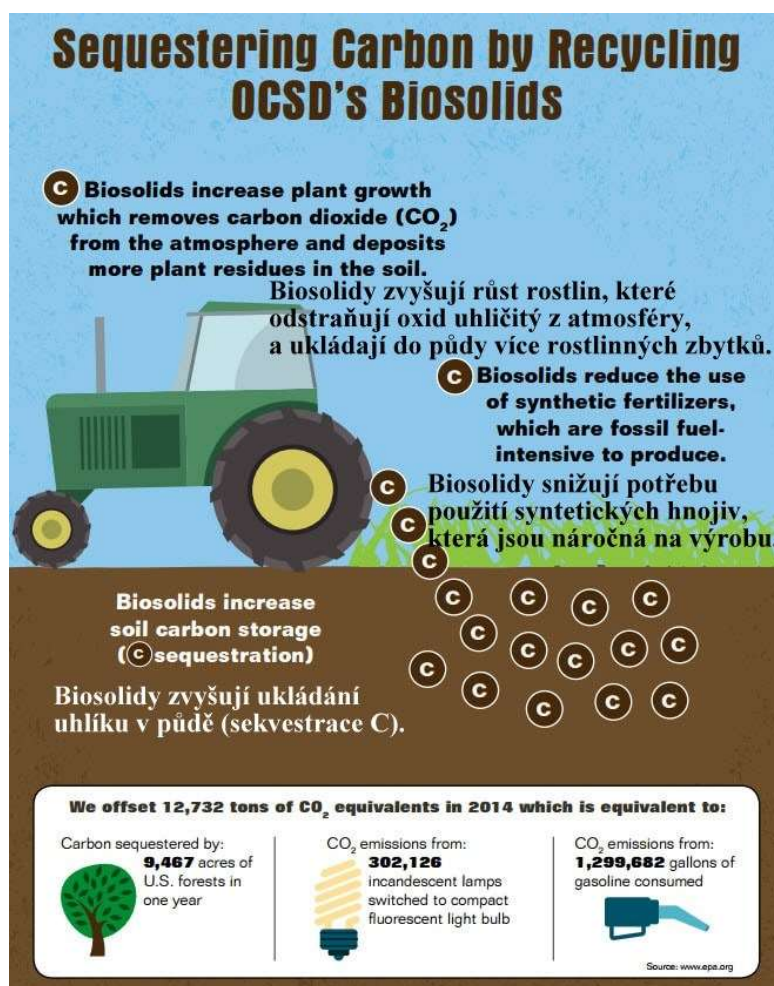
Stopy léčiv můžeme nalézt v kalu a sedimentech (Andersen et al. 2003), které mohou způsobovat znečištění povrchových a podpovrchových vod vlivem jejich vypouštění do životního prostředí (Ternes et al. 2002). Dalším rizikovým faktorem způsobující únik léčiv do životního prostředí je přímá kontaminace z netěsností kanalizací (Kodešová et al. 2015).

Léčiva se dostávají do zemědělské půdy s čistírenskými kalů, protože ČOV obvykle nejsou schopny při čistírenském procesu léčiva z odpadních vod zcela odstranit (Madikizela et al. 2018). Růst rostlin v kontaminované půdě nebo půdě hnojené čistírenským kalem může vést k absorpci léčiv rostlinami (Madikizela et al. 2018). Farmaceutické látky mohou být sorbovány v půdě, nebo transportovány do povrchové a podpovrchové vody odtokem a procesem zasakování (Thiele-Bruhn 2003). Studie totiž dokázaly, že rostliny v sobě mohou léčiva různými mechanismy akumulovat.

Pravděpodobným zdrojem léčiv v oblasti potravinových zdrojů může být použití kalů z ČOV jako hnojiva zemědělských půd. Avšak Cortés et al. (2013) nezaznamenali detekovatelnou koncentraci NSAID v sóji ani pšenici pěstovaných za použití kalu jako hnojiva.

Nadruhou stranu studie na základě analýzy čistírenských kalů z pěti ČOV na Slovensku odhaduje, že je v této zemi za jeden rok do půdy deponováno až 256 kg léčiv, přičemž převážnou většinu tvoří antihistaminika (45,4 %), kardiovaskulární léčiva (21,2 %) a psychoaktivní látky (14,5 %) (Ivanová et al. 2018).

Pokud se pro úpravu fyzikálních půdních vlastností používají biosolidy, můžeme je považovat taktéž za pravděpodobný zdroj kontaminace zemědělské půdy léčivy (Thiele-Bruhn 2003, Verlicchi & Zambello 2015). Biosolidy jsou upravené kalů z odpadních vod sloužící jako půdní kondicionéry, mají tedy účelně zlepšovat fyzikální půdní vlastnosti.



Obr. 3 Sekvestrace uhlíku recyklací za použití biosolidů, upraveno dle Orange County Sanitation District (OCSD 2016).

Mezi příznivé účinky biosolidů patří mimo jiné snížení náročnosti půdy na hnojení průmyslovými hnojivy, která se většinou vyrábí za použití fosilních paliv, jak je uvedeno na obr. 3. Některé země, jako například USA, významně podporují využívání upravených čistírenských kalů coby biosolidů. Objevují se zde také oficiální vyjádření hodnostářů k ochraně lidského zdraví v problematice biosolidů. Greg Kester, ředitel programů pro obnovitelné zdroje Kalifornské asociace sanitačních agentur (CASA), slíbil v roce 2016 svým spoluobčanům pravidelné kontroly upravených kalů aplikovaných na zemědělskou půdu v celé Kalifornii (OCSD 2016).

Je odhadováno (Eurostat 2018, Kelessidis & Stasinakis 2012), že přímá aplikace kalů do půdy nebo aplikace po jejich kompostování představuje více než 50 % z vyprodukovaného množství kalů v EU (Kodešová 2018).

Vyhláška č. 382/2001 Sb. Ministerstva životního prostředí o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě (tab. 2) jasně stanovuje mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě.

Tab. 2. Příloha č. 3 k vyhlášce č. 382/2001 Sb. Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (Ministerstvo životního prostředí 2001).

<b>Riziková látka</b>	<b>Mezní (maximální) hodnoty koncentrací v kalech v mg. kg<sup>-1</sup> sušiny</b>
As	30
Cd	5
Cr	200
Cu	500
Hg	4
Ni	100
Pb	200
Zn	2500
AOX	500
PCB (suma 6 kongenerů - 28+52+101+138+153+180)	0,6

V současné době však neexistuje v České republice legislativní rámec pro znečištění farmaceutickými látkami. Znamená to tedy, že nejsou nastaveny žádné limity například pro mezní hodnoty koncentrací farmaceutických látek a jejich metabolitů v kalech z ČOV pro jejich použití na zemědělské půdě, jako je tomu u rizikových prvků. Tato problematika obsahu čistírenských kalů používaných jako hnojiva a biosolidy by měla být podrobena dalšímu zkoumání, zejména v oblasti stanovení limitů pro léčiva nejčastěji se vyskytující v životním prostředí.

### **3.3.6 Vliv chovu hospodářských zvířat na výskyt kontaminace životního prostředí léčivy**

Přítomnost lidských a veterinárních léčiv v životním prostředí je uznávána jako potenciální ekologická hrozba (Boxall et al. 2012, Fent et al. 2006, Ternes et al. 2002). Spotřeba lidských i veterinárních léčiv se každoročně zvyšuje. Bylo zdokumentováno, že jejich uvolňování do životního prostředí se pohybuje od 10 do 25 % (Meyer Jones et al. 1977) aplikované dávky léčiv. Podle jiné studie se do životního prostředí dostane až 75 % (Elmund et al. 1971) aplikovaných dávek.

Existuje řada potenciálních zdrojů kontaminace povrchové a podpovrchové vody s různými možnostmi jejich výskytu. Jedním z výrazných zdrojů takové kontaminace jsou statková hnojiva vznikající při chovu hospodářských zvířat.

Statková hnojiva se používají jako zdroj organických hnojiv a jsou běžně aplikována v zemědělství (Bin Ho et al. 2014, Tanoue et al. 2012, Wu et al. 2014b). Jedná se zejména o chlévský hnůj, kejdu a močůvku. Chlévský hnůj je tuhé statkové hnojivo vzniklé fermentací chlévské mrvy, což je směs podestýlky a exkrementů hospodářských zvířat. Kejda je naopak tekuté statkové hnojivo vyznačující se částečnou fermentací směsí exkrementů hospodářských zvířat, jejich podestýlky, zbytků krmiv a vody. Močůvka je tekuté statkové hnojivo vzniklé fermentací moči hospodářských zvířat (Stupka et al. 2013).

Neméně významným je vstup farmaceutických kontaminantů do půdy prostřednictvím extenzivního chovu hospodářských zvířat, tedy vlivem zvířat pasených na pastvinách (Popot et al. 2007).

Výskyt léčiv v životním prostředí závisí na spotřebě léčiv populací a spotřebě veterinárních léčiv (Kodešová et al. 2016). Podíl veterinárních léčiv na kontaminaci prostředí se však díky tlaku odborné i laické veřejnosti na kvalitu potravin postupně snižuje (Kodešová 2018).

### **3.3.7 Antibiotika jako zdroj kontaminace léčivy**

Antibiotika jsou široká skupina léčiv, jež se dělí do několika farmaceutických skupin a slouží k léčbě bakteriálních infekcí svými bakteriostatickými nebo bakteriocidními účinky.

Stopy různých koncentrací těchto léčiv byly často zjištěny v životním prostředí, zejména v odpadních vodách, kde některá léčiva této široké farmaceutické skupiny vykazují relativní perzistenci a nejsou během čištění odpadní vody odstraněna (Golovko et al. 2014, Zhang et al. 2014). Některé země proto regulují použití vycištěné odpadní vody z ČOV zákonem, příkladem takové země je Itálie (Del Re et al. 2007). Zavlažování zemědělské půdy takovou vodou může být totiž zdrojem kontaminace půdy léčivy včetně ATB.

Hlavním důvodem obav z výskytu antibiotik v životním prostředí, zejména v zemědělství, je potenciální vznik rezistence vůči mikroorganismům (Bebora et al. 1994, Heelan et al. 2004, Kristiansson et al. 2011), který může vést k problémům při léčbě onemocnění způsobené bakteriemi. Použití antibiotik ve veterinární medicíně má za následek kontaminaci zemědělských ploch vlivem aplikace statkových hnojiv (Koba et al. 2017). Sulfamethoxazol je široce využíván ve veterinární medicíně (Bottari et al. 2015,

Compiani et al. 2015, Matozzo et al. 2015, McClure et al. 2015, Phu et al. 2015) k léčbě infekcí respiračního systému a močových cest (McCarthy et al. 1999). Lze uvést například veterinární léčivé přípravky Meditek Trisulfa 200/40 mg/g premixu k léčbě infekcí respiračních a gastrointestinálních onemocnění u prasat nebo Methoxasol 20/100 mg/ml roztoku k léčbě respiračních infekcí u prasat a brojlerů (ÚSKVBL 2019).

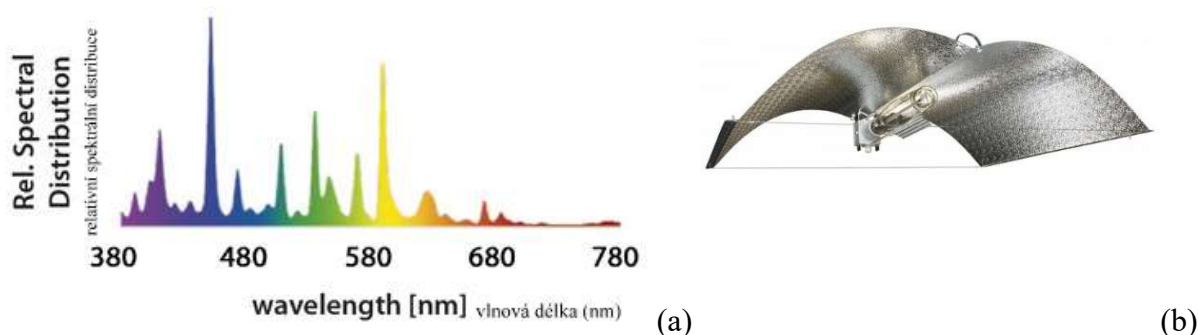
Některé studie se zabývají osudem vybraných antibiotik v různých typech půd (Koba et al. 2017, Kodešová et al. 2015, 2016, Li et al. 2015, Liu et al. 2010, Srinivasan & Sarmah 2014, Wu et al. 2012). Bylo například prokázáno, že i pouhé metabolity antibiotik mohou zachovat svou farmaceutickou aktivitu (Johns et al. 2005).

## 4 Materiál a metody

V experimentu byl řešen vliv pH hydroponního roztoku na vstřebávání směsi léčiv vybranými modelovými rostlinami. Jako modelové rostliny byly vybrány špenát setý (*Spinacia oleracea* L. hybrid Clarinet F1) a roseta setá (*Eruca sativa* (L.) Mill. hybrid Speedy). Optimální pH půdy pro pěstování těchto rostlin je 6,0 – 7,5 u špenátu setého a 6,0 – 6,8 u rosety seté (SEMO a.s. 2019). Experiment probíhal ve třech zvolených hodnotách pH hydroponního roztoku, tyto hodnoty byly 5,0; 6,5 a 8,0 pro obě dvě vybrané modelové rostliny. Každá varianta měla čtyři opakování v jedné soustavě s jednou udržovanou hodnotou pH. Všechny varianty experimentu měly svou kontrolní hydroponní soustavu bez přídavku léčiv. Experiment probíhal celkem 38 dní.

Experiment probíhal ve skleníku katedry pedologie a ochrany půd v prostorách skleníků FAPPZ v areálu ČZU. Skleníková kóje byla vybavena umělým osvětlením, které modelovým rostlinám nahrazovalo sluneční svit a teplo potřebné k růstu. Jako zdroj světla byly použity metalhalidové výbojky od německé firmy GIB lighting, které vyzařují modrobílé světlo a jsou vhodné pro růstovou fázi rostlin. Výbojky měly rozšířené růstové spektrum záření (obr. 4a), které mělo zabránit předčasnému kvetení rostlin. Zářiče GIB lighting Growth Spectrum Advanced o výkonu 600 W měli za cíl zajistit zdroj světla a tepla pro růst modelových rostlin. Světelný režim udržovaný těmito zářiči měl frekvenci 12 h svícení a 12 h tmy. Technické parametry zářičů GIB lighting: výkon 600 W, svítivost 48 000 lm, teplota chromatičnosti 8000 K. Zářiče byly připojeny přes předřadník Galaxy DBX 600.

Pro efektivní využití světla i tepla vytvářeného zářiči byla použita profesionální pěstební stínidla australského výrobce Adjust A Wings (obr. 4b). Prostor skleníku byl vybaven nastavitelnými clonami reagujícími na výkyvy teploty uvnitř prostoru, ve kterém experiment probíhal. Systém byl nastaven, aby udržoval v prostoru kóje teplotu 24 °C přes den a 18 °C v noci. Součástí systému na udržování teploty byla také výkonná klimatizace. Mezi vybavení skleníku lze také zařadit instalaci žlutých a modrých lepenkových desek, sloužících jako prevence vlivu hmyzích škůdců.

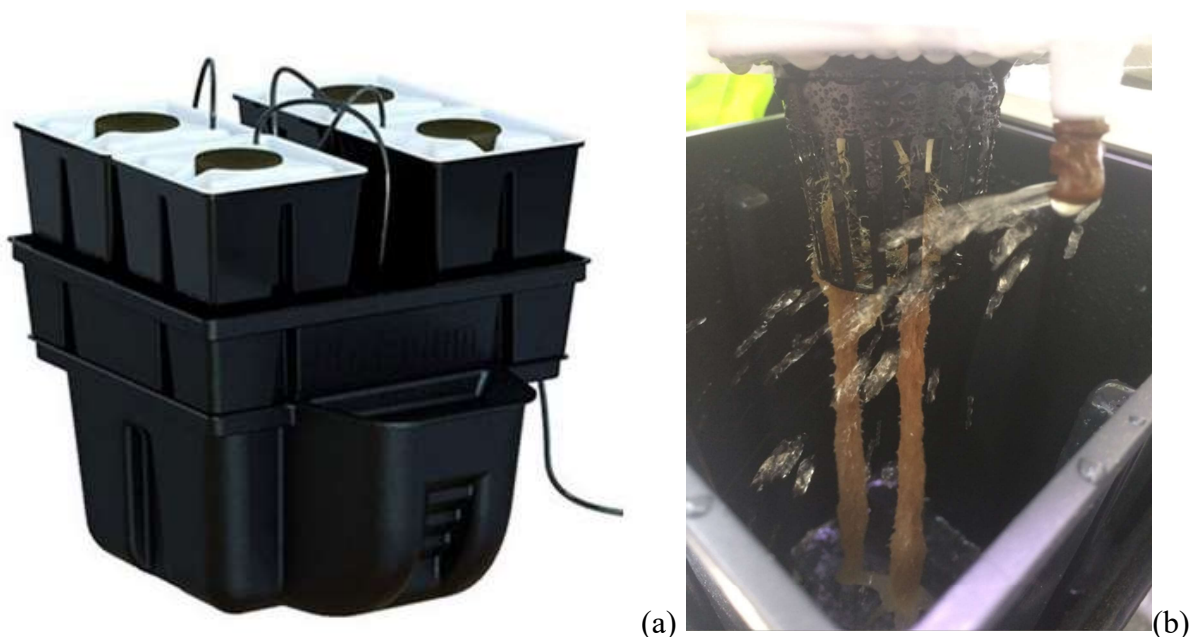


Obr. 4. Spektrum použitého zářiče „GIB lighting Growth Spectrum Advanced 600 W“ (a) (GIB Lighting 2019) a stínidlo výrobce Adjust A Wings typu enforcer L (b) (GrowGarden 2019).



## 4.1 Hydroponické soustavy

Pro laboratorní experiment bylo použito dvanáct hydroponických soustav. Konkrétně se jednalo o soustavy s názvem AERO-STAR 40 od výrobce Platinium (obr. 5a, 7). Jedna hydroponická soustava se skládala z nádrže o objemu 16 L, na níž byla položena deska, tvarovaná pro čtyři nádoby, nesoucí rostliny přichycené v neoprenovém kroužku. Napájení nádob hydroponickým roztokem zabezpečovalo čerpadlo o maximálním průtoku ( $Q_{MAX}$ ) 600 L/h, které rozvádělo čtyřmi hadičkami zakončenými tryskami vodu do nádob s rostlinami, přičemž každou nádobu zásobovala jedna hadička s tryskou. Princip fungování rozstříku živného roztoku tryskou na kořeny rostlin uvnitř jednoho z květináčů je zachycen na obr. 5b.



Obr. 5. Hydroponická soustava výrobce Platinium AERO-STAR 40 (a) (GrowGarden 2019) a detail distribuce hydroponického roztoku v soustavách (b) (vlastní fotodokumentace).

Modelové rostliny, špenát setý a roketka setá, byly předpěstovány ze semen (obr. 6) a až poté přesazeny do hydroponických soustav. Předpěstování probíhalo 24hodinovým namočením semen, po kterém následovalo vysetí do substrátu. Semena roketky seté vyklíčila po třech dnech, špenátu setého po čtyřech dnech. Klíčení špenátu setého probíhalo za snížené teploty vhodné k jeho klíčení, což byla teplota 8 °C. Po sedmi deních růstu v substrátu bylo potřebné množství nejlépe vzrostlých rostlin přemístěno do hydroponických soustav. Do každé nádoby byly přesazeny tři předpěstované rostliny (obr. 9), tedy do každé soustavy dvanáct rostlin (obr. 7, 8).



(a)

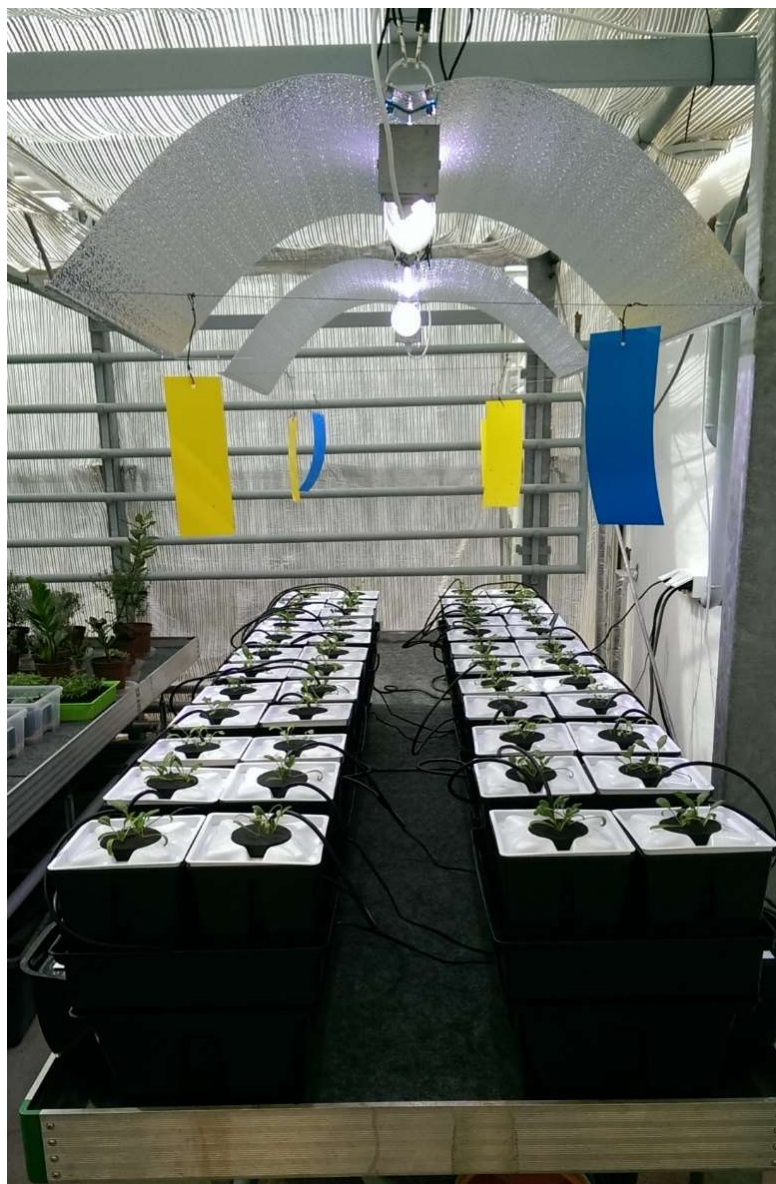


(b)

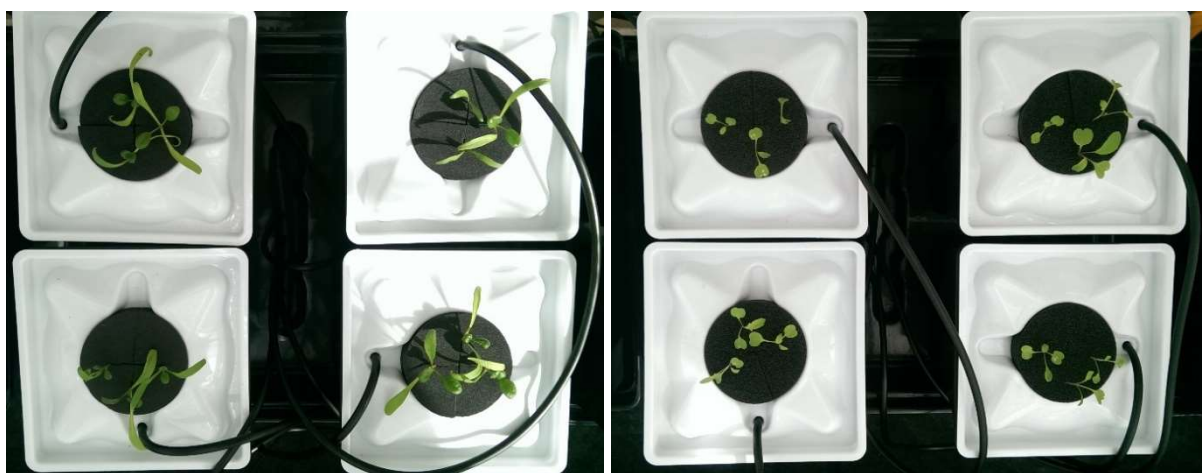
Obr. 6. Klíčení špenátu (a) a rukoly (b) v substrátu (vlastní fotodokumentace).



Obr. 7. Hydroponní soustavy před zahájením experimentu (vlastní fotodokumentace).



Obr. 8. Hydroponické soustavy při zahájení experimentu (vlastní fotodokumentace).



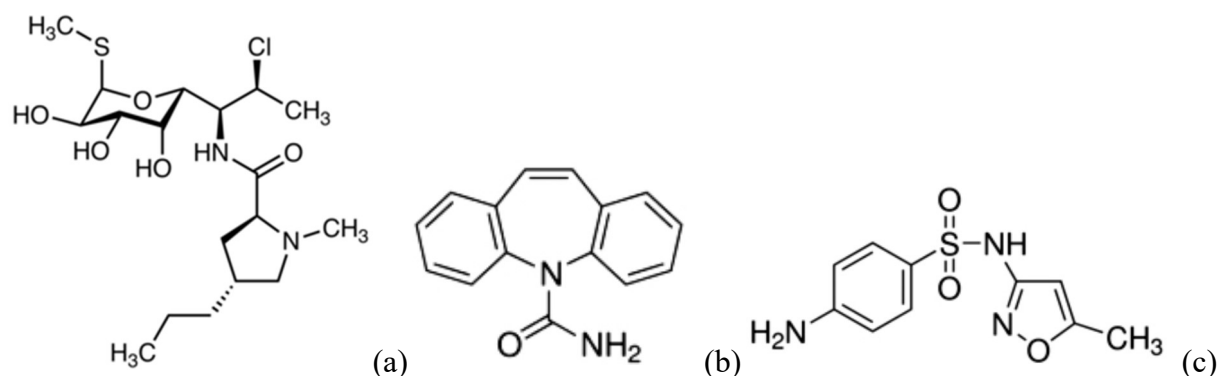
(a)

(b)

Obr. 9. Pohled shora na hydroponní soustavu špenátu (a) a rukoly (b) při zahájení experimentu (vlastní fotodokumentace).

#### 4.1.1 Mix přidaných léčiv

Do hydroponních soustav v rámci experimentu byl na počátku přidán mix léčiv do šesti z dvanácti soustav, zbylých šest soustav bylo využito pro kontrolní variantu, tedy bez přídavků léčiv. Jednalo se mix léčiv označený jako „O-mix“, kterého byl do soustav přidán přídavek o objemu 100 mL, a který měl odpovídat vypočítané koncentraci  $0,01 \text{ mg. L}^{-1}$  mixu léčiv (konečná koncentrace v soustavách). Zásobní roztok mixu léčiv obsahoval tyto látky: carbamazepin, clindamycin, sulfamethoxazol rozpuštěné v destilované vodě. Vypočítaná koncentrace léčiv v zásobním roztoku byla  $16,60 \text{ mg. L}^{-1}$  carbamazepinu,  $16,27 \text{ mg. L}^{-1}$  clindamycinu a  $16,15 \text{ mg. L}^{-1}$  sulfomethoxazolu (reálné koncentrace byly změřeny na  $18,40 \text{ mg. L}^{-1}$  carbamazepinu,  $24,00 \text{ mg. L}^{-1}$  clindamycinu a  $20,00 \text{ mg. L}^{-1}$  sulfamethoxazolu). Přídavek léčiv byl přidán během experimentu celkem dvakrát, důvodem byla výměna hydroponního roztoku v soustavách po prvním odběru rostlin ve 21. dni experimentu. Podruhé byla koncentrace léčiv v zásobním koncentrovaném roztoku obdobná, vypočítané koncentrace byly  $16,11 \text{ mg. L}^{-1}$  carbamazepinu,  $16,12 \text{ mg. L}^{-1}$  clindamycinu a  $16,19 \text{ mg. L}^{-1}$  sulfamethoxazolu (reálné koncentrace byly změřeny na  $17,00 \text{ mg. L}^{-1}$  carbamazepinu,  $19,40 \text{ mg. L}^{-1}$  clindamycinu a  $17,00 \text{ mg. L}^{-1}$  sulfamethoxazolu). Zásobní roztoky byly namíchány dvakrát, z důvodu vyloučení degradace léčiv v prvním zásobním roztoku. Výsledná změřená koncentrace léčiv v soustavách po naředění (carbamazepin  $0,14 \text{ mg. L}^{-1}$ , clindamycin  $0,17 \text{ mg. L}^{-1}$ , sulfamethoxazol  $0,04 \text{ mg. L}^{-1}$ ) byla zvolena tak, aby odpovídala reálnému výskytu těchto látek v životním prostředí (Kodešová et al. 2015).



Obr. 10. Strukturální vzorec clindamycinu (a), carbamazepinu (b) a sulfamethoxazolu (c) (Kodešová et al. 2016, Koba et al. 2017).

Všechna zkoumaná léčiva použitá v experimentu byla zakoupena od společnosti TCI chemicals a mají 98% analytickou čistotu (p.a.) v případě clindamycinu a sulfamethoxazolu, a 97% analytickou čistotu (p.a.) v případě carbamazepinu.

#### 4.1.2 Hnojivo

Vlivem pěstování v hydroponických podmínkách jsme přišli o minerální látky, které se přirozeně vyskytují v půdě. Museli jsme je proto nahradit potřebným hnojivem. Hnojivo BioSevia od výrobce General Hydroponics použité při experimentu bylo aplikováno v množství 5 mL na soustavu jako startovací dávka. Přídavek hnojiva byl přidán během experimentu

celkem dvakrát, důvodem byla výměna vody v soustavách po prvním odběru rostlin ve 21. dni experimentu. Hnojivo však nebylo jediným způsobem dodávání minerálních látek do hydroponních podmínek, v malé míře mohl být přísun pro rostliny i v podobě látek užívaných pro úpravu pH. Látky používané k úpravě pH byly hydrogenuhličitan sodný a kyselina citronová.

## 4.2 Měření pH a salinity

Měření hodnot pH během laboratorního experimentu bylo prováděno mobilním pH metrem Combo pH & EC tester od značky Hanna instruments (obr. 11).

Hodnoty byly měřeny a zaznamenávány včetně salinity hydroponních roztoků. Salinita byla měřena v jednotkách mS a důvodem jejího zaznamenávání byla kontrola zasoření živného roztoku hydroponních soustav a orientační přehled o zásobení živinami. Udržované hodnoty pH hydroponních soustav (5,0; 6,5; 8,0) byly zaznamenávány do laboratorního deníku pro zpracování výsledků experimentu.

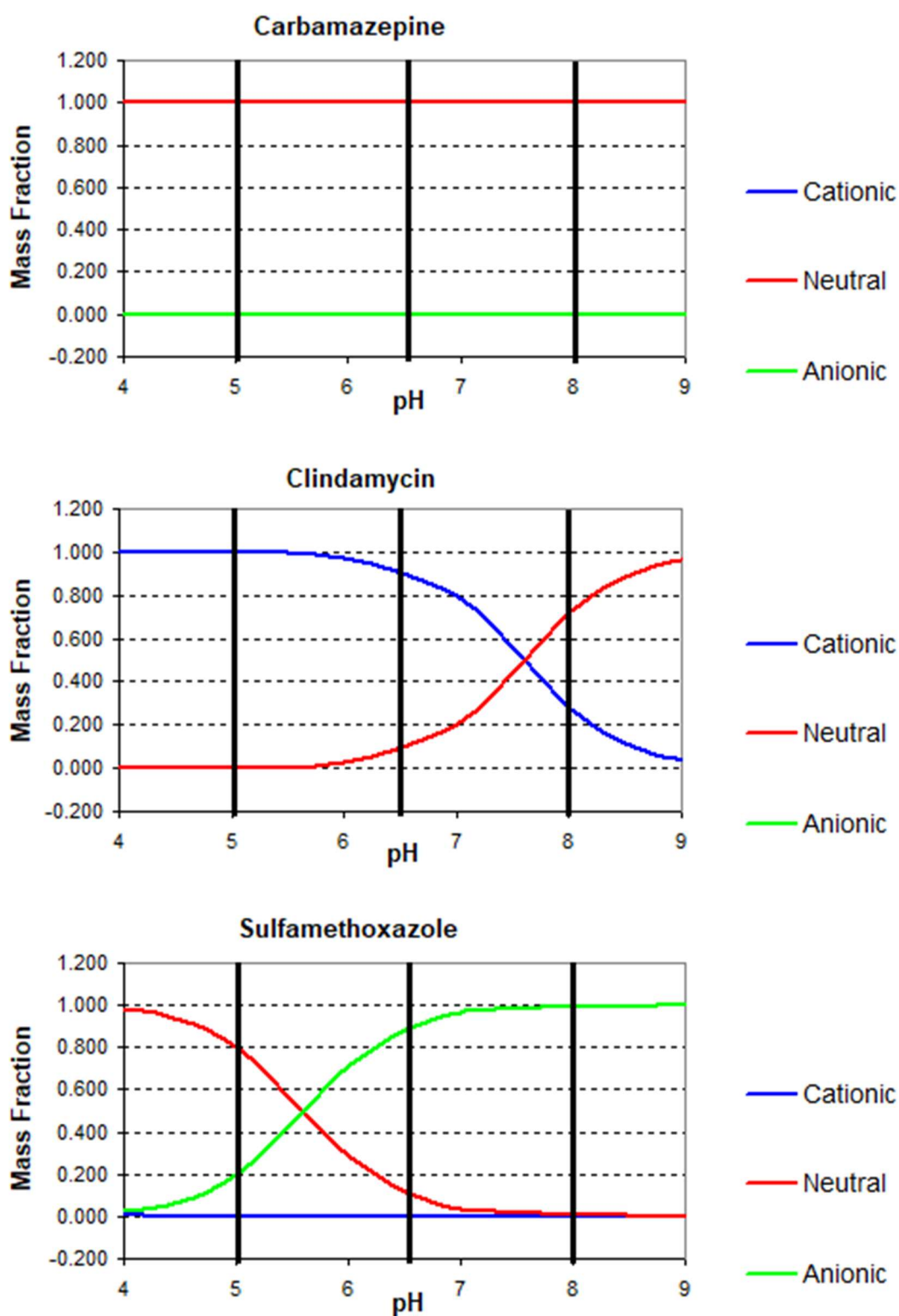
Úprava pH hydroponních roztoků byla prováděna dle potřeby, minimálně obden, pH bylo udržováno pomocí 2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylové kyseliny (kyselina citronová) a hydrogenuhličitanu sodného ( $\text{NaHCO}_3$ ).



Obr. 11. Combo pH & EC tester od značky Hanna Instruments (Hanna Instruments 2019).

### 4.2.1 Výběr pH hydroponního roztoku

Hodnoty pH hydroponního roztoku byly vybrány podle obr. 12 tak, aby se v hydroponním roztoku léčiva vyskytovala ve více formách, jak popisuje kapitola 3.3.2.1 Vztah sorpce k ionizaci sloučenin. Carbamazepin se ve všech soustavách vyskytoval v neutrální formě. Clindamycin se však mohl vyskytovat v kationtové a neutrální formě a sulfamethoxazol v neutrální a aniontové formě (obr. 12).



Obr. 12. Hmotnostní frakce kationtových, neutrálních a aniontových variant studovaných léčiv (carbamazepinu, clindamycinu a sulfamethoxazolu) upraveno dle Kočárka et al. (2016).

Hmotnostní frakce kationtových, neutrálních a aniontových druhů sloučenin pro léčiva vybraná do experimentu (obr. 12) byla vypočtena s použitím hodnot pKa (tab. 4) a rovnic

(obr. 13) podle Kočárka et al. (2016). V grafech jsou pomocí svislých černých linií vyznačeny tři hodnoty pH, které byly zkoumány během experimentu.

$$\begin{aligned} \alpha_{cationic} &= 1 / \left( 1 + 10^{(pH-pKa1)} + 10^{(2pH-pKa1-pKa2)} \right) & \alpha_{cationic} &= 1 / \left( 1 + 10^{(pH-pKa)} \right) \\ \alpha_{neutral} &= 1 / \left( 1 + 10^{(pKa1-pH)} + 10^{(pH-pKa2)} \right) & \alpha_{neutral} &= 1 / \left( 1 + 10^{(pKa-pH)} \right) \\ \alpha_{anionic} &= 1 / \left( 1 + 10^{(pKa2-pH)} + 10^{(pKa1+pKa2-2pH)} \right) \end{aligned}$$

(a) (b)

Obr. 13. Rovnice pro výpočet hmotnostních frakcí kationtových, neutrálních a aniontových variant carbamazepinu a sulfamethoxazolu (a) a hmotnostních frakcí kationtových a neutrálních variant clindamycinu (b) (Kočárek et al. 2016).

Tab. 3. Koeficient  $k_R$ , determinační koeficient ( $R^2$ ) a poločas rozpadu ( $DT_{50}$ ) pro carbamazepin (CAR), clindamycin (CLI) a sulfamethoxazol (SUL), upraveno dle Kodešové et al. (2016).

Léčivo	CAR			CLI			SUL		
	$k_R$ (den <sup>-1</sup> )	$R^2$	$DT_{50}$	$k_R$ (den <sup>-1</sup> )	$R^2$	$DT_{50}$	$k_R$ (den <sup>-1</sup> )	$R^2$	$DT_{50}$
Černice modální			>1000	0,0325	0,987	21,3	0,1489	0,895	4,66
Černozem modální A	0,0008	0,498	819,68	0,0447	0,922	15,5	0,1280	0,966	5,42
Černozem modální B			>1000	0,0445	0,981	15,3	0,1388	0,971	4,99
Černozem arenická			>1000	0,0408	0,977	17,0	0,1059	0,898	6,54
Šedozezem modální			>1000	0,0535	0,976	12,9	0,1188	0,995	5,83
Hnědozem modální	0,0029	0,812	239	0,0387	0,967	17,9	0,1010	0,980	6,86
Kambizezem modální A			>1000	0,0447	0,989	15,5	0,0459	0,925	15,1
Kambizezem modální B	0,0053	0,812	129	0,0493	0,992	14,1	0,1001	0,936	6,92
Kambizezem modální C			>1000	0,0579	0,995	12,0	0,0617	0,966	11,2
Kambizezem dystrická	0,0017	0,429	418	0,0744	0,961	9,32	0,0646	0,962	10,7
Regozem modální			>1000	0,0391	0,914	17,7	0,0869	0,970	7,98
Spraš			>1000	0,0070	0,796	99,1	0,0106	0,933	65,6
Písek			>1000	0,0236	0,905	29,4	0,0045	0,946	152
Všechny substráty									
Průměrná hodnota $DT_{50}$			-			22,8			23,4
Směrodatná odchylka			-			23,4			42,0
Rozsah			-			89,8			148

Průměrná hodnota  $DT_{50}$ , směrodatná odchylka a rozsah nemohly být vypočteny pro carbamazepin kvůli jeho perzistenci v některých půdotvorných substrátech.

V tab. 3 jsou zaznamenány některé faktory ovlivňující chování léčiv ve vybraných půdách (studie Kodešové et al. 2016), jedním z takových faktorů je poločas rozpadu léčiv ( $DT_{50}$ ). Carbamazepin je v půdě vysoce stabilní látkou s dlouhým poločasem rozpadu, který ve vybraných půdách přesahuje i 1000 dní. Clindamycin je poměrně rychle degradující látkou, má však stabilnější metabolity. Průměrná hodnota pro poločas rozpadu clindamycinu v půdách je 20 dní. Sulfamethoxazol je velmi rychle degradující látkou s nejčastějším poločasem rozpadu v půdách pouhých 5–10 dní. Dalším faktorem může být rychlostní konstanta ( $k_R$ ).

Tab. 4. Disociační konstanty (pKa), rozdělovací koeficient n-oktanol voda ( $K_{ow}$ ) a molekulová hmotnost (MW) pro carbamazepin (CAR), clindamycin (CLI) a sulfamethoxazol (SUL).

CAR				CLI				SUL			
pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	log $K_{ow}$	MW (g mol <sup>-1</sup> )	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	log $K_{ow}$	MW (g mol <sup>-1</sup> )	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	log $K_{ow}$	MW (g mol <sup>-1</sup> )
1,0	13,9	2,25	236,27	7,72	-	2,16	461,44	1,7	5,6	0,89	253,28

Schopnost perzistence látek v životním prostředí je dána několika faktory (tab. 4), jedním z takových faktorů může být  $K_{ow}$ , který je relativním indikátorem tendence látky sorbovat se v půdě či živých organismech. Carbamazepin a clindamycin mají vyšší tendenci k bioakumulaci, zatímco sulfamethoxazol velice nízkou. Dalším faktorem je molekulová hmotnost sloučeniny. Molekuly s vyšší molekulovou hmotností bývají v prostředí více perzistentní (Kodešová et al. 2015).

Tab. 5. Metabolity zkoumaných léčiv nalezené v živném roztoku a ve vzorcích rostlin.

Metabolit	CAS	MW (g mol <sup>-1</sup> )	log $K_{ow}$	vodíkové vazby donor, akceptor
Carbamazepine-10,11-epoxide	36507-30-9 <sup>c</sup>	252,27 <sup>b</sup>	1,26 <sup>b</sup>	1, 2 <sup>c</sup>
Oxcarbazine	28721-07-5 <sup>c</sup>	252,27 <sup>c</sup>	1,11 <sup>c</sup>	1, 2 <sup>c</sup>
10,11-Dihydroxycarbamazepine	58955-93-4 <sup>c</sup>	270,29 <sup>c</sup>	0,71 <sup>b</sup>	3, 3 <sup>c</sup>
Clindamycin sulfoxide	22431-46-5 <sup>c</sup>	477,44 <sup>a</sup>	-0,98 <sup>a</sup>	5, 8 <sup>c</sup>
N4-Acetylsulfamethoxazole	21312-10-7 <sup>c</sup>	295,31 <sup>c</sup>	0,86 <sup>c</sup>	2, 6 <sup>c</sup>

(a) ChEMBASE (ChEMBASE 2014), (b) ChEMSPIDER (Royal Society of Chemistry 2015), (c) PubChem (Pub Chem 2019)

Tab. 5 reprezentuje metabolity léčiv detekované ve vzorcích a charakterizuje je za pomoci uvedených charakteristik. Jak je uvedeno výše v popisu tabulky 4, molekulová hmotnost (MW) může souviset se schopností látky setrvat v životním prostředí, protože látky s vyšší molekulovou hmotností bývají v prostředí více perzistentní. Clindamycin sulfoxid má vyšší molekulovou hmotnost než clindamycin. V porovnání s hodnotami log  $K_{ow}$  uvedenými v tab. 4 vidíme, že metabolity nejsou na základě rozdělovacího koeficientu n-oktanol voda perzistentní. Vodíkové vazby jsou také jedním z faktorů na základě, kterého se metabolity léčiv charakterizují.

### 4.3 Měření výšky hladiny a výparu

Výška hladiny vody v soustavách byla pravidelně měřena za pomoci pravítka a hodnoty zaznamenávány pro kontrolu úbytku a zpracování spotřeby vody (kapitola 10.2).

Během celého experimentu byl měřen výpar z plochy z důvodu kontroly (obr. 14). Měření výparu umožňovalo provádět bilanci množství živného roztoku vytranspirovaného rostlinami. Odečteme-li od živného roztoku výpar, dostaneme příjem vody pro rostliny, které transpirací spotřebovávají také léčiva z živného roztoku hydroponie.

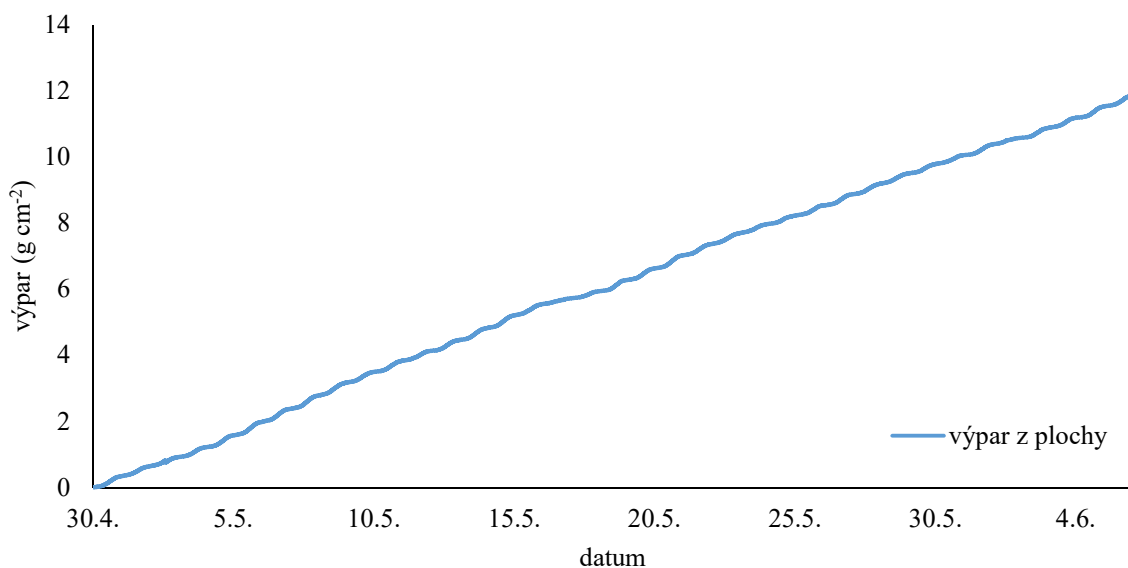


Výpar z volné hladiny byl měřen za pomoci přenosného počítače, analytické váhy a skleněné Petriho misky o průměru 19,7 cm a ploše 305 cm<sup>2</sup>.

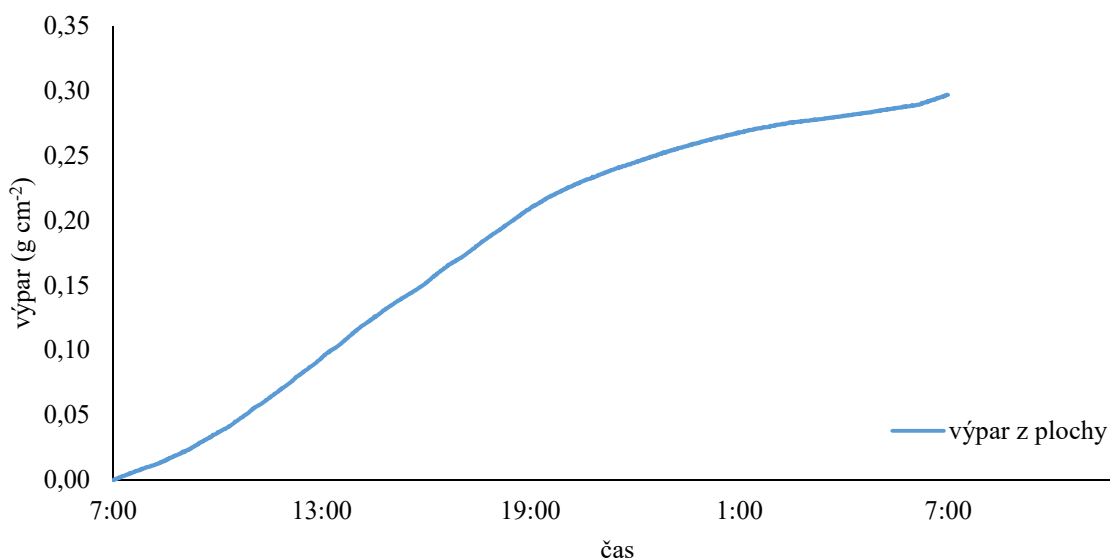
Výsledky byly po zpracování vyneseny do grafů. Z celkového výparu volné hladiny, který prezentuje obr. 15a, není očividný rozdíl mezi dnem a nocí. Byl proto vytvořen obr. 15b odpovídající intenzitě výparu přes den a v noci za časový úsek 24 hodin. Bylo zjištěno, že výpar byl intenzivnější přes den vlivem slunečního počasí během experimentu, a naopak méně intenzivní přes noc (obr. 15b).



Obr. 14. Měření výparu z volné hladiny v prostoru skleníku (vlastní fotodokumentace).



(a)



(b)

Obr. 15. Výpar vody z volné hladiny v prostoru skleníku z celé doby trvání experimentu (a) a výpar vody z volné hladiny v prostoru skleníku ze dne 28. – 29. 5. 2018 (24 hodin) (b).

#### 4.4 Odběr vzorků hydroponního roztoku

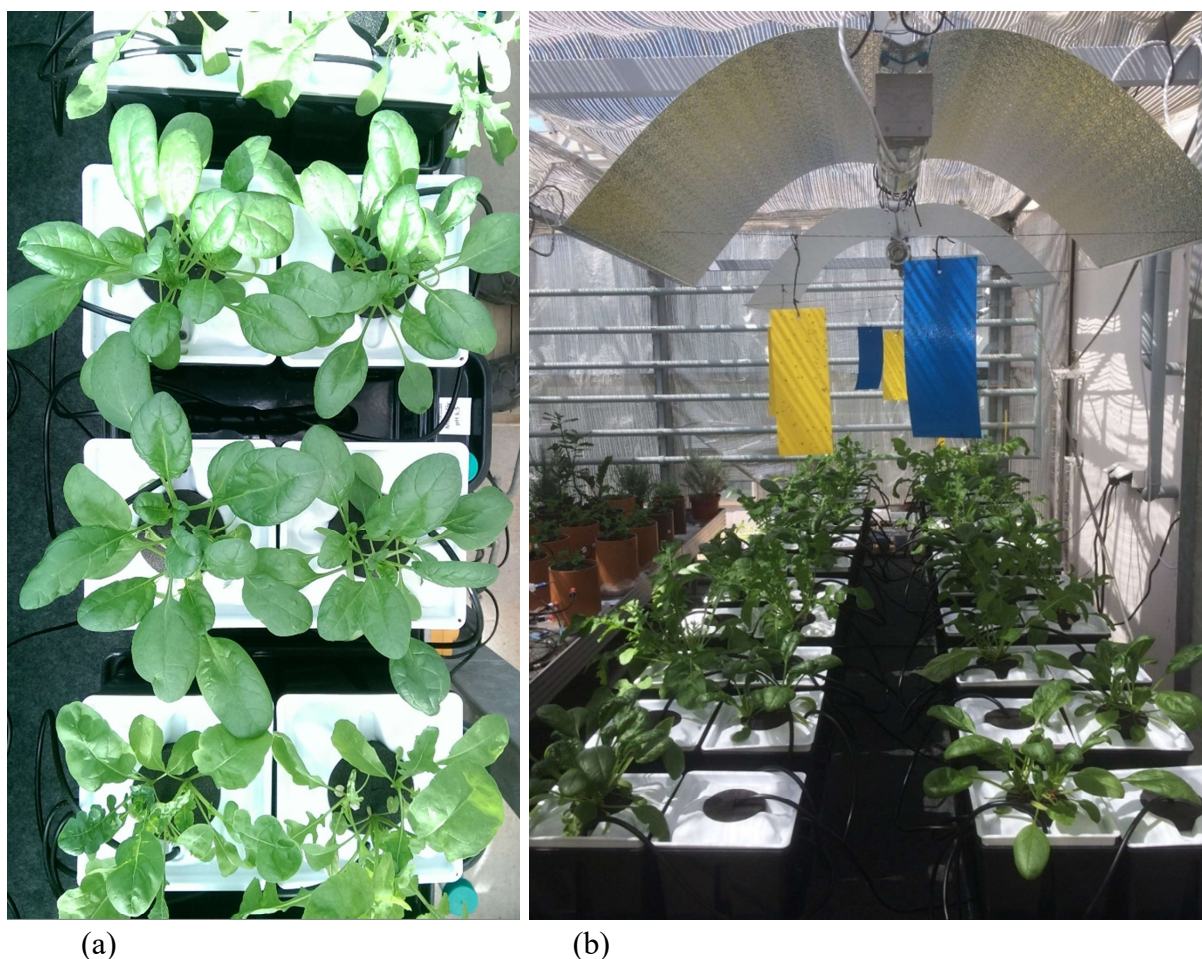
Během experimentu byl každý týden odebírán vzorek hydroponního roztoku pro analýzu zbytkové koncentrace léčiv a jejich metabolitů. Vzorek byl odebírán pomocí plastové injekční stříkačky a filtrován přes jednorázový filtr nasazený na injekční stříkačku. Filtr z regenerované celulózy měl propustnost pevných částic 0,45  $\mu\text{m}$ . Možné zkreslení vlivem filtračního materiálu stříkačky na koncentraci měřených léčiv v důsledku sorpce léčiv na filtr pevných částic z regenerované celulózy byl již dříve testován (Lindberg et al. 2014). Nebyl zjištěn žádný

zkreslující vliv na koncentraci zkoumaných léčiv ve vzorcích. Vzorek byl po odběru skladován zamrazený při teplotě minimálně - 16 °C, aby nedošlo k degradaci vzorku před analýzou.

#### 4.5 Odběr vzorků rostlin

Odběry vzorků se prováděly ve dvou termínech. Prvním odběrem byla sklizena jedna polovina pěstovaných modelových rostlin a tento odběr se uskutečnil 21. 5. 2018, po 21 dnech trvání experimentu. Druhým odběrem vzorků byl experiment ukončen a byla sklizena druhá polovina rostlin. Druhý odběr se uskutečnil 6. 6. 2018, tedy 38. den experimentu (obr. 16).

Zpracování a vyhodnocení experimentu proběhlo v laboratoři, vzorky rostlin byly nejprve nafoceny na černém pozadí pro grafické zpracování výpočtů plochy pomocí softwaru ImageJ verze 1.52a (Rasband W, 1997-2019) a zváženy. Dalším krokem bylo zmrazení pod teplotu - 16 °C, aby nedošlo k degradaci vzorků před lyofilizací. Vzorky byly postupně vysušeny v lyofilizátoru Christ Alpha 1-2 LDplus. Po vysušení vzorků v lyofilizátoru (obr. 17) byly vzorky nadzemních i podzemních částí rostlin zváženy a hodnoty zaznamenány.



Obr. 16. Hydroponické soustavy před prvním odběrem vzorků (a) a soustavy během druhé poloviny experimentu (b) (vlastní fotodokumentace).



Obr. 17. Lyofilizátor Christ Alpha 1-2 LDplus (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH 2019).

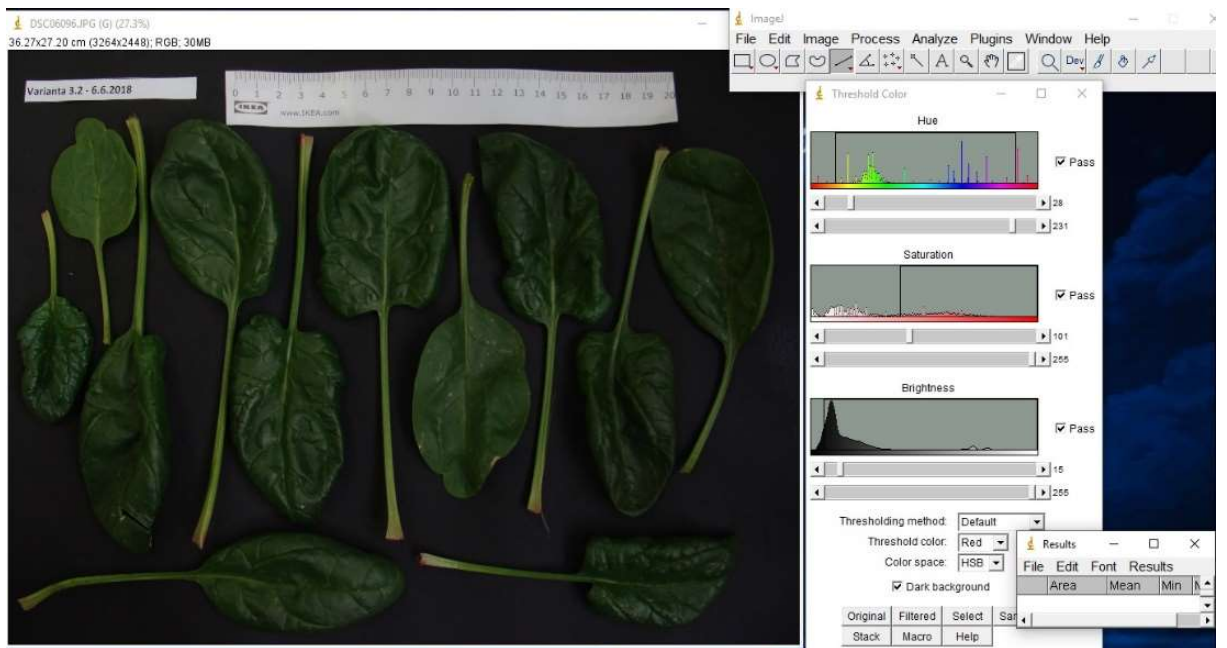
Dalším krokem ve zpracování vzorků bylo rozmělnění tlučkem v porcelánové třecí misce. Homogenizované vzorky byly skladovány při teplotě minimálně  $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$  v igelitových sáčcích.

#### 4.6 Analýza snímků pro výpočet plochy

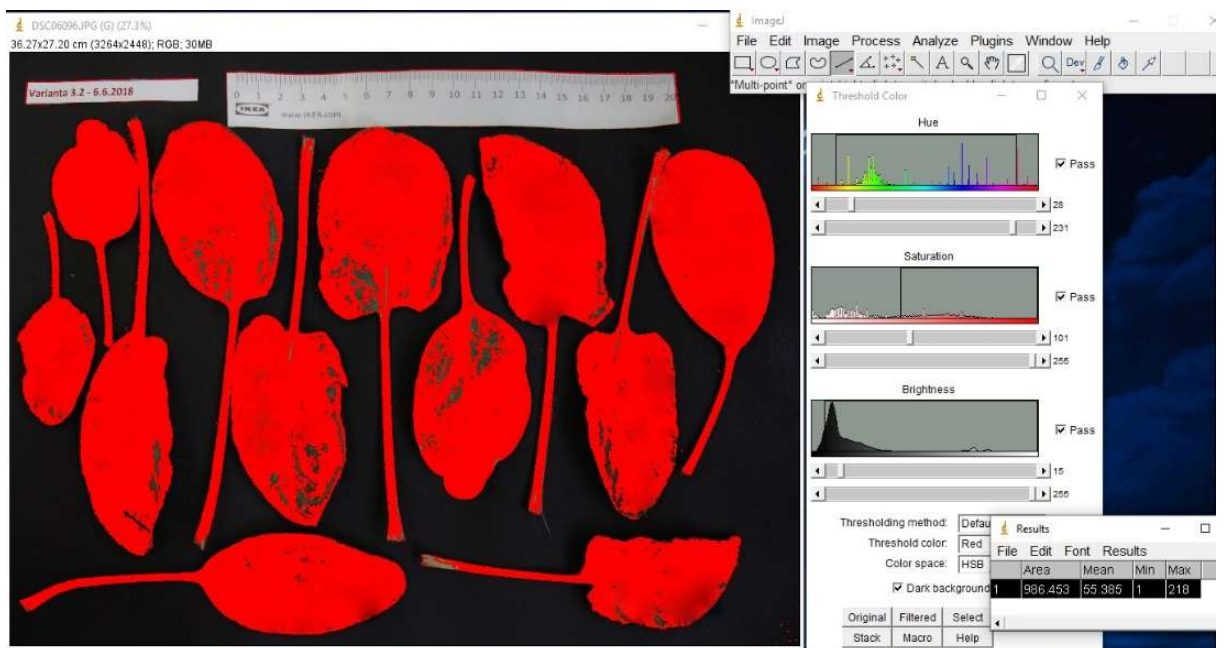
Fotografie pro zpracování výpočtů plochy byly pořízeny pomocí fotoaparátu SONY DSC-H3 s rozlišením 8,1 Mpix s hodnotou 72 dpi.

Obrazy podzemních částí rostlin (kořenů) a nadzemních částí rostlin (stonků a listů) byly analyzovány pomocí softwaru ImageJ verze 1.52a (Rasband W, 1997-2019). Pro detekci plochy byla použita funkce Color threshold (práh barvy), která umožňuje výběr pixelů z určitého barevného rozsahu. Pro samotnou analýzu byl vybrán barevný model HSV (hue, saturation, brightness) upravující vlastnosti fotografie jako odstín, nasycení a jas. V programu ImageJ je možné navolit parametry a provést analýzu automaticky, to však může vést ke zkreslení výsledků. Program ImageJ může do plochy rostlinné části z daného snímku omylem započítat část pozadí, záleží na kvalitě fotografie i druhu pozadí. Upravení vlastností fotografií vede k záběru plochy podzemních či nadzemních částí rostlin vyjma podkladu fotografií. Jako podklad byl zvolen tvrdý černý papír velikosti A3. Po úspěšném barevném rozlišení byli snímky analyzovány pomocí funkce Select.

Vypočítané plochy v  $\text{cm}^2$  jsou vyobrazeny v grafických znázorněních v kapitole 5.3 s výsledky.



Obr. 18. Analýza snímku v programu ImageJ, původní snímek (vlastní dokumentace).



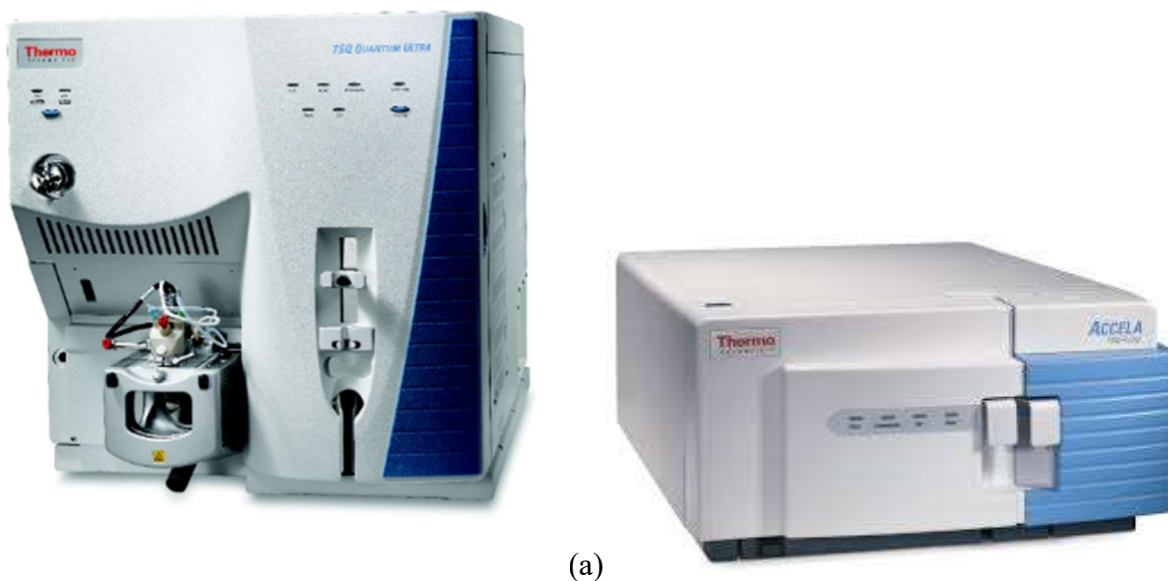
Obr. 19. Analýza snímku v programu ImageJ, snímek po upravení pro detekci plochy (vlastní dokumentace).

## 4.7 Měření zbytkových koncentrací léčiv v rostlinách

Vzorky hydroponního roztoku a rostlin po vysušení v lyofilizátoru, rozmělnění tloučkem v třecí misce a zamrazení v igelitových sáčcích byly převezeny do Vodňan na Fakultu rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity, kde byla změřena zbytková koncentrace léčiv ve vzorcích.

Vzorky byly vyhodnocovány pomocí analýzy LC-MS/MS (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií). Pro analýzu byl použit třístupňový hmotnostní spektrometr Quadrupole MS / MS TSQ Quantum Ultra (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) spojený s čerpadlem Accela 1250 LC (Thermo Fisher Scientific) a autosamplerem HTS XT-CTC (CTC Analytics AG, Zwingen, Švýcarsko) (Golovko et al. 2016). Pro chromatografickou separaci sloučenin byla použita kolona Hypersil Gold (50 mm x 2,1 mm id od Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) (Klement et al. 2018).

Kapalinová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) nebo s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) je v současné době velmi používaná při farmaceutických analýzách. Tyto metody umožňují detekci extrémně nízkých koncentrací (ng/l nebo ng/g) farmaceutických sloučenin v různých komplexních kapalných nebo pevných maticích (Lindberg et al. 2014, Fedorova et al. 2014).



(b)

Obr. 20. Hmotnostní spektrometr Quadrupole MS / MS TSQ Quantum Ultra (a) a čerpadlo Accela 1250 LC (b) od společnosti Thermo Fisher Scientific (Evisa 2010, Thermo Fisher Scientific Inc. 2010).

## 5 Výsledky

### 5.1 Vliv pH roztoku a přítomnosti léčiv na nárůst biomasy rostlin

Jako optimální pH pro pěstování rostlin špenátu setého udává výrobce osiva hodnoty pH 6,0 – 7,5 a u rukoly seté 6,0 – 6,8. Tyto hodnoty pH jsou však stanovené pro pěstování rostlin v půdě (SEMO a.s. 2019).

V prvním termínu sklizně vzorků se jako optimální pH pro růst kořenů špenátu projevila kyselá oblast pH pro soustavu bez přídavku léčiv následovaná neutrální oblastí pH pro soustavy s přídavkem i bez přídavku mixu léčiv, jak můžeme vidět na obr. 21a. U rostlin rukoly se objevuje trend (obr. 27a), ve kterém se snižuje růst kořenů se zvyšujícím se pH u kontrolních soustav a u soustav s přídavkem mixu léčiv obráceně (zvyšující se růst kořenů se zvyšujícím se pH). V druhém termínu sklizně jsou výsledky odlišné. Na obr. 21b vidíme prosperitu růstu kořenů špenátu v kyselé oblasti pH s přídavkem léčiv následovaný zásaditou oblastí pH. Rozdílly jsou i u rostlin rukoly (obr. 27b), kde je prosperita v soustavách s pH 5,0 lehce nižší a u soustav s pH 8,0 lehce vyšší oproti špenátu.

Nadzemní části rostlin špenátu (obr. 33a) vykazovali podobné výsledky jako jejich kořeny. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána pro soustavu s přidanými léčivy a neutrálním pH. U rostlin rukoly byl nalezen stejný hmotnostní trend jako u jejich kořenů, jak vidíme na obr. 39a. Oproti tomu, v druhém termínu sklizně se výsledky soustav s různým pH více přibližují. Rostliny špenátu (obr. 33b) do jisté míry vykompenzovali svůj růst ve všech třech zkoumaných oblastech pH. Podíváme-li se na obr. 39b, můžeme vidět téměř stejný hmotnostní trend rukoly s výjimkou vyššího pH v kyselé oblasti.

Na Obr. 22a byl zaznamenán významnější nárůst kořenů špenátu v hydroponické kontrolní soustavě s udržovanou hodnotou pH kolem 5,0. Naopak v soustavách s hodnotou pH udržovanou kolem 8,0 prosperoval lépe růst kořenů v soustavě s přídavkem mixu léčiv.

Po druhém odběru vzorků (obr. 22b) byl zaznamenán vyšší nárůst kořenů špenátu v hydroponické kontrolní soustavě s udržovanou hodnotou pH kolem 6,5. Hodnoty zaznamenané v ostatních soustavách se příliš nelišily. Oproti prvnímu odběru vzorků si můžeme všimnout změn v podobě vykompenzování soustav s hodnotami pH udržovanými v kyselé oblasti a změnu hmotnostního trendu u soustav s udržovaným bazickým pH, kde hmotnost sušiny kořenů kontrolní soustavy převyšuje tu s přídavkem mixu léčiv.

Významnější nárůst kořenů rukoly (obr. 28a) jsme zaznamenali v hydroponické kontrolní soustavě s udržovanou hodnotou pH kolem 5,0. Naopak v soustavách s hodnotou pH udržovanou kolem 8,0 jsme zaznamenali významnější nárůst kořenů v soustavě s přídavkem mixu léčiv. Z Obr. 28b je očividná prosperita obou soustav s hodnotami pH udržovanými v zásaditém prostředí. Ve zbylých dvou soustavách s přídavkem mixu léčiv je detekovatelný výrazně nižší nárůstu kořenů rukoly oproti jejich kontrolním soustavám.

Zřejmý vliv pH na nárůst biomasy špenátu je z obr. 34a. Stejně jako u podzemních částí modelových rostlin vykazují vyšší nárůst kontrolní soustava s udržovanou hodnotou pH kolem 5,0 a soustava s přídavkem mixu léčiv s udržovanou hodnotou pH kolem 8,0. Viditelná změna hmotnostního trendu u soustav s udržovaným pH v neutrální oblasti je na obr. 34b, kde oproti prvnímu odběru vzorků byl vyšší nárůst biomasy špenátu u kontrolní soustavy hydroponie.

Zřejmý vliv pH na nárůst biomasy rukoly je z obr. 40a. Stejně jako u podzemních částí modelových rostlin v prvním odběru vykazuje výrazně vyšší nárůst kontrolní soustava s udržovanou hodnotou pH kolem 5,0 a významně vyšší nárůst soustava s přidavkem mixu léčiv s udržovanou hodnotou pH kolem 8,0. Obr. 40b znázorňuje obdobné údaje, které vykazují kořeny rukoly při druhém odběru. Byl zaznamenán markantní rozdíl v nárůstu biomasy rukoly u soustav s udržovaným pH v kyselé a neutrální oblasti. Mezi soustavami hydroponií s bazickým pH dominovala ta s přidavkem mixu léčiv.

Jedním z výsledků experimentu bylo srovnání zkoumaných hydroponních soustav s přidavkem léčiv s jejich kontrolními variantami v obsahu sušiny ve vzorcích. Obsah sušiny ve vzorcích rostlin u všech vzorků nepřekročil hodnotu 10 %.

## 5.2 Vliv pH roztoku a přítomnosti léčiv na plochu rostlin

V několika segmentech se kořeny navzájem překrývaly a nemohly být proto detekovatelné na fotografiích. Důvody jsou uvedeny v kapitole 4.6 Analýza snímků pro výpočet plochy. Vypočítané plochy v  $\text{cm}^2$  jsou vyobrazeny v následujících grafech.

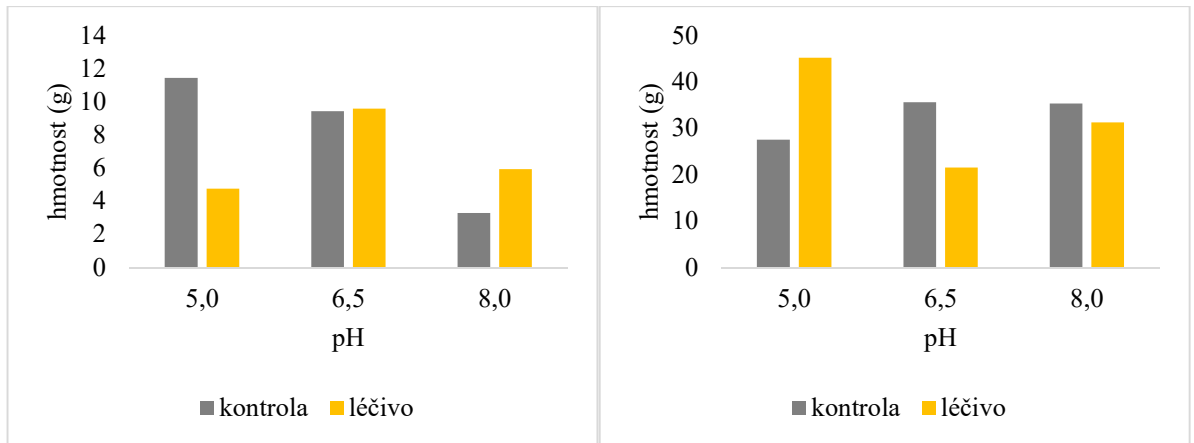
Rostliny špenátu výrazně prosperovaly v tvorbě kořenů podle obr. 24 při neutrálních hodnotách pH udržovaných kolem hodnoty 6,5.

Velikost plochy kořenů rukoly (obr. 30a) byla detekována nižší u soustavy s přidavkem mixu léčiv a pH udržovaným kolem hodnoty 5. Soustava s přidavkem mixu léčiv a pH udržovaným kolem hodnoty 8,0 vykazovala nárůst i plochu vyšší. Z obr. 30b je patrný vliv přidavku mixu léčiv do živného roztoku, který ve všech třech variantách pH snížil plochu kořenů oproti variantám kontrolním.

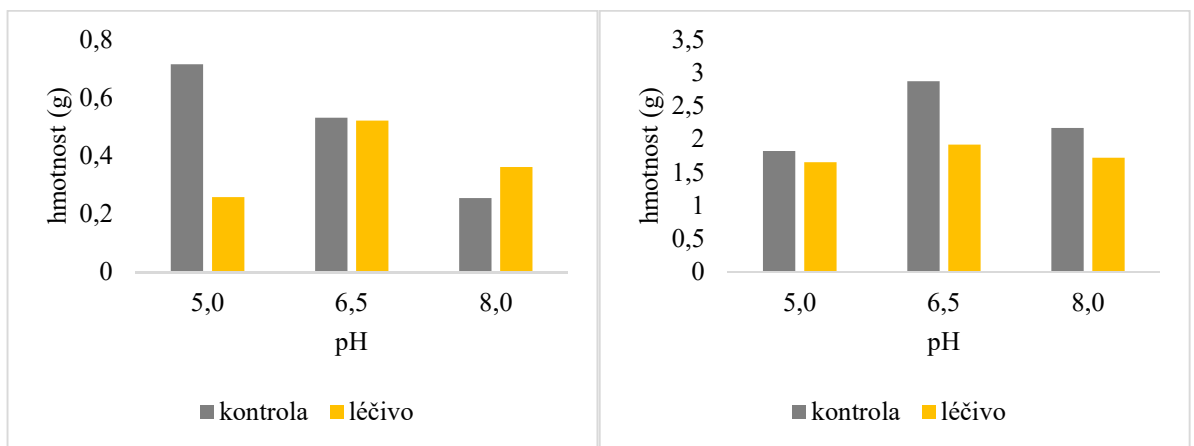
Rozdíly mezi kontrolními soustavami a těmi s přidavkem mixu léčiv jsou výrazné, jak znázorňuje obr. 36a. Dominantní listovou plochu jsme vypočítali pro neutrální pH s přidavkem léčiv. Velikost plochy listů špenátu se zvyšujícím se zastoupením od kyselého pH přes neutrální až po zásadité můžeme vidět na obr. 36b. Také je nutno konstatovat, že všechny soustavy s přidavkem mixu léčiv vykázaly vyšší listovou plochu než jejich kontrolní soustavy.

Vliv pH roztoku na plochu listovou plochu rukoly je patrný zejména z obr. 42a, kde vidíme významný rozdíl mezi nárůstem a následnou plochou listů rostlin v bazickém pH. Rostlinám pěstovaným bez přidavku mixu léčiv byla vypočítána více jak 4x menší plocha oproti těm s přidavkem léčiv. Velikost plochy listů rukoly se zvýšeným zastoupením u kontrolních soustav oproti těm s přidavkem mixu léčiv u kyselého a neutrálního pH znázorňuje obr. 42b. Naproti tomu, bazickému pH dominuje vyšší plocha listů u soustavy s přidavkem mixu léčiv.

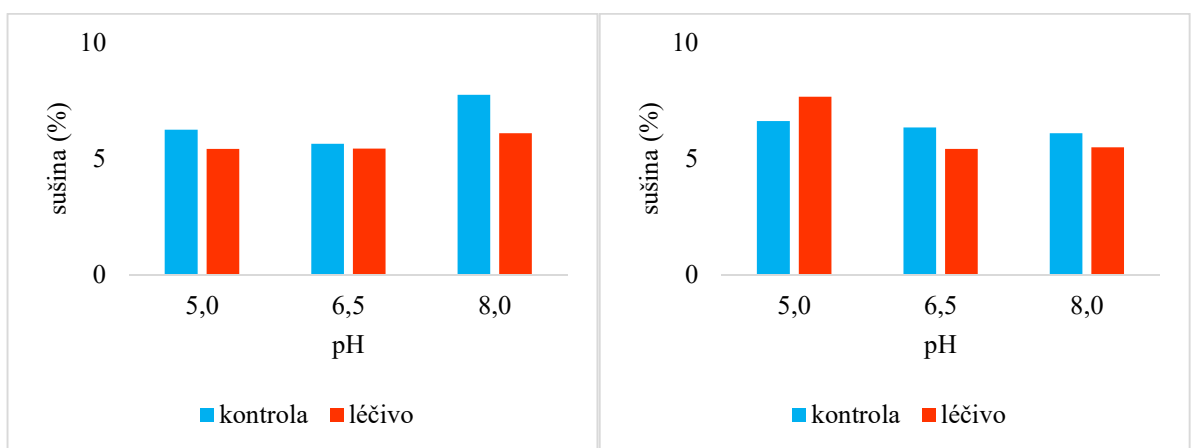




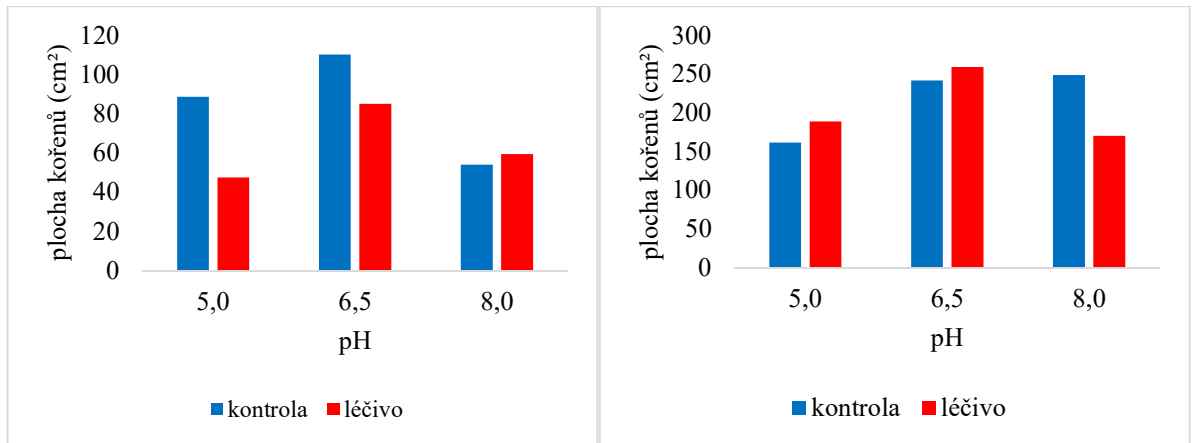
Obr. 21. Hmotnost čerstvé biomasy kořenů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



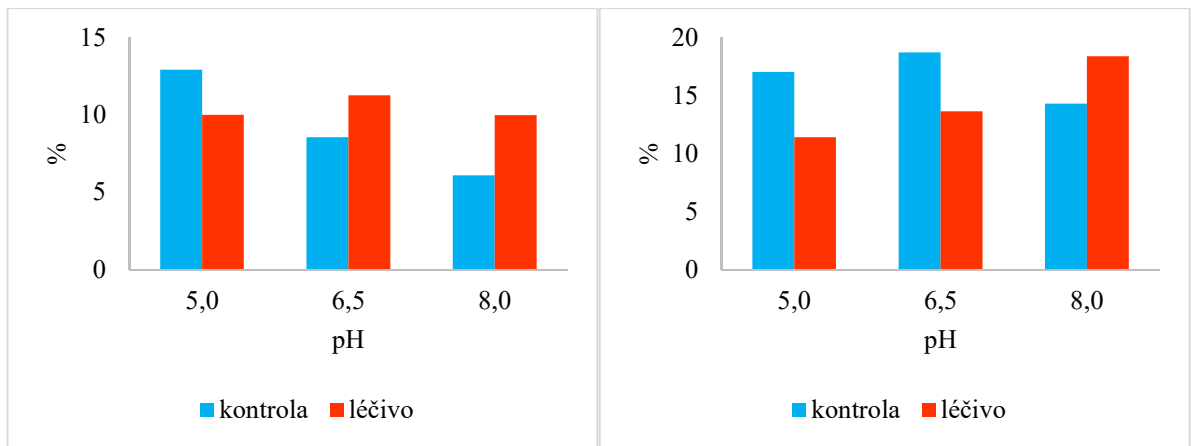
Obr. 22. Hmotnost sušiny kořenů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



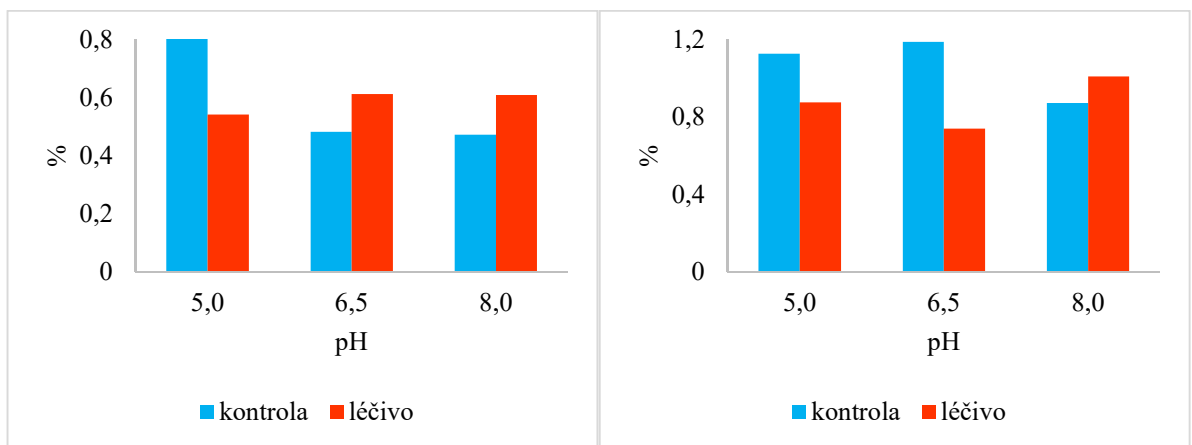
Obr. 23. Poměr sušiny k čerstvé hmotnosti kořenů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



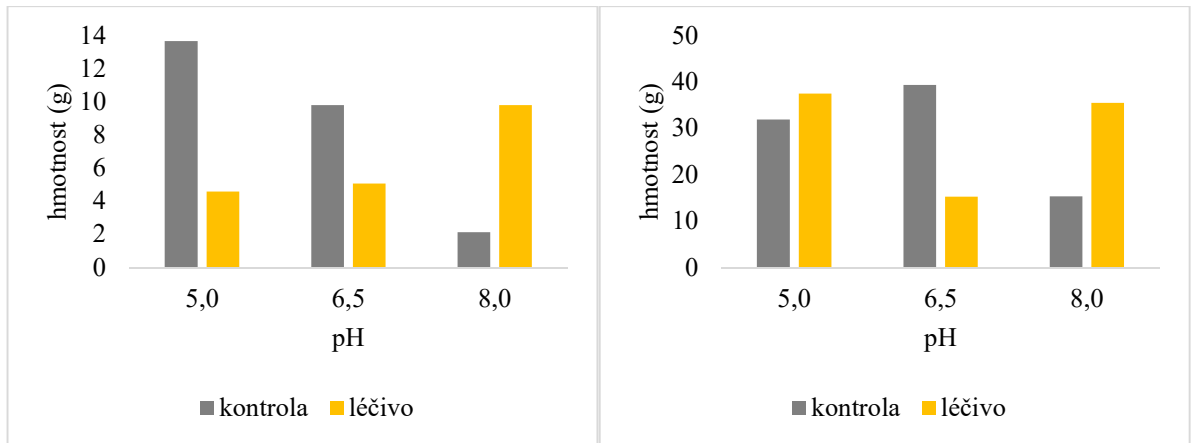
Obr. 24. Vliv pH roztoku na plochu kořenů špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



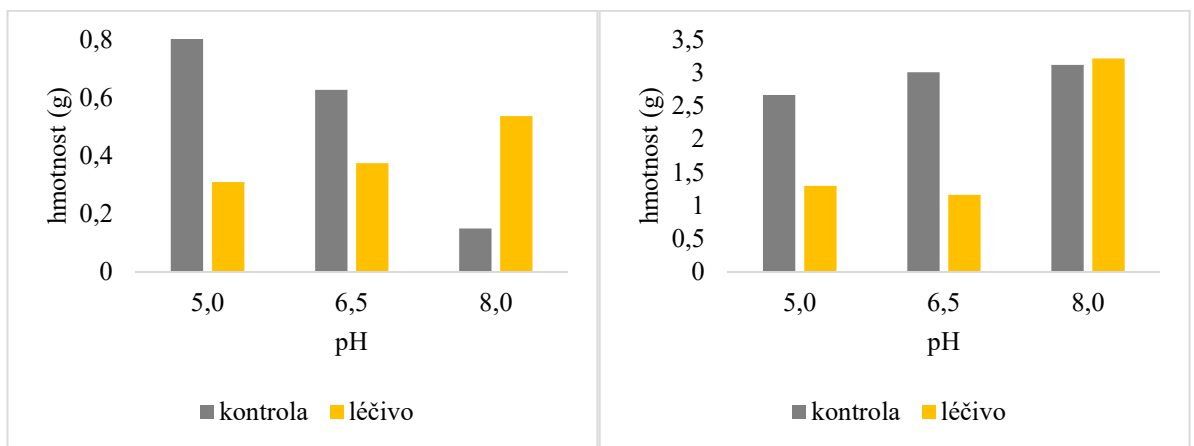
Obr. 25. Poměr čerstvé biomasy k ploše kořenů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



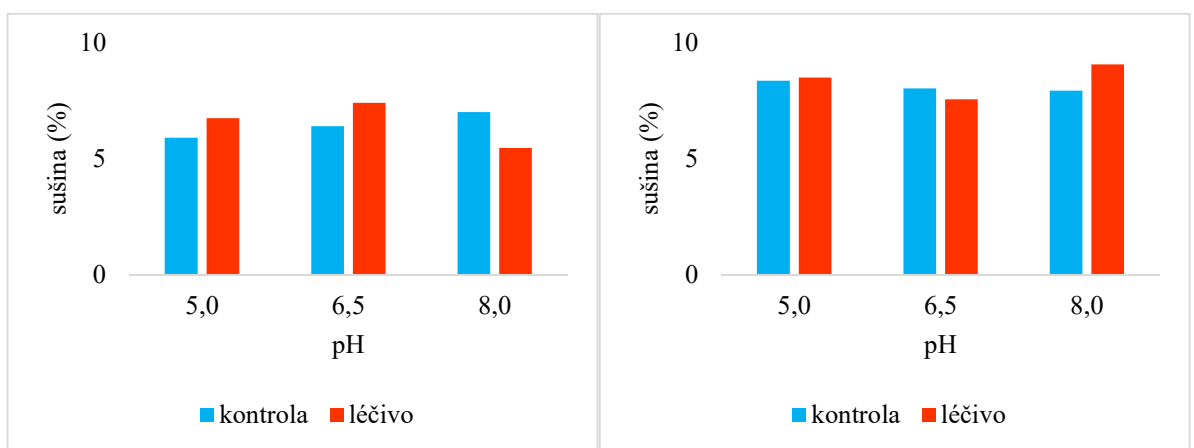
Obr. 26. Poměr sušiny k ploše kořenů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



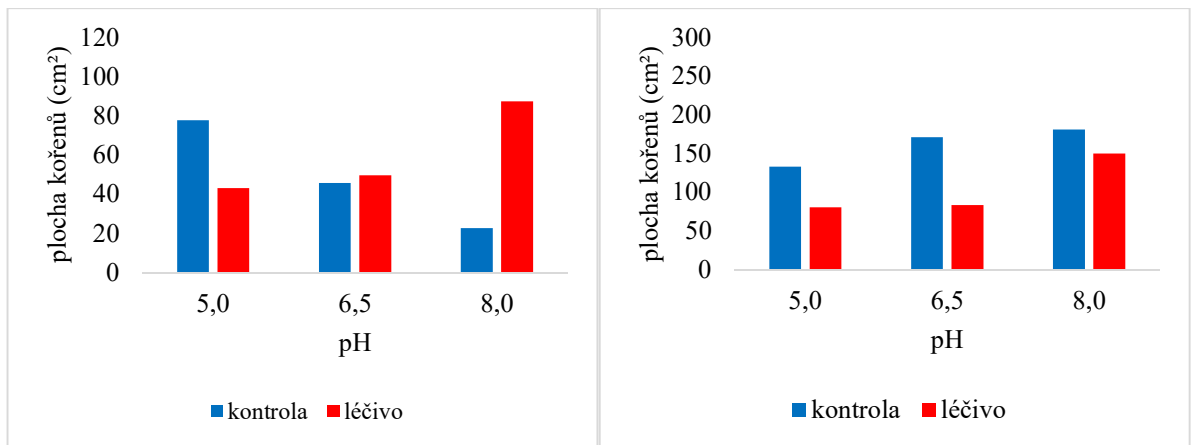
Obr. 27. Hmotnost čerstvé biomasy kořenů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



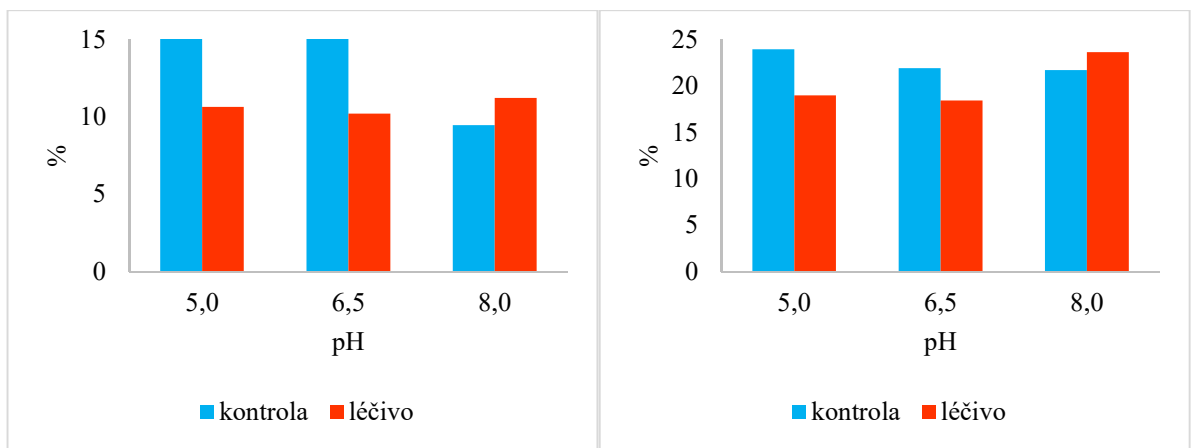
Obr. 28. Hmotnost sušiny kořenů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



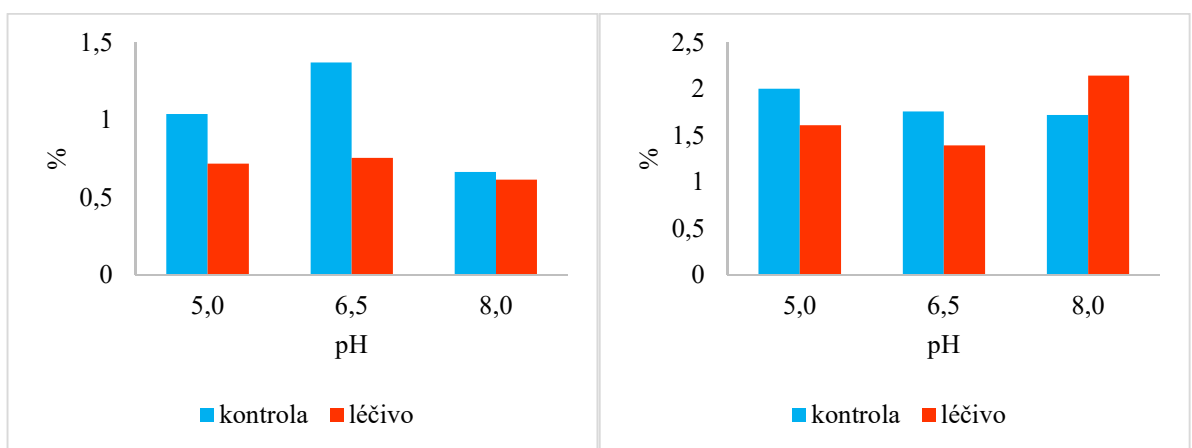
Obr. 29. Poměr sušiny k čerstvé hmotnosti kořenů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



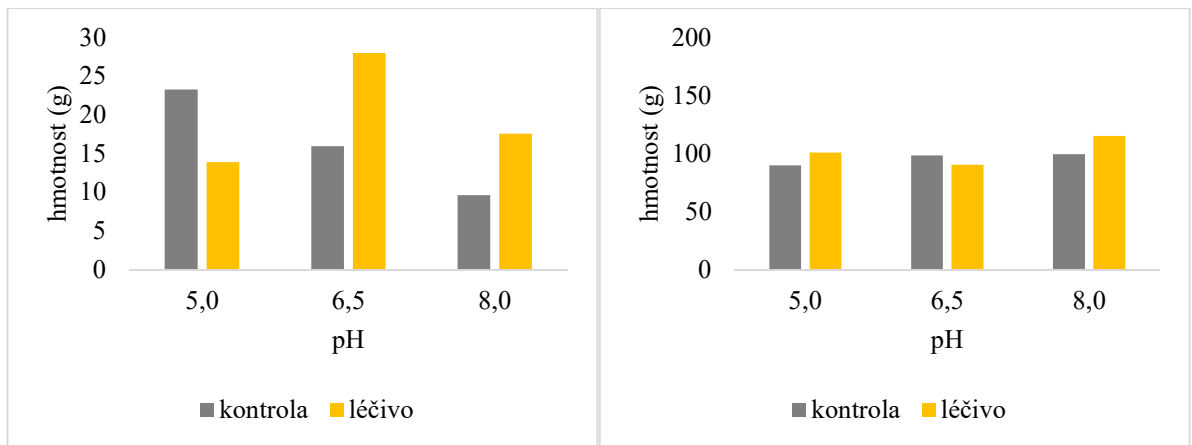
Obr. 30. Vliv pH roztoku na plochu kořenů rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



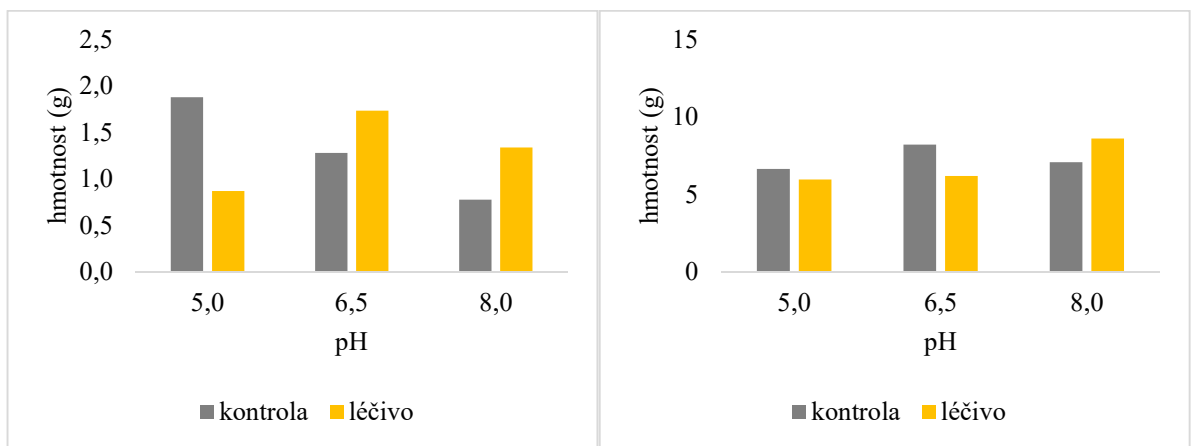
Obr. 31. Poměr čerstvé biomasy k ploše kořenů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



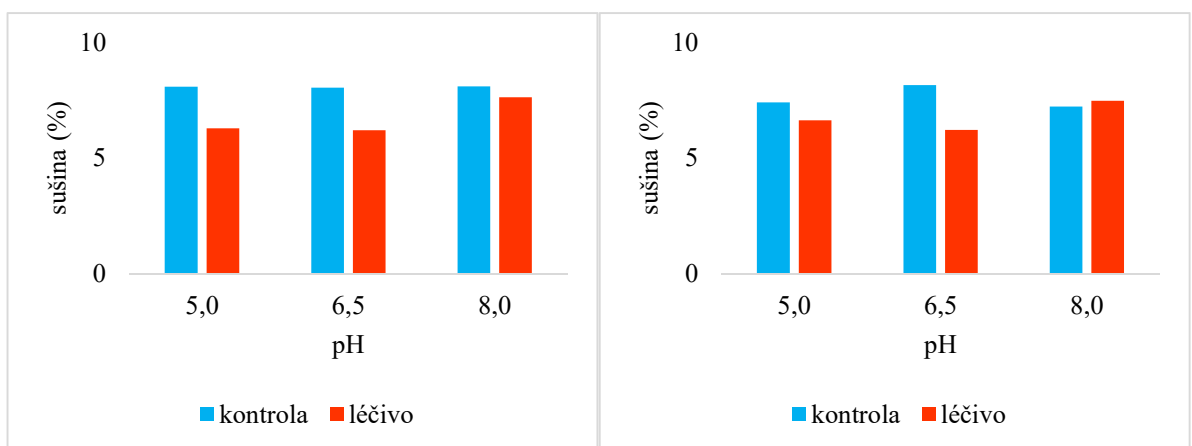
Obr. 32. Poměr sušiny k ploše kořenů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



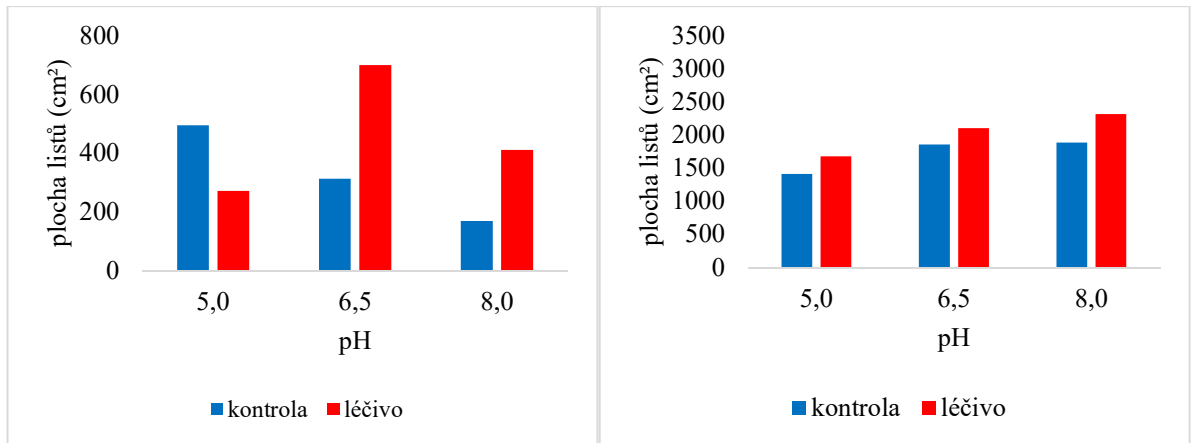
Obr. 33. Hmotnost čerstvé biomasy nadzemní části rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



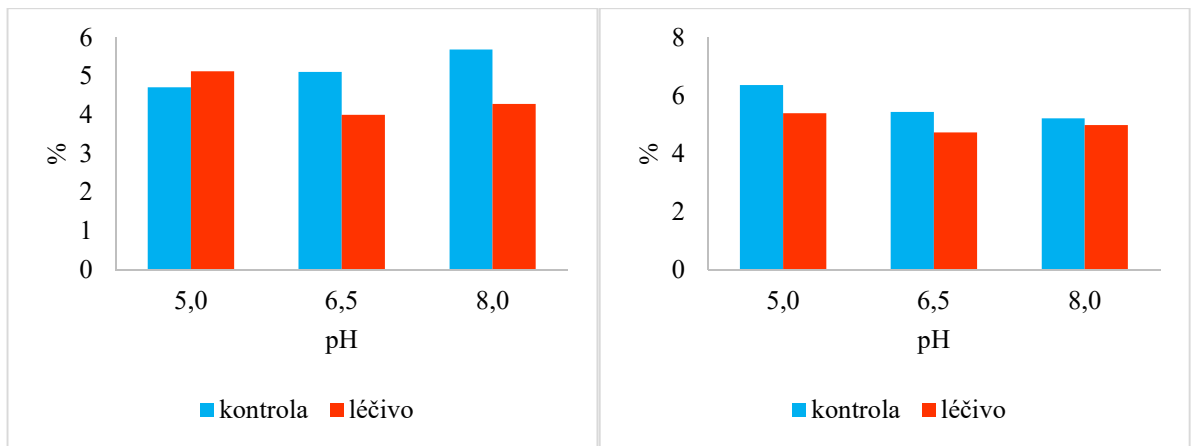
Obr. 34. Hmotnost sušiny nadzemní části rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



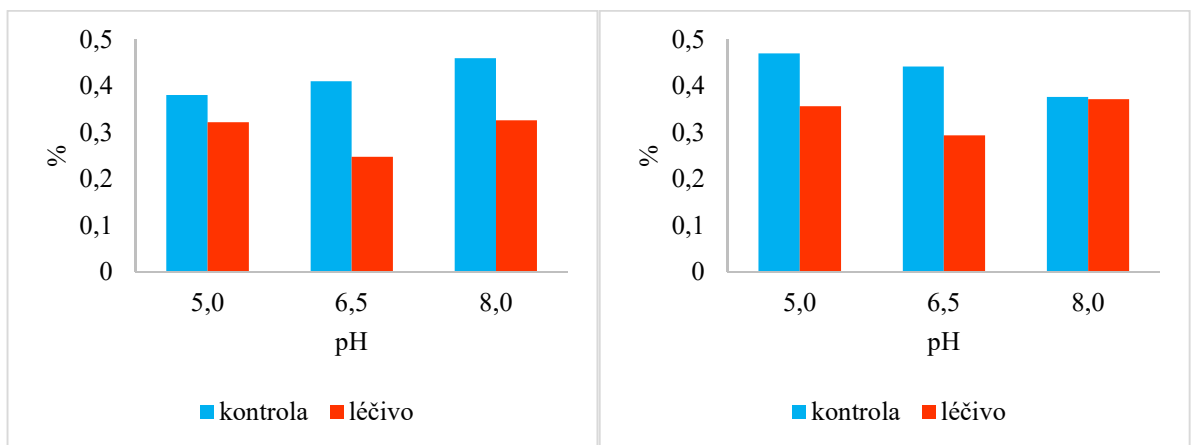
Obr. 35. Poměr sušiny k čerstvé hmotnosti nadzemních částí rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



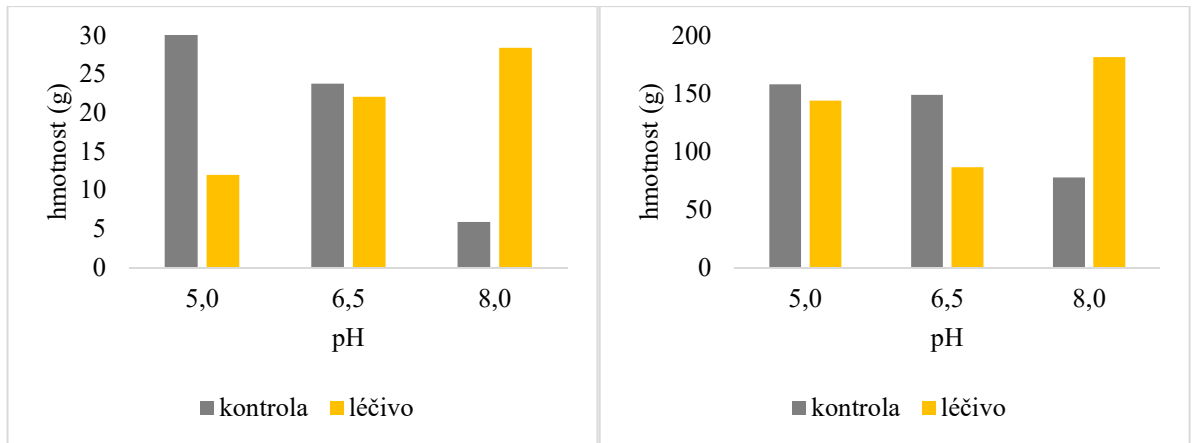
Obr. 36. Vliv pH roztoku na plochu listů špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



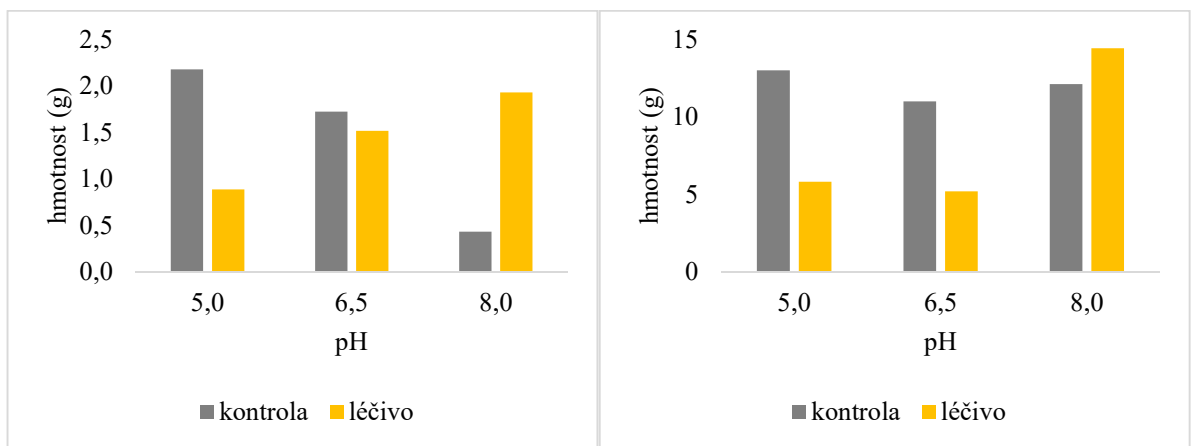
Obr. 37. Poměr čerstvé biomasy k ploše listů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



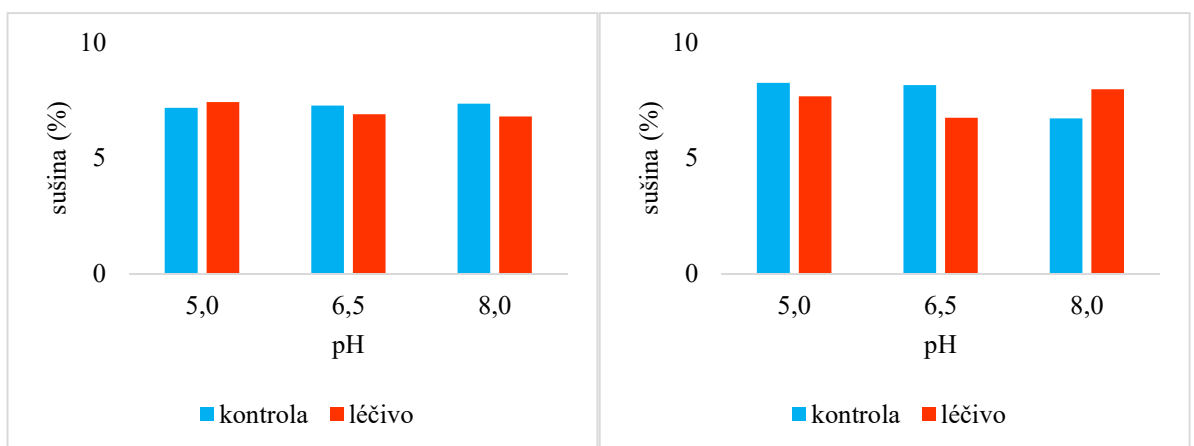
Obr. 38. Poměr sušiny k ploše listů rostlin špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



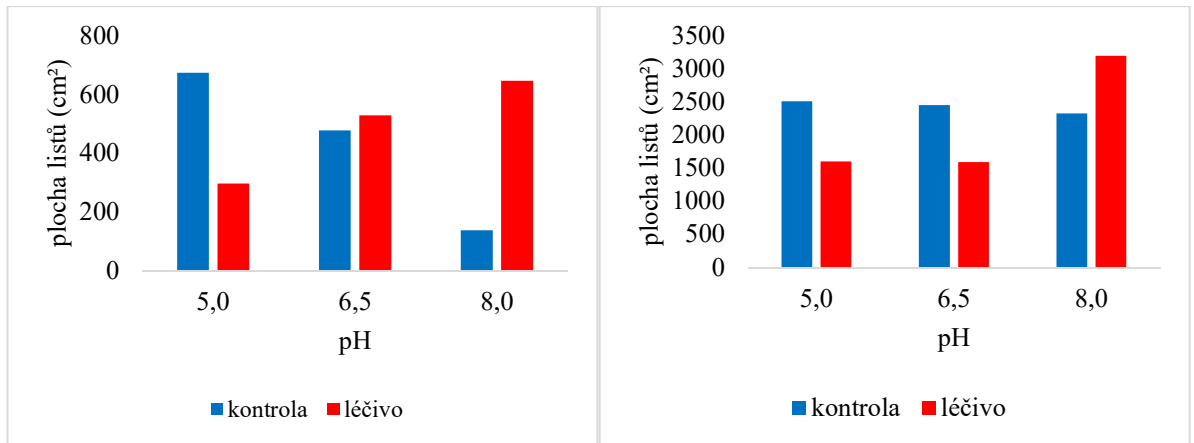
Obr. 39. Hmotnost čerstvé biomasy nadzemní části rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



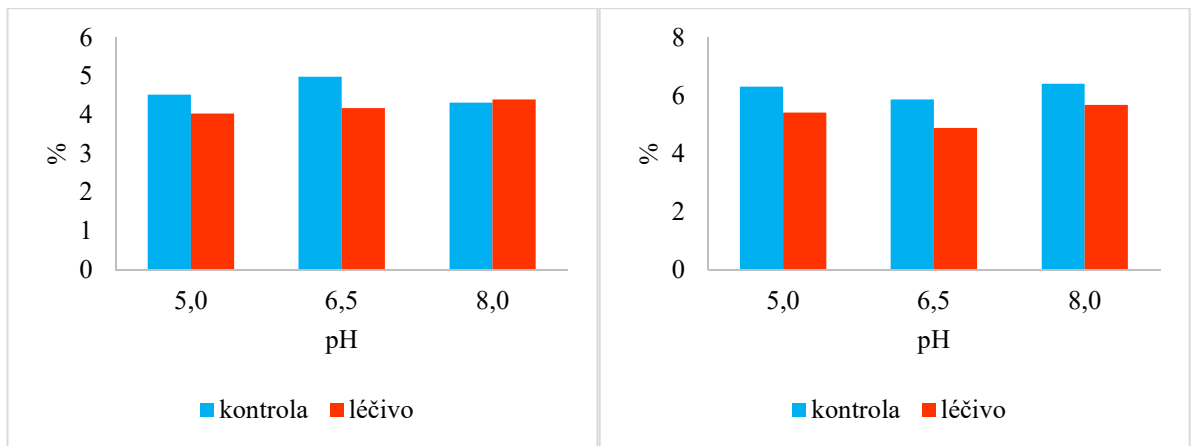
Obr. 40. Hmotnost sušiny nadzemní části rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



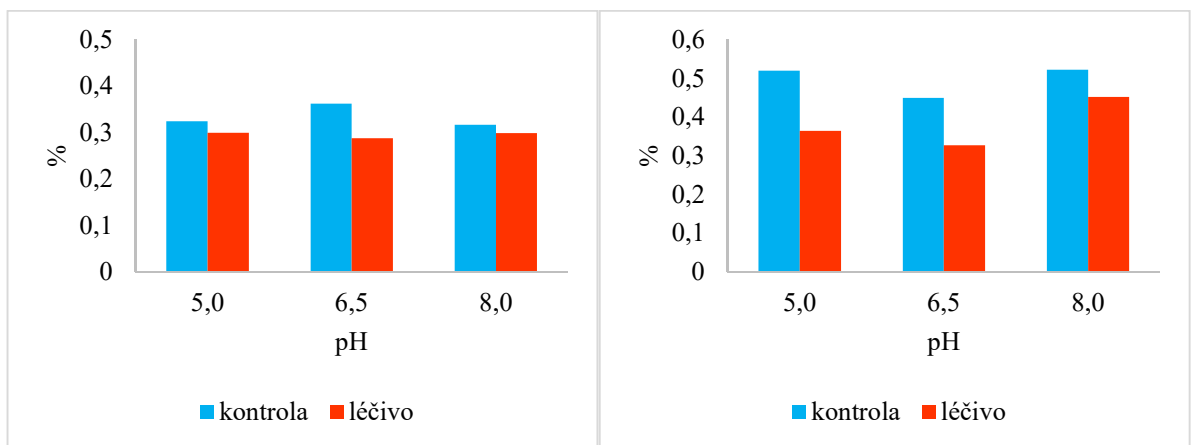
Obr. 41. Poměr sušiny k čerstvé hmotnosti nadzemních částí rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



Obr. 42. Vliv pH roztoku na plochu listů rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



Obr. 43. Poměr čerstvé biomasy k ploše listů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



Obr. 44. Poměr sušiny k ploše listů rostlin rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).



### 5.3 Vliv nárůstu biomasy na plochu rostlin

Poměr čerstvé biomasy kořenů špenátu k ploše na obr. 25a udává podobný trend jako obr. 21a. Pozitivně spolu souvisí trend u kontrolních soustav, kde se snižujícím se pH stoupá množství čerstvé biomasy a také procentuální zastoupení. Trend u soustav s přidavkem mixu léčiv je také podobný. Stejně jako trend u hmotnosti čerstvé biomasy (obr. 21a), u poměru hmotnosti k ploše (obr. 25a) můžeme zaznamenat také trend ve tvaru  $\cap$ . Po druhém odběru vzorků není pozorovatelný žádný trend v souvislosti s hmotností čerstvé biomasy.

Poměr sušiny kořenů špenátu k ploše na obr. 26a se také trendově shoduje s hmotností sušiny (obr. 22a) u kontrolních soustav. V případě soustav s přidavkem mixu léčiv je trend nepatrný. Po druhém odběru vzorků je pozorovatelný trend u soustav s přidavkem mixu léčiv, a sice trend opačný. Na obr. 26b (poměr sušiny k ploše) je trend léčiv ve tvaru  $\cup$  a na obr. 22b (hmotnost sušiny) je trend ve tvaru  $\cap$ .

V případě čerstvé biomasy kořenů rukoly nebyl zaznamenán žádný trend souvislosti s hmotností čerstvé biomasy. Po prvním odběru bylo nejvyšší zastoupení vypočítáno pro kontrolní soustavy (obr. 31a) a po druhém odběru vzorků se hodnoty soustav s přidavkem léčiv dorovnaly kontrolním soustavám (obr. 32b).

Poměr sušiny kořenů rukoly k ploše na obr. 32a znázorňuje převahu kontrolních soustav a na obr. 32b vykompenzované hodnoty pro soustavy s přidavkem mixu léčiv a lehce vyčnívající soustavu s bazickým pH. Nebyl pozorován žádný trend související s hmotností sušiny kořenů rukoly.

Listy špenátu na obr. 37a (poměr čerstvé biomasy listů k ploše) v porovnání s hmotností čerstvé biomasy (obr. 33a) spolu souvisí v případě kontrolních soustav, i těch s přidavkem mixu léčiv. Trendy jsou však opačné, zatímco hmotnost u kontrolních soustav se zvyšuje se snižujícím se pH (obr. 33a), u poměru k ploše se hodnoty zvyšují se zvyšujícím se pH. Soustavy s přidavkem mixu léčiv tvoří trend ve tvaru  $\cup$ , ale v případě hmotnosti je trend ve tvaru  $\cap$ . Po druhém odběru vzorků byly vypočítány procentuální hodnoty poměru čerstvé biomasy k ploše velice podobné pro všechny soustavy.

Poměr sušiny listů špenátu k ploše (obr. 38a) trendově souvisí s hmotností sušiny z obr. 34a. Trendy jsou opačné, v porovnání s hmotností sušiny se hodnoty se snižujícím pH snižují, zatímco u hmotnosti sušiny se hodnoty se snižujícím pH zvyšují. U soustav s přidavkem mixu léčiv byl pozorován trend ve tvaru  $\cup$ , ale v případě hmotnosti je trend ve tvaru  $\cap$ . Na obr. 38b se výsledky různí, vyšší hodnoty byly vypočteny pro kontrolní soustavy.

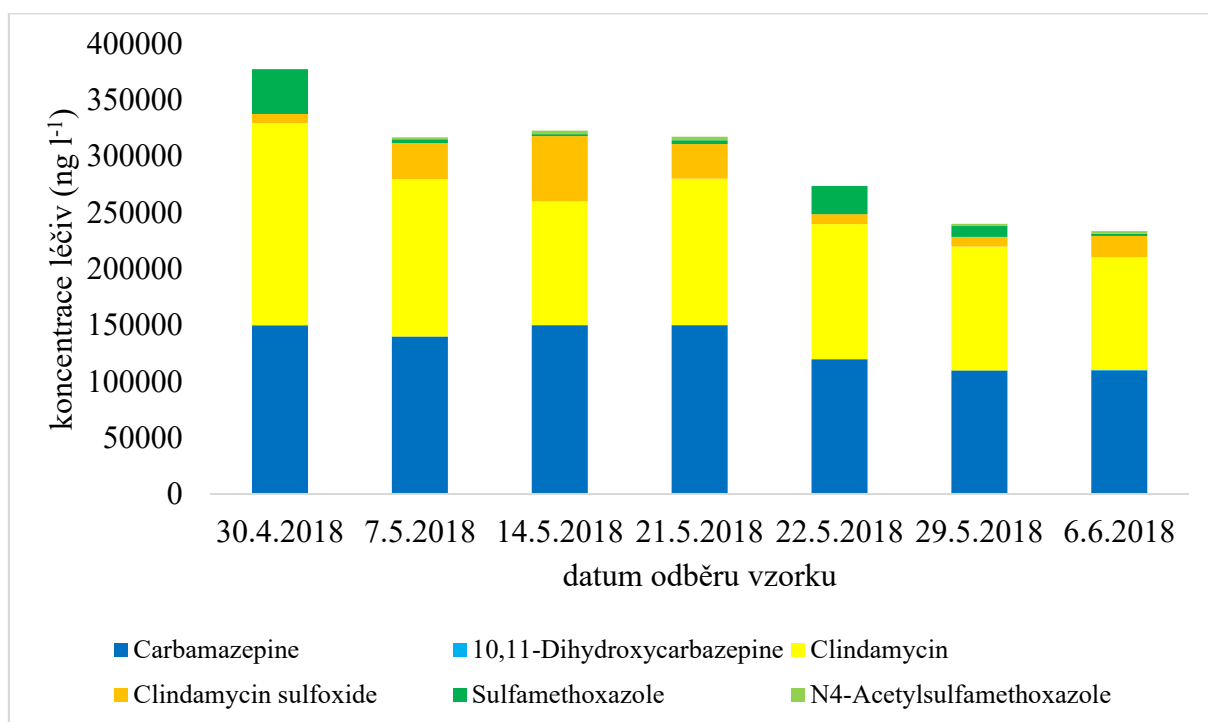
Na obr. 43 (poměr čerstvé biomasy listů rukoly k ploše) jsou hodnoty kontrolních soustav a soustav s přidavkem mixu léčiv velice vyrovnané. Nebyla zjištěna souvislost s hmotností čerstvé biomasy rukoly.

Poměr sušiny listů rukoly k ploše je zobrazen na obr. 44. Nebyl zaznamenán žádný trend v souvislosti s hmotností sušiny listů rukoly.

## 5.4 Koncentrace léčiv v živném roztoku

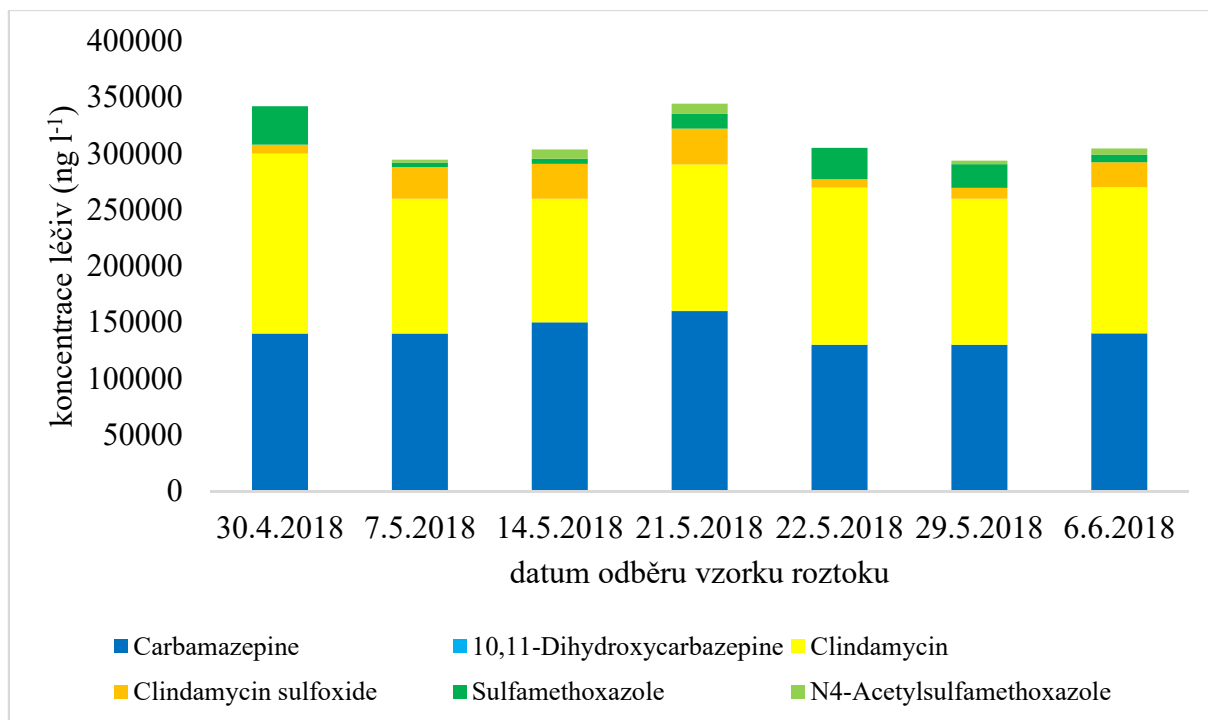
Mezi zkoumané faktory vyplývající z provedeného experimentu patřila zbytková koncentrace léčiv v živném roztoku. Ke stanovení sloužily vzorky živného roztoku odebírané během experimentu pravidelně každých 7 dní po celou dobu trvání experimentu.

Ve vzorcích hydroponních roztoků z kontrolních soustav hydroponií nebyly farmaceutické látky detekovány. Vývoj koncentrace farmaceutických látek a jejich metabolitů se snižujícím se trendem koncentrace vlivem absorpce léčiv rostlinami je patrný z následujících grafů. Zvyšující se hodnoty koncentrací léčiv některých hydroponních soustav ve dnech 21. 5. 2018 a 6. 6. 2018 byly pravděpodobně způsobeny vlivem vypařování živného roztoku a následně jeho zakonzentrováním.



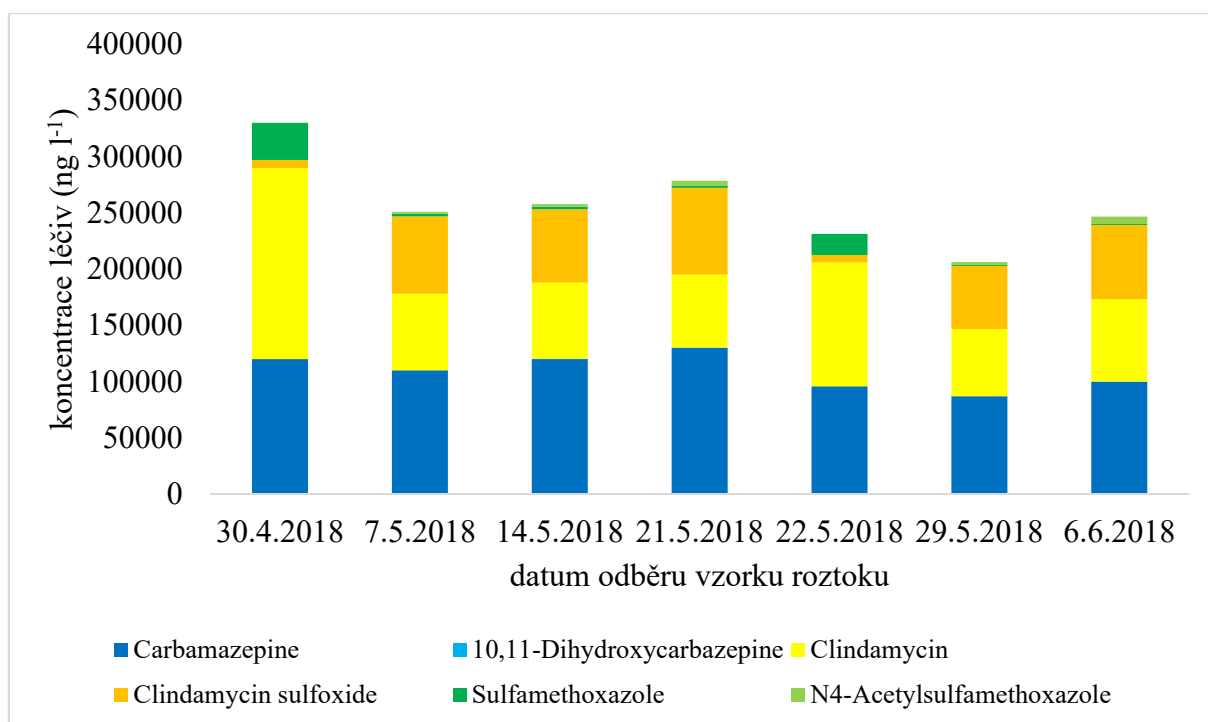
Obr. 45. Hydroponní soustava s pH roztoku 5,0 a pěstovanými rostlinami špenátu.

Špenát pěstovaný v kyselém prostředí vykazoval snižující se trend koncentrací léčiv, jak je zaznamenané na obr. 45. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny pro léčiva carbamazepin a clindamycin. Sulfamethoxazol byl přítomný zejména ve vzorcích odebraných v dnech přidavků léčiv (30. 4. 2018 a 22. 5. 2018).



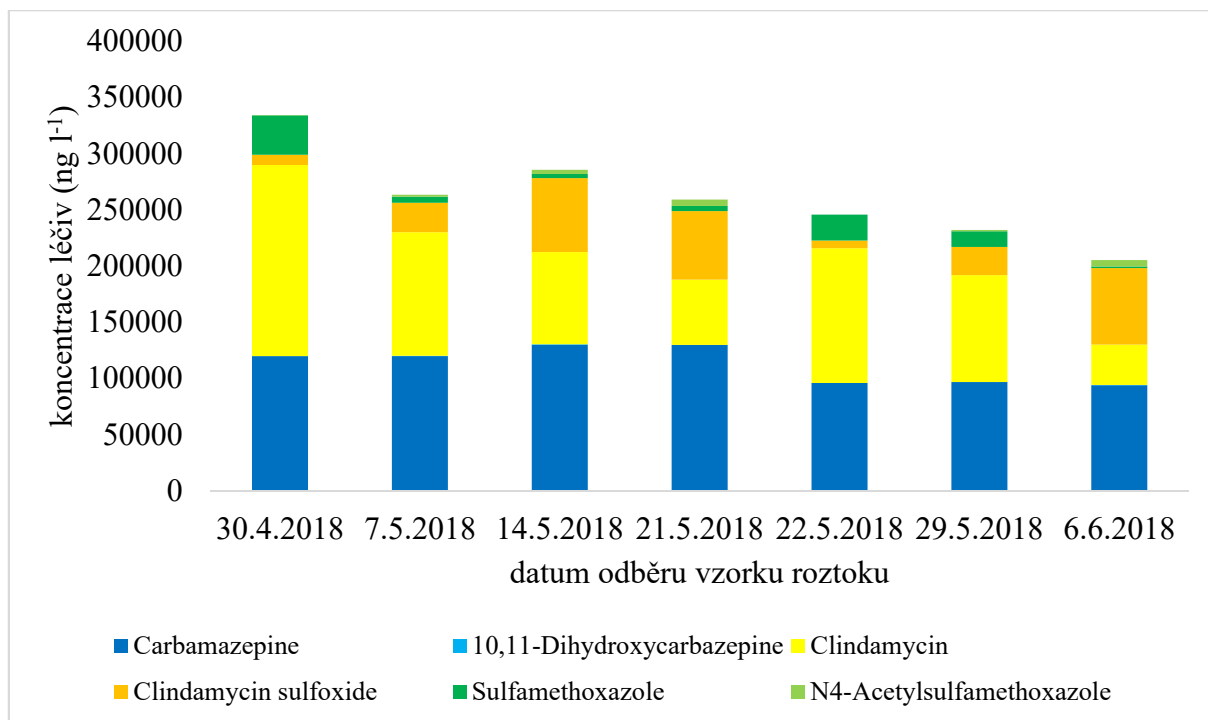
Obr. 46. Hydroponní soustava s pH roztoku 5,0 a pěstovanými rostlinami rukoly.

Rukola pěstovaná v kyselém prostředí vykazovala téměř snižující se trend koncentrací léčiv, jak je zaznamenáno na obr. 46, s výjimkou data 21. 5. 2018. Datum 30. 4. 2018 byl prvním dnem přidavku léčiv do soustavy a 22. 5. 2018 druhým dnem. Nejvyšší koncentrace byly také naměřeny pro léčiva carbamazepin a clindamycin. Sulfamethoxazol byl významněji detekován pouze v počátečních dnech přidavků léčiv. Oproti špenátu zde byla naměřena vyšší hodnota clindamycin sulfoxidu, metabolitu clindamycinu.



Obr. 47. Hydroponní soustava s pH roztoku 6,5 a pěstovanými rostlinami špenátu.

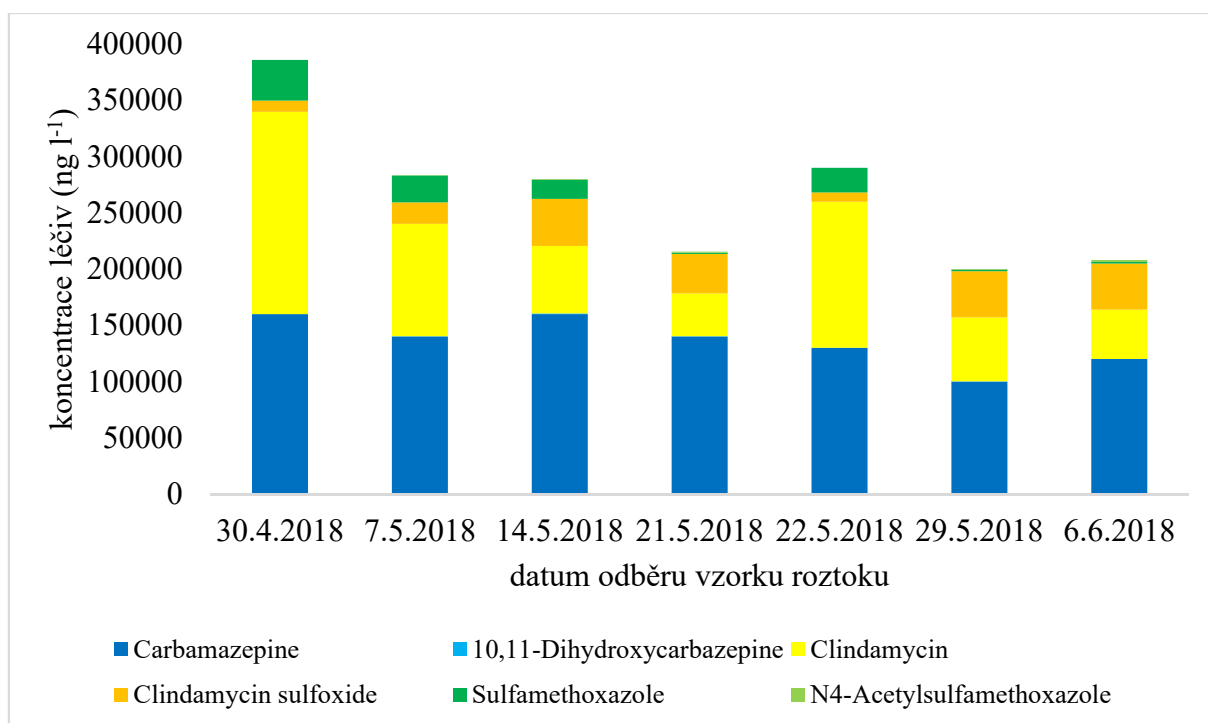
U špenátu pěstovaného v neutrálním prostředí byl poprvé detekován ve vyšších koncentracích metabolit clindamycinu, clindamycin sulfoxid, jak vidíme na obr. 47. V některých vzorcích dokonce převyšuje koncentraci clindamycinu. Ve vzorcích byl detekován také carbamazepin a sulfamethoxazol, který byl detekován pouze ve vzorcích ze startovacích dnů.



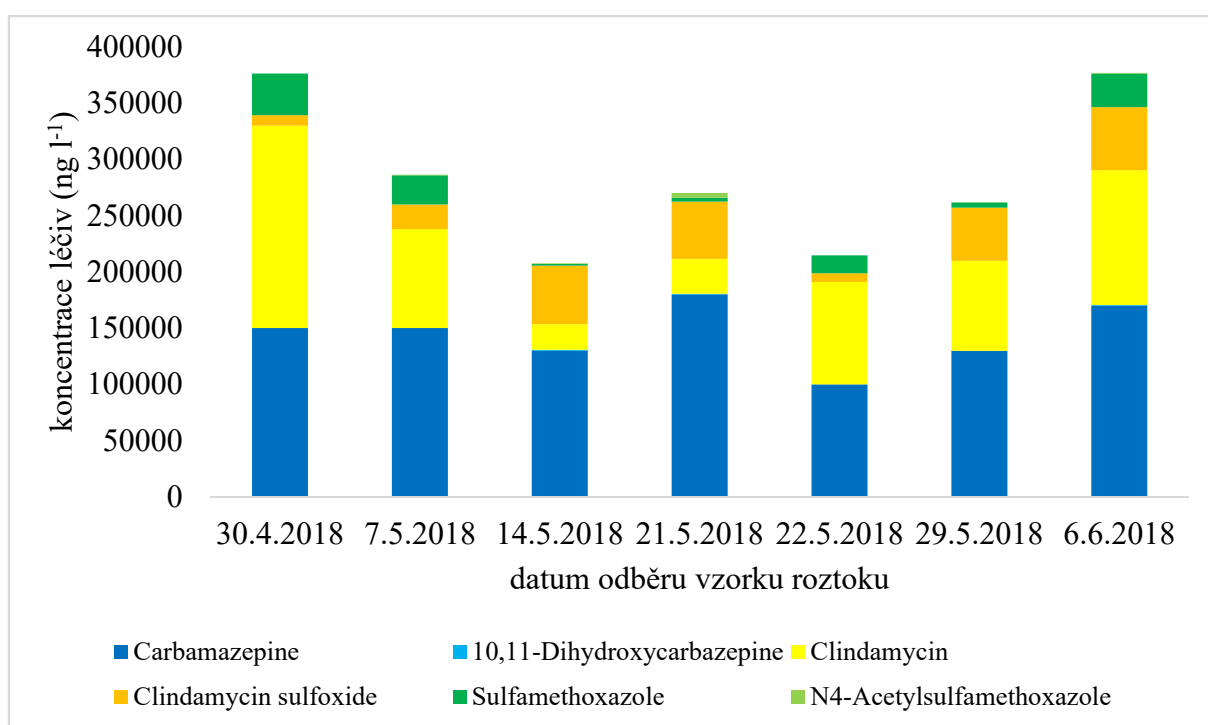
Obr. 48. Hydroponní soustava s pH roztoku 6,5 a pěstovanými rostlinami rukoly.

U rukoly pěstované v neutrálním prostředí jsme zaznamenali lehce vyšší koncentrace sulfamethoxazolu oproti špenátu, včetně jeho metabolitu N4-Acetylsulfamethoxazolu (obr. 48). O majoritní podíl léčiv ve vzorcích se dělí carbamazepin a clindamycin. Clindamycin sulfoxid ve vzorku z konce experimentu (6. 6. 2018) převyšuje svou koncentrací clindamycin.

Špenát pěstovaný v zásaditém prostředí dokazuje pozitivní vliv pH na přítomnost sulfamethoxazolu ve vzorcích, stále byl však detekován v nízkých koncentracích (obr. 49).



Obr. 49. Hydroponní soustava s pH roztoku 8,0 a pěstovanými rostlinami špenátu.



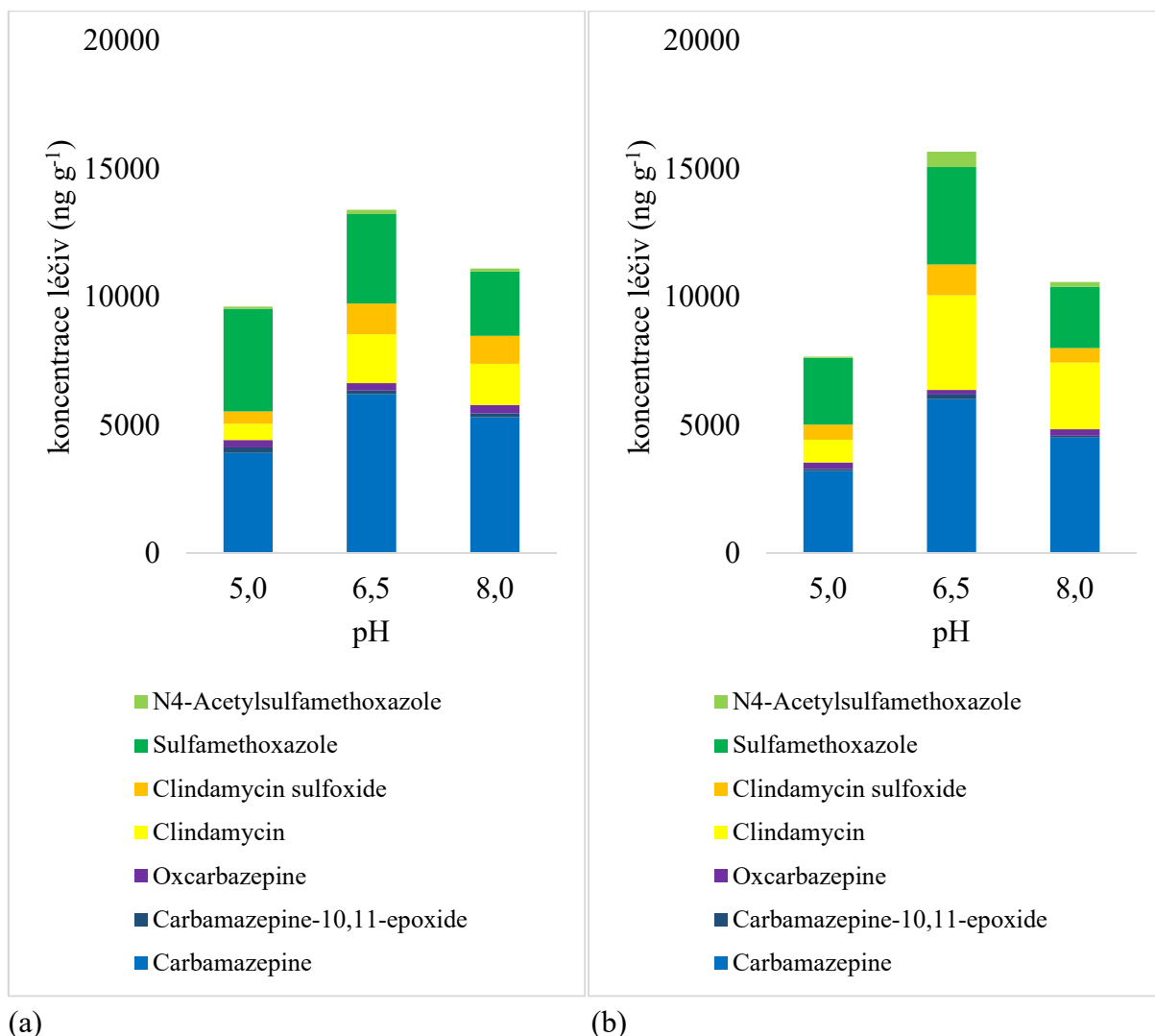
Obr. 50. Hydroponní soustava s pH roztoku 8,0 a pěstovanými rostlinami rukoly.

Rukola pěstovaná v zásaditém prostředí vykazovala nejvyšší nárůst biomasy (obr. 39b, 40b). Na obr. 50 vidíme absorpci léčiv z hydroponního roztoku rostlinami rukoly ode dne přidavku léčiv (30. 4. 2018) do konce první fáze experimentu (21. 5. 2018), kde se obsah léčiv opět zvyšuje. Ve druhé fázi experimentu byl podruhé přidán mix léčiv, ale trend není snižující se, nýbrž se zvyšuje (obr. 50).

## 5.5 Koncentrace léčiv v biomase rostlin

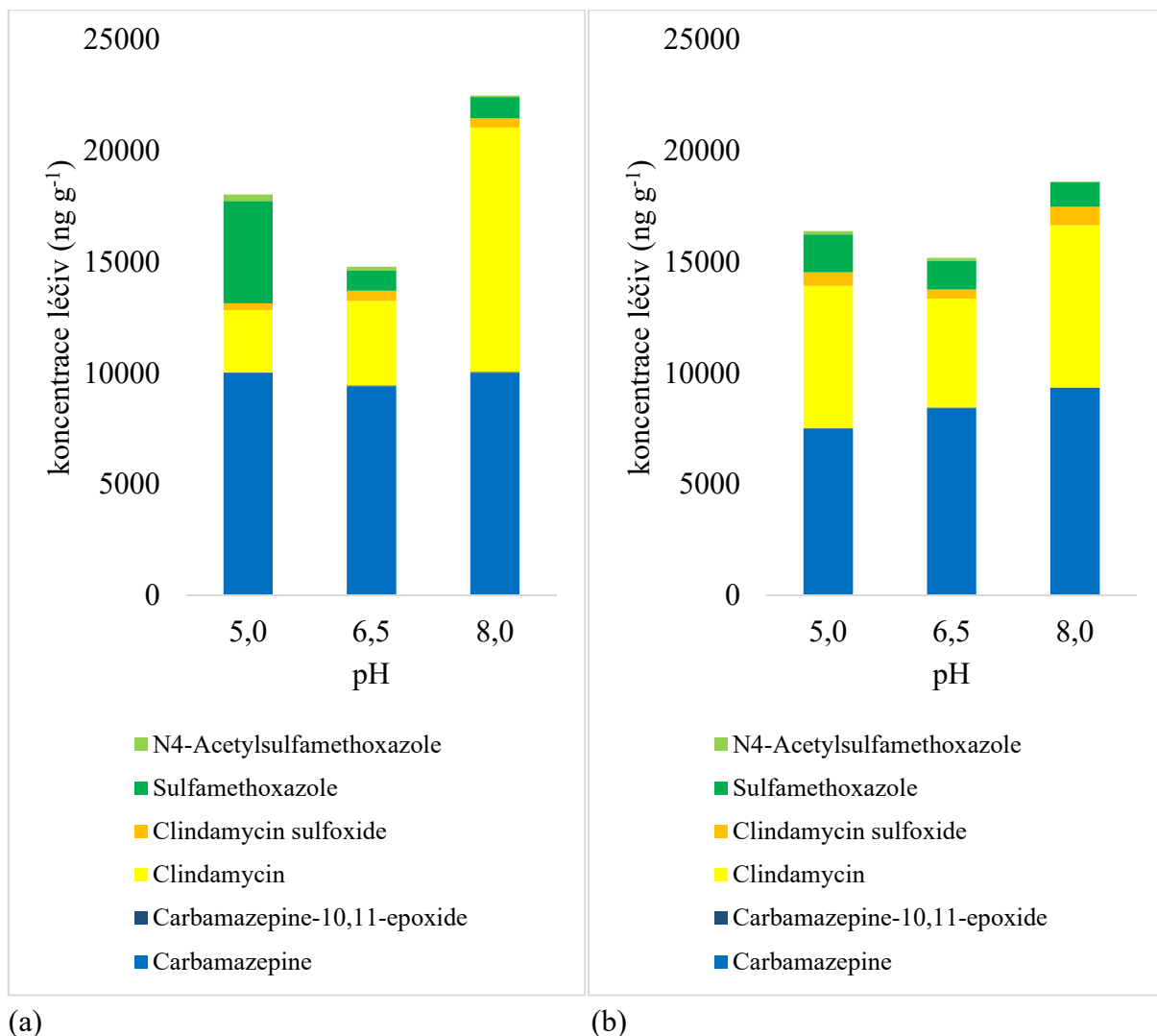
Mezi další zkoumané faktory vyplývající z provedeného experimentu patřila zbytková koncentrace léčiv v rostlinných tkáních. Jedná se o množství léčiv, které rostliny přijaly z živného roztoku hydroponie, a nebylo jimi spotřebováno.

Ve vzorcích hydroponních roztoků z kontrolních soustav hydroponií nebyly farmaceutické látky detekovány. Výsledky měření koncentrací soustav s přidavkem léčiv z obou odběrů jsou vyobrazeny v následujících grafických přílohách.



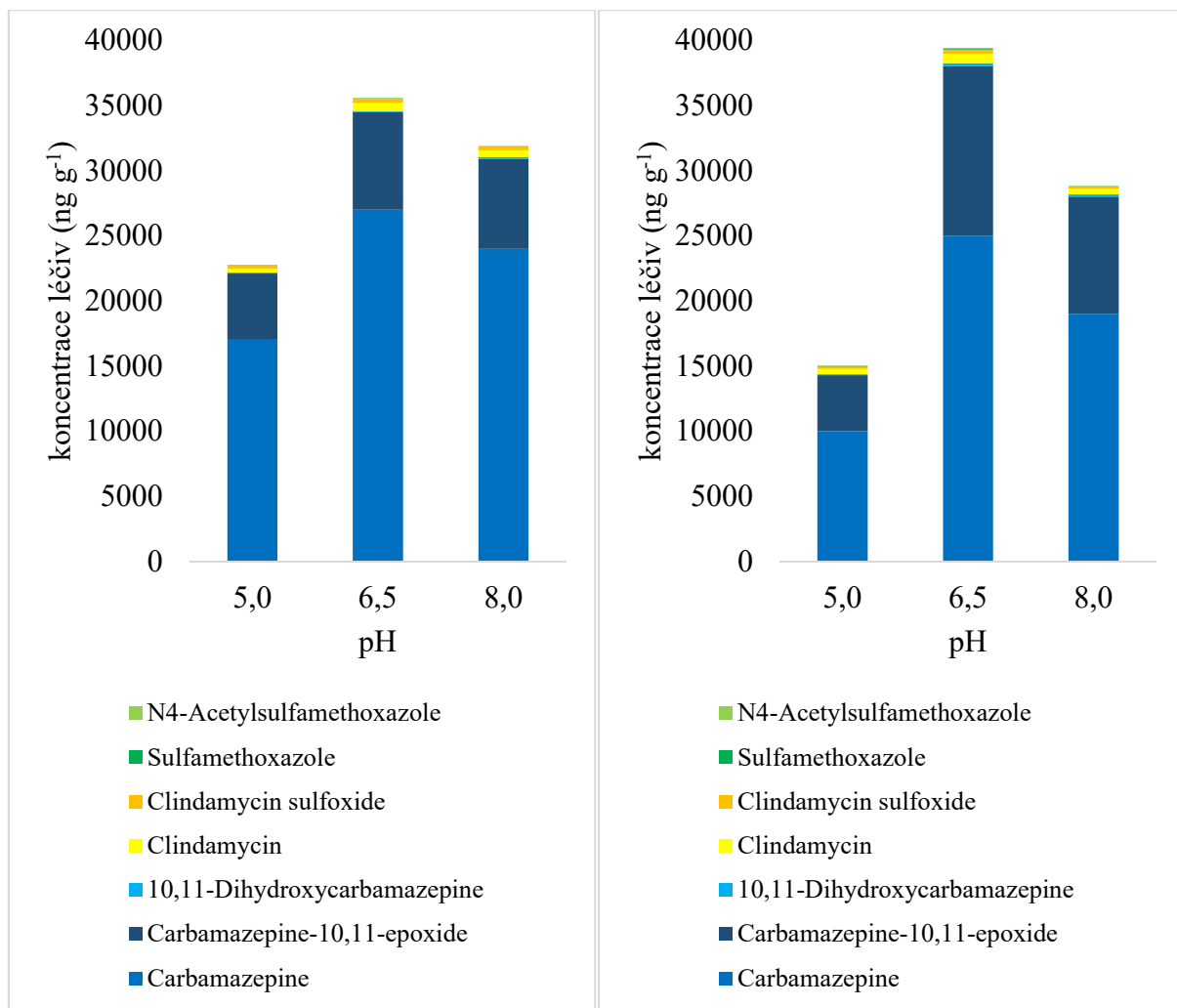
Obr. 39. Zbytková koncentrace léčiv a jejich metabolitů v kořenech špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).

V kořenech špenátu byla detekována všechna léčiva obsažená v mixu léčiv. Koncentrace farmaceutických látek včetně jejich detekovaných metabolitů byla naměřena v obou případech vyšší pro hydroponní soustavy pěstované v oblasti neutrálního pH (hodnota pH 6,5) jak můžeme vidět na obr. 39. Byl zde naměřen obsah metabolitu carbamazepinu, oxcarbazine, který byl detekován pouze v kořenech špenátu.



Obr. 40. Zbytková koncentrace léčiv a jejich metabolitů v kořenech rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).

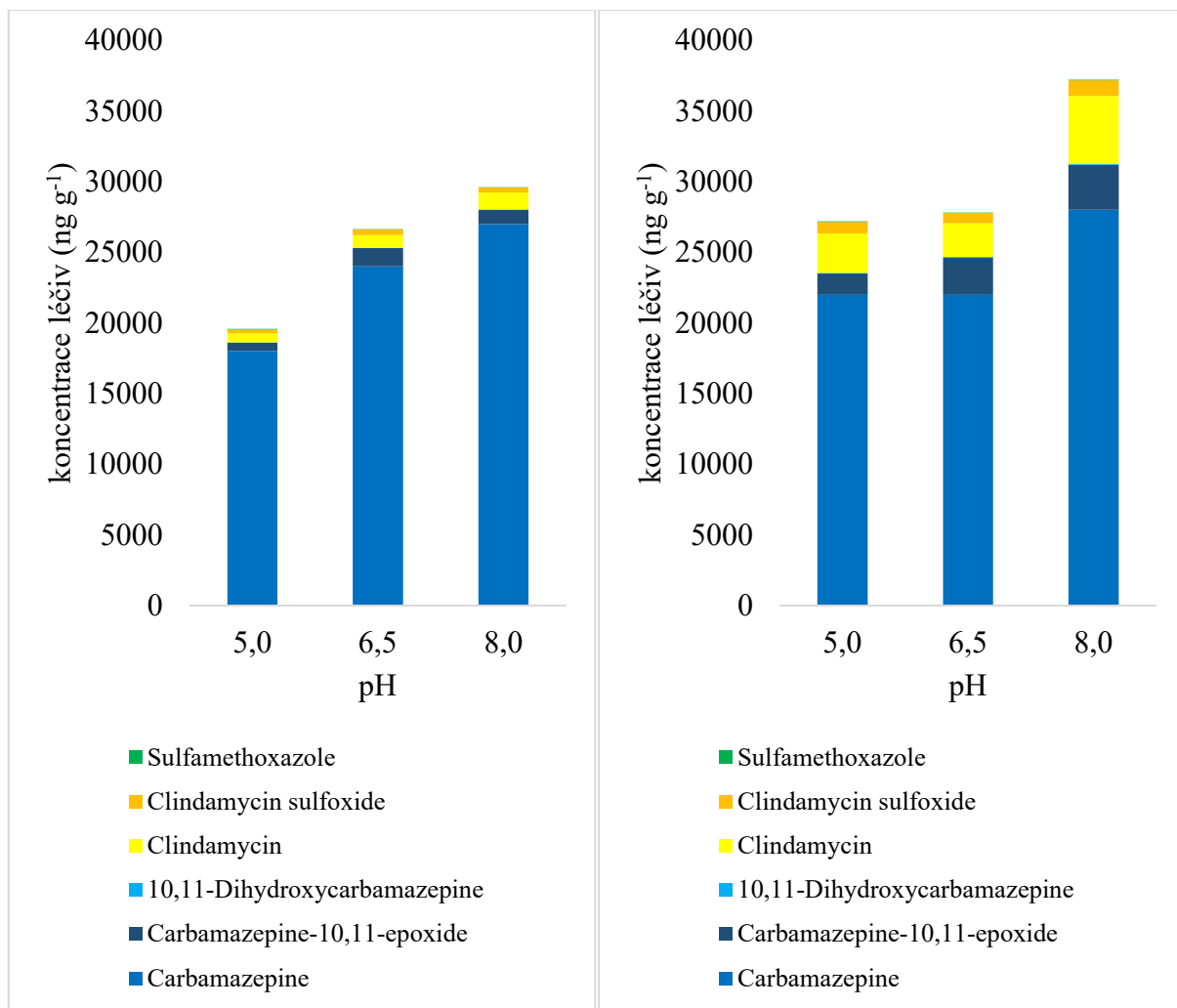
V kořenech rukoly byla také detekována všechna léčiva obsažená v mixu léčiv, je zde však majoritní podíl carbamazepinu a clindamycinu. Koncentrace farmaceutických látek včetně jejich detekovaných metabolitů byla naměřena v obou případech vyšší pro hydroponní soustavy pěstované v oblasti zásaditého pH (hodnota pH 8,0) jak můžeme vidět na obr. 40. Sulfamethoxazol nebyl kořeny rukoly příliš absorbován s výjimkou kyselého pH (hodnota 5,0) jak je zobrazeno na obr. 40a.



(a) (b)  
 Obr. 41. Zbytková koncentrace léčiv a jejich metabolitů v listech špenátu po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).

V listech špenátu byl detekován majoritní podíl carbamazepinu a to ve všech hydroponních soustavách. Druhá nejvyšší koncentrace byla naměřena pro metabolit carbamazepinu, carbamazepin-10,11-epoxid, jak je vidět na obr. 41. Všechny ostatní farmaceutické látky včetně jejich metabolitů byly naměřeny ve velmi nízkých koncentracích. Stejně jako u kořenů špenátu, i u listů rostliny nejvíce absorbovali léčiva a jejich metabolity v hydroponních soustavách pěstovaných v oblasti neutrálního pH (hodnota pH 6,5).





(a)

(b)

Obr. 42. Zbytková koncentrace léčiv a jejich metabolitů v listech rukoly po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).

V listech rukoly byl také detekován majoritní podíl carbamazepinu ve všech hydroponních soustavách. Druhá nejvyšší koncentrace však připadla clindamycinu, za kterým je v těsném závěsu metabolit carbamazepinu. Ani v případě rukoly se obsah sulfamethoxazolu v nadzemních částech nezvýšil a jeho metabolit N4-Acetylsulfamethoxazol nebyl detekován.

## 6 Diskuze

Cílem tohoto experimentu bylo objasnit problematiku léčiv v životním prostředí a přinést nové poznatky o vlivu pH hydroponního roztoku na vstřebávání mixu tří léčiv do dvou modelových rostlin. To souvisí s růstovou schopností rostlin a množstvím vyprodukované biomasy vzhledem k hodnotě pH, při které byly rostliny pěstovány. Hodnoty pH také vymezují, zda jsou rostliny v příznivých či nepříznivých podmínkách pro růst. Výsledky experimentu přináší poznatky o vlivu pH vybraných léčiv a jejich metabolitů na vybrané druhy rostlin.

### 6.1 Shrnutí poznatků literární rešerše

V problematice léčiv zasahujících do životního prostředí se týčí několik hlavních pilířů diskuze. Jedním z takových pilířů je kontaminace zemědělských produktů vlivem zavlažování přečištěnou odpadní vodou, nebo tzv. vodou šedou. Prameny literatury se mnohdy v této problematice ne zcela shodují.

Pokud se touto cestou farmaceutické látky a jejich metabolity mohou dostat do zemědělské produkce potravin, podle Madikizeli et al. (2018) by výskyt léčiv ve vypěstované zelenině mohl mít za následek potencionální riziko dopadu na lidské zdraví. Negativní účinky některých konkrétních léčiv na rostliny, mezi které patřily i zemědělské plodiny, byly zdokumentovány například ve studiích Amy-Sagerse et al. (2017), Cartera et al. (2015), Konga et al. (2007), Lin & Li (2016), nebo Marsoni et al. (2014). Studie Fedorové et al. (2016) prokázala, že jsou-li konzumovány kontaminované části rostlin jako kořeny, listy nebo plody, dochází k akumulaci některých látek v lidském organismu. Tyto látky byly carbamazepin a jeho metabolity, které se do vypěstované zeleniny dostaly vlivem zavlažování přečištěnou odpadní vodou.

Existují také studie, které tvrdí, že většina jednotlivých léčiv nalezených v konzumovatelných tkáních rostlin nebo plodů sklizených z rostlin vystavených potenciální kontaminaci léčivy, vlivem zavlažování tzv. šedou vodou (gray water) nebo používáním čistírenských kalů coby biosolidů v zemědělství představuje minimální riziko pro lidské zdraví. Tyto informace vyplývají ze závěrů studií Christou et al. (2017), Prossera et al. (2014) a Prossera & Sibleyho (2015). K těmto závěrům se příklání také studie Ahmeda et al. (2015), v jehož výzkumu byly zjištěny vysoké koncentrace sulfonamidů v nekonzumovatelných částech zkoumané zeleniny. V plodech však detekovali koncentrace sulfonamidů výrazně pod limitní normou, nižší, než je přijatelná denní dávka. Vlivem omezené translokace mnohých léčiv v rostlinách a transformací látek v rostlinách se riziko nechtěné konzumace farmaceutických látek snižuje, uvádí paní prof. Ing. Radka Kodešová, CSc. ve svém článku v zemědělském časopise.

Dalším již zmiňovaným bodem, je aplikace stabilizovaného čistírenského kalu na zemědělskou půdu jako hnojivo. Upravné kaly se nazývají také biosolidy a slouží jako tzv. půdní kondicionéry. Jak už je patrné z názvu, mají za úkol zlepšení fyzikálních a chemických vlastností půdy a mimo to, účinné využití odpadního produktu vzniklého při činnosti ČOV. Madikizela et al. (2018) tvrdí, že léčiva se dostávají do zemědělské půdy s čistírenskými kaly, protože ČOV obvykle nejsou schopny při čistírenském procesu léčiva z odpadních vod

odstranit. Existují tedy předpoklady pro výskyt farmaceutických látek a jejich metabolitů v čistírenských kalech. S těmito kaly se však nakládá skládkováním a aplikací na zemědělskou půdu jako hnojivo, přičemž oběma těmito způsoby se léčiva mohou uvolňovat do životního prostředí a působit na něj negativně. Na základě analýzy Eurostatu (2018) je odhadováno, že přímá aplikace kalů do půdy nebo aplikace po jejich kompostování představuje více než 50 % z vyprodukovaného množství kalů v Evropské unii.

Studie Ivanové et al. (2018) na základě analýzy čistírenských kalů z pěti ČOV na Slovensku odhaduje, že je v jejich zemi za jeden rok do půdy touto cestou deponováno až 256 kg léčiv.

I přes tyto údaje, studie Cortése et al. (2013) nezaznamenala ve svém experimentu detekovatelnou koncentraci NSAID v sóji ani pšenici pěstovaných za použití čistírenského kalu jako hnojiva. Důvodem může být například stáří jejich studie.

Mezi další pilíře můžeme zařadit kontaminaci půdy statkovými hnojivy. Ta se totiž používají jako zdroj organických hnojiv a jsou běžně aplikována v zemědělství, jak udávají Bin Ho et al. (2014), Tanoue et al. (2012) a Wu et al. (2014b). Statková hnojiva ale mohou obsahovat zbytky veterinárních léčiv a jejich metabolitů obsažených v moči a fekáliích hospodářských zvířat. Příčinou těchto kontaminací je podávání farmaceutických látek hospodářským zvířatům z důvodu terapie a profylaxe. Takto se do půdy mohou dostávat zejména anthelmintika a antibiotika.

Studie Kodešové et al. (2016) uvádí, že výskyt léčiv v životním prostředí závisí nejen na spotřebě léčiv populací, ale také na spotřebě veterinárních léčiv.

Antibiotika jsou častým předmětem diskuzí mezi řadou odborných literárních zdrojů, co se kontaminace životního prostředí týče. Johne et al. (2005) uvádí, že i pouhé metabolity antibiotik mohou zachovat svou farmaceutickou aktivitu.

Antibiotika se do životního prostředí mohou dostávat zavlažováním přečištěnou odpadní vodou, aplikací čistírenských kalů, průsaky ze skládek, aplikací statkových hnojiv, ale i dalšími způsoby. To je zřejmě důvodem, proč je jim věnována zvláštní pozornost v dané problematice.

Hlavním důvodem obav z výskytu antibiotik v životním prostředí je potencionální vznik rezistence vůči mikroorganismům, jak dokládají studie Bebory et al. (1994), Heelana et al. (2004) a Kristianssona et al. (2011). Podle Koby et al. (2017) může vznik rezistence vést k problémům při léčbě všech onemocnění způsobených bakteriemi.

Je nutné zmínit také existenci studií zabývajících se osudem vybraných antibiotik v různých typech půd jako například studie Koby et al. (2017) a Kodešové et al. (2015, 2016).

## **6.2 Vlastní výsledky**

### **6.2.1 Vliv vlastností léčiv na výsledky experimentu**

Carbamazepin je velmi stabilní a vysoce perzistentní farmaceutická látka. Důvodem stability carbamazepinu je jeho heterocyklická struktura (Kodešová et al. 2016). Toto léčivo se přirozeně metabolizuje enzymaticky, není ho proto možné odbourávat bakteriální cestou, například v půdním prostředí. O stabilitě carbamazepinu v životním prostředí, zejména v prostředí půdy, pojednávají tab. 3 a 4. Mezi faktory vypovídající schopnost sloučenin

setrvávat v životním prostředí patří například  $DT_{50}$ ,  $K_{oc}$ ,  $K_{ow}$  a MW. Poločas rozpadu carbamazepinu je jednoznačně vysoký, podle studie Kodešové et al. (2016) dosahuje v některých půdách hodnoty až přes 1000 dní. Jako další lze uvést vyšší tendenci k bioakumulaci v prostředí, kterou udává hodnota rozdělovacího koeficientu n-oktanol voda. Carbamazepin je vlivem své vysoké perzistence a nízké sorpční afinity velmi mobilní sloučeninou.

Clindamycin je farmaceutická látka méně perzistentní v životním prostředí. Hodnota  $K_{ow}$  (tab. 4) se sice velmi podobá carbamazepinu, poločas rozpadu (tab. 3) se však pohybuje ve vybraných typech půd průměrně kolem 23 dní. Clindamycin tedy není příliš stabilní látkou a podléhá mikrobiální degradaci. Mnohem stabilnější než clindamycin jsou jeho metabolity. Zejména clindamycin sulfoxid, který se v našich vzorcích vyskytoval ve vyšších koncentracích. Oproti carbamazepinu je mobilita clindamycinu nízká. I přesto, že clindamycin není stabilní látkou, jeho vysoká molekulová hmotnost mu napomáhá setrvat v půdě co možná nejdéle.

Sulfamethoxazol je látka velmi málo perzistentní. Hodnota  $K_{ow}$  uvedená v tab. 4 je  $<1$ . To potvrzuje i poločas rozpadu sulfamethoxazolu, který je velmi nízký. Podle studie Kodešové et al. (2016) má sulfamethoxazol nejčastější hodnota poločasu rozpadu v půdách 5–10 dní. Ani metabolity sulfamethoxazolu nejsou stabilními látkami a velmi rychle biodegradují, například N4-Acetylsulfamethoxazol. Sulfamethoxazol je méně bioaktivní při nižších hodnotách pH, rozkládá se proto pomaleji než za podmínek s vyšším pH (Kodešová et al. 2016).

## 6.2.2 Vliv pH na růst rostlin

Kyselost či zásaditost prostředí významně ovlivňovala schopnosti růstu nadzemních i podzemních částí modelových rostlin. Optimální pH pro pěstování špenátu setého (*Spinacia oleracea* L. hybrid Clarinet F1) je 6,0 – 7,5 a u rockety seté (*Eruca sativa* (L.) Mill. hybrid Speedy) 6,0 – 6,8 (SEMO a.s. 2019). Dalo by se říci, že roketě seté vyhovuje více slabě kyselé prostředí, naopak špenátu setému nevádí ani slabě zásadité prostředí. Kyselé prostředí o hodnotě pH 5,0 nemělo vyhovovat ani jednomu druhu rostlin, stejně jako zásadité prostředí o hodnotě pH 8,0. Naproti tomu téměř neutrální hodnota pH 6,5 byla námi zvolena jako optimum pro oba botanické druhy.

Ze všech kontrolních soustav, tedy těch bez přídavku mixu léčiv, při prvním odběru po 21 dnech experimentu plyne následující zjištění, a to sice že oběma botanickým druhům rostlin vyhovovalo pro svůj růst nejvíce kyselé prostředí pH. Růst nadzemních i podzemních částí špenátu i rukoly vykazuje největší nárůst biomasy při pH 5,0 se snižujícím se hmotnostním trendem pro pH 6,5 a ještě nižším pro pH s hodnotou 8,0. To je možné zejména z důvodu pěstování rostlin v hydroponních podmínkách. Naopak v případě všech soustav s přídavkem mixu léčiv, při prvním odběru po 21 dnech experimentu, jsme zjistili zcela rozdílné výsledky. Rostlinám špenátu, jak nadzemním, tak i podzemním částem vyhovovalo nejvíce pro svůj růst neutrální prostředí pH. V našem případě se jedná o pH udržované kolem hodnoty 6,5, které se shoduje s optimálním pH pro pěstování rostlin špenátu v půdě. Rostlinám rukoly, jak nadzemním, tak i podzemním částem vyhovovalo nejvíce pro svůj růst zásadité prostředí pH.

To dokazuje vliv přítomnosti mixu léčiv obsahující carbamazepin, clindamycin a sulfamethoxazol na optimální pH růstu rostlin pěstovaných v hydroponních podmínkách. Zároveň lze říci, že tento závěr evokuje vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami pěstovanými v hydroponních podmínkách. Důvodem jsou výsledky z prvního i druhého odběru vzorků rostlin.

Z kontrolních soustav při druhém odběru, 38. den experimentu, jsme zjistili následující výsledky. Rostliny špenátu tvořili největší množství biomasy v neutrálním prostředí pH, což přináší změnu oproti prvnímu odběru, kde bylo preferované kyselé pH. Rostliny rukoly prosperovaly výborně ve všech třech oblastech pH, zaznamenali jsme výrazný nárůst oproti soustavám s přidavkem mixu léčiv. Výsledky nárůstu biomasy 38. den experimentu u soustav s přidavkem mixu léčiv byly zajímavým zjištěním v případě rukoly. Významný nárůst biomasy při bazickém pH byl oproti ostatním dvěma oblastem pH až trojnásobný. V případě špenátu se výsledky příliš neliší oproti kontrolním soustavám, pouze jsme zaznamenali nižší nárůst biomasy.

Z výsledků získaných u soustav s pěstovanou rukolou lze vypovědět závislost pH na vstřebávání léčiv rostlinami rukoly. Zásadité prostředí pH výrazně podporovalo růst a absorpci léčiv, zatímco kyselé a neutrální prostředí pH výrazně bránilo růstu a absorpci léčiv. Růst rostlin rukoly v kyselé a neutrální oblasti pH dosahoval polovičních hodnot oproti jejich kontrolním soustavám. Výsledky z druhého odběru dokazují vliv pH živného roztoku na vstřebávání mixu léčiv rostlinami rukoly.

### 6.2.3 Vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami

Po prvním odběru vzorků byl zjištěn trend v růstu kořenů špenátu v kontrolních soustavách. Zaznamenali jsme, že kořeny špenátu nejlépe rostly se snižujícím se pH (obr. 21a, 22a). U rostlin pěstovaných s přidavkem mixu léčiv byl zjištěn trend související s plochou kořenů. Nejvyšší nárůst byl zaznamenán pro neutrální pH (obr. 21a, 22a) a stejně tak největší plocha kořenů (obr. 24a). Po druhém odběru vzorků byly zjištěny rozdíly mezi čerstvou biomasou a sušinou u soustav s přidavkem léčiv (obr. 21b, 22b). Čerstvá biomasa kořenů špenátu vykazovala trend ve tvaru U s nejnižší hmotností pro neutrální pH a sušina naopak, trend ve tvaru  $\cap$  s nejvyšší hmotností pro neutrální pH. U kontrolních soustav byl zjištěn stejný trend nárůstu (obr. 21b, 22b) s plochou kořenů (obr. 24b). Shoda byla nalezena i u obsahu sušiny soustav s přidavkem léčiv (obr. 22b) vůči ploše kořenů (obr. 24b). Vyšší nárůst plochy kořenů v neutrální oblasti se shoduje s nejvyšší koncentrací léčiv, která byla detekována také v této oblasti pH. Domnívám se, že také existuje souvislost mezi plochou kořenů a koncentrací léčiv ve vzorcích. Větší plocha by mohla znamenat větší sací prostor kořenů, a tím i vyšší koncentrace léčiv ve vzorcích.

Po prvním odběru vzorků byl zjištěn trend v růstu listů špenátu v kontrolních soustavách. Zaznamenali jsme, že listy špenátu nejlépe rostly se snižujícím se pH (obr. 33a, 34a), stejně jako u kořenů špenátu. Navíc byl zaznamenán stejný trend u plochy listů špenátu (obr. 36a). U rostlin pěstovaných s přidavkem mixu léčiv byl také zjištěn trend. Trend ve tvaru  $\cap$  s nejvyšší hmotností pro neutrální pH byl stejný pro hmotnost čerstvé biomasy (obr. 33a), sušiny (obr. 34a) i plochu listů špenátu (obr. 36a). Po druhém odběru vzorků byla zjištěna shoda mezi čerstvou biomasou a sušinou u soustav s přidavkem léčiv (obr. 33b, 34b). Kontrolní soustavy

vykazovaly trend ve tvaru  $\cap$  s nejvyšší hmotností pro neutrální pH v případě čerstvé hmotnosti (obr. 33b), sušiny (obr. 34b) i plochy listů špenátu (obr. 36b). Soustavy s přidavkem mixu léčiv vykazovaly trend ve tvaru  $\cup$  s nejnižší hmotností pro neutrální pH v případě čerstvé hmotnosti (obr. 33b) a sušiny (obr. 34b). Nebyl zaznamenán žádný související trend v grafu plochy listů rukoly (obr. 36b) v případě soustav s přidavkem mixu léčiv.

Po prvním odběru vzorků byl zjištěn trend v růstu kořenů rukoly. Zaznamenali jsme, že u kontrolních soustav se hmotnost čerstvé biomasy i hmotnost sušiny rapidně zvyšovaly se snižujícím se pH (obr. 27a, 28a). Tento trend byl v téměř stejné podobě pozorován u plochy listů rukoly (obr. 30a). V případě soustav s přidavkem mixu léčiv byl trend opačný. Zaznamenali jsme zvyšující se hmotnost čerstvé biomasy i sušiny se zvyšujícím se pH (obr. 27b, 28b). Stejně jako u kontrolních soustav se plocha kořenů rukoly trendově shodovala. (obr. 30a). Nejvyšší nárůst byl tedy v kyselé oblasti pH pro kontrolní soustavy a v zásadité oblasti pH pro soustavy s přidavkem mixu léčiv. Po druhém odběru vzorků (po 38 dnech) byl zaznamenán trend u hmotnosti čerstvé biomasy ve tvaru  $\cup$  s nejnižší hodnotou pro neutrální pH (obr. 27b). Hmotnost sušiny na obr. 28b udává nejvyšší hodnoty pro oblast bazického pH (kontrola i léčiva). Je pozorovatelný trend ve tvaru  $\cup$ , hodnota v kyselé oblasti pH však zdaleka nedosahuje hodnoty v zásadité oblasti v případě soustav s přidavkem léčiv.

Po prvním odběru vzorků byl zjištěn stejný zajímavý trend v růstu listů rukoly, jako při růstu kořenů. Zaznamenali jsme, že u kontrolních soustav se hmotnost čerstvé biomasy i hmotnost sušiny rapidně zvyšovaly se snižujícím se pH (obr. 39a, 40a). Tento trend byl také pozorován u plochy listů rukoly (obr. 42a). V případě soustav s přidavkem mixu léčiv byl trend opačný. Zaznamenali jsme zvyšující se hmotnost čerstvé biomasy i sušiny se zvyšujícím se pH (obr. 39b, 40b). Stejně jako u kontrolních soustav se plocha kořenů rukoly trendově shodovala. (obr. 42a). Nejvyšší nárůst byl tedy v kyselé oblasti pH pro kontrolní soustavy a v zásadité oblasti pH pro soustavy s přidavkem mixu léčiv. V případě druhého odběru vzorků byl také zaznamenán trend u hmotnosti čerstvé biomasy ve tvaru  $\cup$  s nejnižší hodnotou pro neutrální pH (obr. 39b), jako v případě kořenů rukoly. Hmotnost sušiny na obr. 40b se pozitivně shoduje s obr. 42b, na kterém je zobrazena plocha kořenů rukoly. Nejvyšší hodnota byla detekována pro oblast zásaditého pH v případě soustav s přidavkem mixu léčiv. U kontrolních soustav je pozorovatelný naznačený trend ve tvaru  $\cup$ .

#### **6.2.4 Vliv pH na zbytkovou koncentraci léčiv ve vzorcích vody**

Ve vzorcích živného roztoku byla detekována nejen použitá léčiva, ale také jejich metabolity. Nejvyšší koncentrace léčivých látek byly detekovány u carbamazepinu a clindamycinu. Sulfamethoxazol, jak je viditelné na obr. 45 a 46, se naopak v některých vzorcích téměř nevyskytoval. Tyto vzorky byly zpravidla vzorky odebírané v průběhu experimentu, nepřítomnost sulfamethoxazolu je proto přisuzována samovolné degradaci léčiva ve vodě a absorpci rostlinami. Přesto jsme však zaznamenali vliv zásaditého pH na degradaci a absorpci sulfamethoxazolu. Při zásaditém pH (8,0) byl sulfamethoxazol více perzistentní (obr. 47, 48) než v ostatních hydroponní soustavách. Ve vzorcích byl také detekován metabolit clindamycinu, který byl třetí nejkoncentrovanější látkou ve vzorcích. Zmiňovaný metabolit byl clindamycin sulfoxid. Dalšími látkami vyskytujícími se ve vzorcích živného roztoku

hydroponních soustav byly N4-acetylsulfamethoxazol a 10,11-Dihydroxycarbamazepin. Tyto látky jsou metabolity sulfamethoxazolu a carbamazepinu a jejich koncentrace ve vzorcích byly velice nízké, avšak přesto detekovatelné (obr. 43–48).

### 6.2.5 Vliv pH na zbytkovou koncentraci léčiv ve vzorcích rostlin

Vzorky rostlin byly rozděleny do těchto kategorií: podzemní části špenátu, podzemní části rukoly, nadzemní části špenátu a nadzemní části rukoly.

Ve vzorcích podzemních částí špenátu, tedy kořenů, bylo detekováno méně kontaminujících látek než v ostatních vzorcích. Nejvyšší koncentrace byla naměřena pro léčivo carbamazepin. Carbamazepin se v hydroponních roztocích vyskytoval pouze v neutrální formě (obr. 12) a vlivem své stability byla jeho přítomnost na základě dřívějších studií (Koba et al. 2016, Kodešová et al. 2015, 2016, 2019) předpokládána. Vzorky obsahovaly i zbylá dvě léčiva z mixu a jejich metabolity. U všech léčivých látek se koncentrace různí datem odběru a vlivem pH. Vliv pH na vstřebávání léčiv je prokazatelný dle obr. 39, protože nejvyšší koncentrace léčiv a jejich metabolitů byly detekovány pro rostliny pěstované v neutrální oblasti s udržovanou hodnotou pH 6,5.

Vzorky podzemních částí rukoly měly také dominantní podíl léčiva carbamazepinu. Celkový obsah léčiv ve vzorcích kořenů rukoly byl vyšší než v kořenech špenátu. Dominantní oblast pH pro nejvyšší koncentrace léčiv byla oblast s bazickým pH, jak je znázorněno na obr. 40. Mimo carbamazepin byla ve vzorcích ve vyšších koncentracích detekována také léčiva clindamycin a sulfamethoxazol, a to včetně jejich metabolitů. Sulfamethoxazol se v hydroponních roztocích vyskytoval v neutrální a aniontové formě (obr. 12), vlivem čehož byl absorbovatelný při všech hodnotách pH.

V případě nadzemních částí rostlin byl detekován v nejvyšších koncentracích carbamazepin (obr. 41, 42), který byl celkově nejvíce absorbovanou látkou z hydroponního roztoku ve všech vzorcích. Vzorky rostlin špenátu obsahovaly také významné množství jeho metabolitu, carbamazepin-10,11-epoxidu, jak je znázorněno na obr. 41. Sulfamethoxazol a ostatní metabolity léčiv byly detekovány pouze v minimálním množství. Vliv pH na vstřebávání je patrný např. z obr. 41b, kde vidíme významný rozdíl mezi variantou s neutrálním a kyselým pH.

Ve vzorcích rostlin rukoly byl detekován ve vyšších koncentracích clindamycin a také carbamazepin-10,11-epoxid, zejména v odběru vzorků po 38 dnech (obr. 42b). Clindamycin se v hydroponních roztocích vyskytoval v kationtové a neutrální formě (obr. 12). Se zvyšujícím se pH (6,5 a 8,0) rostlo množství zastoupení neutrální formy sloučeniny a léčivo bylo rostlinami lépe absorbováno. Důvodem je záporně nabitý povrch kořenů rostlin, kterým jsou přitahovány kladně nabitě molekuly clindamycinu v kyselém prostředí a stávají se méně pohyblivými (Kodešová et al. 2019). Vyjimku tvoří rostliny rukoly (obr. 40b, 42b) při druhém odběru vzorků, kde je clindamycin absorbován také v kyselé oblasti pH. Je zde patrný nejen vliv pH na vstřebávání léčiv rostlinami (obr. 42a), ale také vliv nárůstu biomasy na vstřebávání.

### 6.3 Srovnání vlastních výsledků s existujícími studii

Studie Kodešové et al. (2019) zkoumala absorpci atenololu, carbamazepinu a sulfamethoxazolu ve třech půdních typech na čtyřech modelových rostlinách. Jednalo se o půdní typy: černozem modální, kambizem modální a regozem modální. Jako modelové rostliny byly použity: kozlíček polní, špenát setý, roketa setá a ředkev setá. V případě carbamazepinu i sulfamethoxazolu se výsledky studie shodují s našimi.

Vyšší koncentrace sulfamethoxazolu a jeho metabolitu byla detekována v kořenech a nižší koncentrace v listech rostlin. Hodnoty sulfamethoxazolu byly vyšší v kořenech špenátu (čeleď *Amaranthaceae*) než v kořenech rukoly (čeleď *Brassicaceae*), stejně jako v případě našeho experimentu (obr. 39, 40). U carbamazepinu byly naopak detekovány vyšší koncentrace v listech rostlin než v kořenech a vyšší koncentrace v kořenech kozlíčku a špenátu oproti ředkvi a rukole. Důvodem je zřejmě menší molekulová hmotnost (MW) sloučeniny (tab. 4), vlivem které je dobře distribuován do nadzemních částí rostlin. Rozdíly kořenové absorpce mezi rostlinami byly pravděpodobně způsobeny rozdílností botanických druhů. Carbamazepin byl stabilní i ve všech zkoumaných půdních typech a označen za perzistentní farmaceutickou látku, stejně jako v kapitole 6.2.1 (Vliv vlastností léčiv na výsledky experimentu) našeho experimentu. Studie Kodešové et al. (2019) uvádí, že metabolizace sloučenin v rostlinách závisí na jejich botanickém druhu. Zástupci čeledi *Brassicaceae* (ředkev, rukola) nejsou příliš schopni metabolizovat farmaceutické látky. To potvrzuje obr. 42 (koncentrace léčiv v listech rukoly), který oproti obr. 41 (koncentrace léčiv v listech špenátu) obsahuje pouze nízké koncentrace metabolitů léčiv včetně carbamazepin-10,11-epoxidu obsaženého ve vyšších koncentracích ve vzorcích špenátu. Nadruhou stranu zástupci čeledi *Amaranthaceae* (špenát) a *Caprifoliaceae* (kozlíček) jsou schopni farmaceutické látky metabolizovat celkem dobře, například sulfamethoxazol. Porovnáme-li obr. 39 a 40, zjistíme nejen vyšší koncentrace metabolitů léčiv ve vzorcích kořenů špenátu, ale také byl v kořenech špenátu deteková metabolit carbamazepinu, který v kořenech rukoly nebyl detekován vůbec.



## 7 Závěr

- V literární rešerši byly přiblíženy hlavní otázky problematiky léčiv v životním prostředí. Publikované články vědeckých časopisů a studie se často neshodují a v některých případech mají dokonce protichůdné závěry. Existují studie zabývající se vlivem nejčastěji se vyskytujících farmaceutických látek v životním prostředí, tyto studie zkoumají látky v půdě a vodě. Nejčastějším problémem studií je úzký rozsah zkoumaných kontaminovaných území a vod. Studie se často zaměřují na konkrétní vodní tok nebo zemědělskou plochu. V České republice, stejně jako v mnoha dalších zemích, chybí legislativní rámec, kterým by byla problematika léčiv v životním prostředí řešena. V současné době se na Ministerstvu zemědělství řeší problematika a metodiky zalévání rostlin a využívání odpadní a šedé vody v zemědělství z důvodu narovnání trhu. Bylo by tedy zřejmě adekvátní zvážit ošetření této problematiky zákonem, který by udával limitní koncentrace farmaceutických látek včetně jejich metabolitů v odpadních a šedých vodách využívaných nejen k zavlažování zemědělských plodin, ale i zalévání městské vegetace. Problematika výskytu léčiv v životním prostředí je globálním problémem, který bychom měli řešit, protože se dotýká nás všech.
- Byla prokázána závislost pH na vstřebávání vybraných léčiv modelovými rostlinami pěstovanými v hydroponních podmínkách, zejména vlivem jejich koncentrace v odebraných vzorcích rostlin. Vzorky rostlin obsahovaly rozdílné množství farmaceutických látek včetně jejich metabolitů v závislosti na hodnotách pH, ve kterém byly pěstovány. Rozdílné koncentrace léčiv byly naměřeny také ve vzorcích hydroponního roztoku, na který mělo pH také vliv. Nejvyšší koncentrace léčiv byly detekovány ve vzorcích rostlin pěstovaných v oblasti s neutrálním pH pro rostliny špenátu a v oblasti s bazickým pH pro rostliny rukoly. Nejlépe absorbovaným léčivem byl vyhodnocen carbamazepin, částečně metabolizující v rostlinných tkáních na carbamazepin-10,11-epoxid a další metabolity, z důvodu dlouhého poločasu rozpadu, stability heterocyklické struktury, nízké biodegradaci a vysoké mobility sloučeniny. Clindamycin byl v porovnání s carbamazepinem absorbován hůře, přesto byl detekován ve všech vzorcích rostlin. Důvodem může být nižší poločas rozpadu a podléhání mikrobiální degradaci. Sulfamethoxazol byl absorbován významněji pouze v podzemních částech rostlin, zřejmě vlivem velmi krátkého poločasu rozpadu a dalších faktorů vypovídající nízkou perzistenci v životním prostředí.
- Výsledky experimentu mohou být přínosem pro studie zabývající se problematikou léčiv v životním prostředí a mohou být příspěvkem k objasnění chování carbamazepinu, clindamycinu a sulfamethoxazolu při různých hodnotách pH nejen ve vodním prostředí.

## 8 Literatura

- Ahmed MBM, Rajapaksha AU, Lim JE, Vu NT, Kim IS, Kang HM, Lee SS, Ok YS. 2015. Distribution and accumulative pattern of tetracyclines and sulfonamides in edible vegetables of cucumber, tomato, and lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**(2):398–405.
- Amy-Sagers C, Reinhardt K, Larson DM. 2017. Ecotoxicological assessments show sucralose and fluoxetine affect the aquatic plant, *Lemna minor*. *Aquatic Toxicology* **185**:76–85.
- Andersen H, Siegrist H, Halling-Sorensen B, Ternes TA. 2003. Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant. *Environmental Science & Technology* **37**:4021–4026.
- Balakrishna K, Rath A, Praveenkumarreddy Y, Guruge KS, Subedi B. 2017. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **137**:113–120.
- Bartrons M, Peñuelas J. 2017. Pharmaceuticals and personal-care products in plants. *Trends in Plant Science* **22**:194–203.
- Bebora LC, Oundo JO, Yamamoto H. 1994. Resistance of *Escherichia coli* strains, recovered from chickens to antibiotics with particular reference to trimethoprim-sulfamethoxazole (Septrin). *East African Medical Journal* **71**:624–627.
- Bin Ho Y, Zakaria MP, Latif PA, Saari N. 2014. Occurrence of veterinary antibiotics and progesterone in broiler manure and agricultural soil in Malaysia. *Science of the Total Environment* **488**:261–267.
- Boxall ABA, Rudd MA, Brooks BW, Caldwell DJ, Choi K, Hickmann S, Innes E, Ostapyk K, Staveley JP, Verslycke T, Ankley GT, Beazley KF, Belanger SE, Berninger JP, Carriquiriborde P, Coors A, Deleo PC, Dyer SD, Ericson JF, Gagné F, Giesy JP, Gouin T, Hallstrom L, Karlsson MV, Larsson DG, Lazorchak JM, Mastrocco F, McLaughlin A, McMaster ME, Meyerhoff RD, Moore R, Parrott JL, Snape JR, Murray-Smith R, Servos MR, Sibley PK, Straub JO, Szabo ND, Topp E, Tetreault GR, Trudeau VL, Van Der Kraak G. 2012. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? *Environmental Health Perspectives* **120**:1221–1229.
- Calderón-Preciado D, Matamoros V, Savé R, Muñoz P, Biel C, Bayona JM. 2013. Uptake of microcontaminants by crops irrigated with reclaimed water and groundwater under real field greenhouse conditions. *Environmental Science and Pollution Research* **20**:3629–3638.
- Carrasquillo AJ, Bruland GL, Mackay AA, Vasudevan D. 2008. Sorption of ciprofloxacin and oxytetracycline zwitterions to soils and soil minerals: influence of compound structure. *Environmental Science & Technology* **42**:7634–7642.
- Carrillo M, Siebe C, Dalkmann P, Siemens J. 2016. Competitive sorption of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) surfactants and the antibiotics sulfamethoxazole and ciprofloxacin in wastewater-irrigated soils of the Mezquital Valley, Mexico. *Journal of Soils and Sediments* **16**:2186–2194.

- Carter LJ, Williams M, Böttcher C, Kookana RS. 2015. Uptake of pharmaceuticals influences plant development and affects nutrient and hormone homeostases. *Environmental Science & Technology* **49**:12509–12518.
- Conkle JL, Lattao C, White JR, Cook RL. 2010. Competitive sorption and desorption behavior for three fluoroquinolone antibiotics in a wastewater treatment wetland soil. *Chemosphere* **80**:1353–1359.
- Cortés JM, Larsson E, Jönsson JÅ. 2013. Study of the uptake of non-steroid antiinflammatory drugs in wheat and soybean after application of sewage sludge as a fertilizer. *Science of the Total Environment* **449**:385–389.
- Del Re G, Di Donato A, Volpe R, Perilli MG. 2007. Urban wastewater reuse: water treatment and effectiveness on antibiotic-resistant bacteria abatement. *WIT Transactions on Ecology and the Environment* **103**:437–446.
- Elmund GK, Morrison SM, Grant DW, Nevins MP. 1971. Role of excreted chlortetracycline in modifying the decomposition process in feedlot waste. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **6**:129–132.
- Evisa. 2010. Thermo Scientific - TSQ Quantum Ultra™ Triple Quadrupole Mass Spectrometer. Available from: <http://www.speciation.net/Database/Instruments/Thermo-Scientific/TSQ-Quantum-Ultra-Triple-Quadrupole-Mass-Spectrometer-;i3180> (accessed March 2019).
- Fedorova G, Nebesky V, Randak T, Grabic R. 2014. Simultaneous determination of 32 antibiotics in aquaculture products using LC-MS/MS. *Chemical Papers* **68**(1):29–36.
- Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* **76**:122–159.
- Fér M, Kodešová R, Golovko O, Schmidtová Z, Klement A, Nikodem A, Kočárek M, Grabic R. 2018. Sorption of Atenolol, Sulfamethoxazole and Carbamazepine onto Soil Aggregates from the Illuvial Horizon of the Haplic Luvisol on Loess. *Soil & Water Research* **13**:177–183.
- Fram MS, Belitz K. 2011. Occurrence and concentrations of pharmaceutical compounds in groundwater used for public drinking-water supply in California. *Science of the Total Environment* **409**:3409–3417.
- GIB Lighting. 2019. GIB Lighting Growth Spectrum Advanced – růstové lampy pro zdravý vývoj rostlin. Available from: <https://www.gib-lighting.de/growth-spectrum-advanced> (accessed February 2019).
- Goddek S, Delaide B, Mankasingh U, Ragnarsdottir KV, Jijakli H, Thorarinsdottir R. 2015. Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics. *Sustainability* **7**:4199–4224.
- Godfrey E, Woessner W, Benotti M. 2007. Pharmaceuticals in on-site sewage effluent and ground water, Western Montana. *Ground Water* **45**(3):263–271.

- Goldstein G, Shenker M, Chefetz B. 2014. Insights into the uptake processes of wastewater borne pharmaceuticals by vegetables. *Environmental Science & Technology* **48**(10):5593–5600.
- Golovko O, Koba O, Kodešová R, Fedorova G, Kumar V, Grabic R. 2016. Development of fast and robust multiresidual LC-MS/MS method for determination of pharmaceuticals in soils. *Environmental Science and Pollution Research* **23**:14068–14077.
- Golovko O, Kumar V, Fedorova G, Randak T, Grabic R. 2014. Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere* **111**:418–426.
- GrowGarden – GrowShop. 2019. Adjust-a-wings ENFORCER Large. Available from: <https://www.growgarden.cz/adjust-a-wings-reflector/2577-adjust-a-wing-enforcer-large-vc-kabelu-a-objimky.html> (accessed February 2019).
- Hanna Instruments. 2019. pH/EC/TDS/T Combo tester, vodotěsný. Available from: <https://www.hanna-instruments.cz/phectdst-combo-tester-vodotesny> (accessed February 2019).
- Heelan JS, Hasenbein ME, McAdam AJ. 2004. Resistance of group B streptococcus to selected antibiotics, including erythromycin and clindamycin. *Journal of Clinical Microbiology* **42**:1263–1264.
- Holling CS, Bailey JL, Heuvel BV, Kinney CA. 2012. Uptake of human pharmaceuticals and personal care products by cabbage from fortified and biosolids-amended soils. *Journal of Environmental Monitoring* **14**(11):3029–3036.
- Horsing M, Ledin A, Grabic R, Fick J, Tysklind M, Jansen JL, Andersen HR. 2011. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. *Water Research* **45**:4470–4482.
- Huntscha S, Singer HP, Mc Ardell CS, Frank CE, Hollender J. 2012. Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutant sin ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1268**:74–83.
- Hurtado C, Domínguez C, Pérez-Babace L, Cañameras N, Comas J, Bayon JM. 2016. Estimate of uptake and translocation of emerging organic contaminants from irrigation water concentration in lettuce grown under controlled conditions. *Journal of Hazardous Materials* **305**:139–148.
- ChEMBASE. 2014. Clindamycin sulfoxid. Available from: <http://en.chembase.cn/molecule-164843.html> (accessed March 2019).
- Chung HS, Lee Y-J, Rahman MM, El-Aty AMA, Lee HS, Kabir MH, Kim SW, Park B-J, Kim J-E, Hacımuftüoğlu F, Nahar N, Shin H-C, Shim JH. 2017. Uptake of the veterinary antibiotics chlortetracycline, enrofloxacin, and sulphathiazole from soil by radish. *Science of the Total Environment* **605–606**:322–331.

- IUPAC. 2004. Compendium of Chemical Terminology: Gold Book. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Ivanová L, Mackuřák T, Grabic R, Golovko O, Koba O, Vojs Staňová A, Szabová P, Grenčíková A, Bodík I. 2018. Pharmaceuticals and illicit drugs – A new threat to the application of sewage sludge in agriculture. *Science of The Total Environment* **634**:606–615.
- Johne S, Watzke R, Meusel W, Mollmann U, Hartl A, Dahse HM, Matthes B, Seifert K. 2005. Biotechnological production and bioactivities of mollisin and two new, structurally related fungal naphthoquinone metabolites. *Chemistry & Biodiversity* **2**:1109–1115.
- Jung C, Boateng LK, Flora JRV, Oh J, Braswell MC, Son A, Yoon Y. 2015. Competitive adsorption of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs on activated biochars: experimental and molecular modeling study. *Chemical Engineering Journal* **264**:1–9.
- Kah M, Brown C. 2006. Adsorption of ionisable pesticides in soils. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **188**:149–217.
- Karci A, Balcioglu IA. 2009. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Science of the Total Environment* **407**:4652–4664.
- Klement A, Kodešová R, Bauerová M, Golovko O, Kočárek M, Fér M, Koba O, Nikodem A, Grabic R. 2018. Sorption of citalopram, irbesartan, and fexofenadine in soils: Estimation of sorption coefficients from soil properties. *Chemosphere* **195**:615–623.
- Koba O, Golovsko O, Kodešová R, Fér M, Grabic R. 2017. Antibiotics degradation in soil: A case of clindamycin, trimethoprim, sulfamethoxazole and their transformation products. *Environmental Pollution* **220**:1251–1263.
- Koba O, Golovsko O, Kodešová R, Klement A, Grabic R. 2016. Transformation of atenolol, metoprolol, and carbamazepine in soils: The identification, quantification, and stability of the transformation products and further implications for the environment. *Environmental Pollution* **218**:574–585.
- Kočárek M, Kodešová R, Vondráčková L, Golovko O, Fér M, Klement A, Nikodem A, Jakšík O, Grabic R. 2016. Simultaneous sorption of four ionizable pharmaceuticals in different horizons of three soil types. *Environmental Pollution* **218**:563–573.
- 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, Klement A, Golovko O, Fér M, Nikodem A, Kočárek M, Grabic R. 2019. Root uptake of atenolol, sulfamethoxazole and carbamazepine, and their transformation in three soils and four plants. *Environmental Science and Pollution Research* DOI: 10.1007/s11356-019-04333-9.

- Kodešová R, Kočárek M, Klement A, Golovko O, Koba O, Fér M, Nikodem A, Vondráčková L, Jakšík O, Grabic R. 2016. An analysis of the dissipation of pharmaceuticals under thirteen different soil conditions. *Science of the Total Environment* **544**:369–381.
- Kodešová R. 2018. Osud léčiv v půdě a jejich potenciál kontaminovat zemědělské produkty. *Úroda* **8/2018**:83–84.
- Kong WD, Zhu YG, Liang YC, Zhang J, Smith FA, Yang M. 2007. Uptake of oxytetracycline and its phytotoxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Environmental Pollution* **147**:187–193.
- Kostopoulou M, Nikolaou A. 2008. Analytical problems and the need for sample preparation in the determination of pharmaceuticals and their metabolites in aqueous environmental matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **27**:1023–1035.
- Kristiansson E, Fick J, Janzon A, Grabic R, Rutgersson C, Weijdegard B, Soderstrom H, Larsson DGJ. 2011. Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements. *PLoS One* **6** (e17038) DOI: 10.1371/journal.pone.0017038.
- Lerman I, Chen Y, Xing B, Chefetz B. 2013. Adsorption of carbamazepine by carbon nanotubes: effects of DOM introduction and competition with phenanthrene and bisphenol A. *Environmental Pollution* **182**:169–176.
- Li WC. 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution* **187**:193–201.
- Lin YL, Li BK. 2016. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **58**:318–323.
- Lindberg RH, Östman M, Olofsson U, Grabic R, Fick J. 2014. Occurrence and behaviour of 105 active pharmaceutical ingredients in sewage waters of a municipal sewer collection system. *Water Research* **58**:221–229.
- Madikizela LM, Ncube S, Chimuka L. 2018. Uptake of pharmaceuticals by plants grown under hydroponic conditions and natural occurring plant species: a review. *Science of the Total Environment* **636**:477–486.
- Malchi T, Maor Y, Tadmor G, Shenker M, Chefetz B. 2014. Irrigation of root vegetables with treated wastewater: evaluating uptake of pharmaceuticals and the associated human health risks. *Environmental Science & Technology* **48**(16):9325–9333.
- Marsoni M, De Mattia F, Labra M, Bruno A, Bracale M, Vannini C. 2014. Uptake and effects of a mixture of widely used therapeutic drugs in *Eruca sativa* L. and *Zea mays* L. plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **108**:52–57.
- Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH. 2019. Alpha 1-2 LDplus. Available from: <https://www.martinchrist.de/en/products/laboratory/product/p/pr/s/alpha-1-2-ldplus/> (accessed March 2019).

- McClellan K, Halden RU. 2010. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. *Water Research* **44**:658–668.
- Meyer Jones L, Booth NH, McDonald LE. 1977. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 4th edition. Iowa State University Press, Ames.
- Ministerstvo životního prostředí. 2001. Vyhláška č. 382 ze dne 17. října 2001 o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Pages 8341–8354 in *Sbírka zákonů České republiky*, 2001, částka 145, Česká republika.
- Montemurro N, Postigo C, Lonigro A, Perez S, Barceló D. 2017. Development and validation of an analytical method based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection for the simultaneous determination of 13 relevant wastewater-derived contaminants in lettuce. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **409**:5375–5387.
- Mordechay EB, Tarchitzky J, Chen Y, Shenker M, Chefetz B. 2018. Composted biosolids and treated wastewater as sources of pharmaceuticals and personal care products for plant uptake: a case study with carbamazepine. *Environmental Pollution* **232**:164–172.
- OCSD. 2016. Infographic from Orange County Sanitation District about biosolids, California Water Environment Association, Megan Barillo. Available from: <http://cweawaternews.org/land-application-critical-in-achieving-californias-goals-for-climate-change-and-healthy-soils/> (accessed March 2019).
- Odendaal C, Seaman MT, Kemp G, Patterton H, Patterton HG. 2015. An LC-MS/MS based survey of contaminants of emerging concern in drinking water in South Africa. *South African Journal of Science* **111**:1–6.
- Opitz KH. 2001. *Hydroponie: snadný způsob pěstování rostlin: nádherné pokojové rostliny pěstované bez půdy: rady pro výběr rostlin a nádob*. Jan Vašut, Praha.
- Popot MA, L M, Boyer S, Bonnaire Y, Toutain PL. 2007. Spurious urine excretion drug profile in the horse due to bedding contamination and drug recycling: the case of meclofenamic acid. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **30**:179–184.
- PubChem. 2019. Explore chemistry. Quickly find chemical information from authoritative sources. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed March 2019).
- Radovic T, Grujic S, Petkovic A, Dimkic M, Lausevic M. 2015. Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment* **187**:4092.
- Rajapaksha AU, Vithanage M, Lim JE, Ahmed MBM, Zhang M, Lee SS, et al. 2014. Invasive plant-derived biochar inhibits sulfamethazine uptake by lettuce in soil. *Chemosphere* **111**:500–504.
- Riemenschneider C, Seiwert B, Moeder M, Schwarz D, Reemtsma T. 2017. Extensive transformation of the pharmaceutical carbamazepine following uptake into intact tomato plants. *Environmental Science & Technology* **51**(11):6100–6109.

- Royal Society of Chemistry. 2015. Chemspider. Search and share chemistry. Available from: <http://www.chemspider.com> (accessed March 2019).
- SEMO a.s. 2019. Zelenina – základ sortimentu osiva společnosti SEMO a.s. Available from: <https://www.semo.cz/osivo-semena/hobby/zelenina> (accessed February 2019).
- Shenker M, Harush D, Ben-Ari J, Chefetz B. 2011. Uptake of carbamazepine by cucumber plants - A case study related to irrigation with reclaimed wastewater. *Chemosphere* **82**:905–910.
- Schaffer M, Licha T. 2015. A framework for assessing the retardation of organic molecules in groundwater: implications of the species distribution for the sorption-influenced transport. *Science of the Total Environment* **524–525**:187–194.
- Srinivasan P, Sarmah AK, Manley-Harris M. 2013. Co-contaminants and factors affecting the sorption behaviour of two sulfonamides in pasture soils. *Environmental Pollution* **180**:165–172.
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Atenolol AL 25, 50, 100 tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC92099.pdf&type=spc&as=atenolol-al-100-spc> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Biston tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/download/spc/SPC32579.pdf> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Cotrimoxazol AL Forte 800 mg/160 mg tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC113473.pdf&type=spc&as=cotrimoxazol-al-forte-spc> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Citalopram-Teva 20 mg potahované tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=PI69098.pdf&type=pil&as=citalopram-teva-20-mg-pil> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Dalacin C 150 mg, 300 mg tvrdé tobolky. Available from: <http://www.sukl.cz/download/spc/SPC68934.doc> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Ewofex 120 mg, 180 mg potahované tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/download/pil/PI126202.doc> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Irbesartan Actavis 150 mg, 300 mg potahované tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=PI99875.pdf&type=pil&as=irbesartan-actavis-pil> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Klacid 250, 500 potahované tablety. Available from:



- <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC67279.pdf&type=spc&as=klacid-500-spc> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Metoprolol Aurovitas 50 mg, 100 mg potahované tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=PI121008.pdf&type=pil&as=metoprolol-aurovitas-pil> (accessed February 2019).
- Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Triprim 200mg tablety. Available from: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC104100.pdf&type=spc&as=triprim-spc> (accessed February 2019).
- Stupka R, kolektiv autorů. 2013. Chov zvířat. Powerprint, Praha.
- Šnobl J, Pulkrábek J. 2007. Základy rostlinné produkce. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU, Praha.
- Tanoue R, Sato Y, Motoyama M, Nakagawa S, Shinohara R, Nomiya K. 2012. Plant uptake of pharmaceutical chemicals detected in recycled organic manure and reclaimed wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:10203–10211.
- Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher F, Brauch HJ, Gulde BH, et al. 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science & Technology* **36**:3855–3863.
- Thermo Fisher Scientific Inc. 2010. Thermo Scientific Accela 1250 Pump. Available from: <https://fscimage.fishersci.com/images/D15896~.pdf> (accessed March 2019).
- Thiele-Bruhn S. 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds, in soils — a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **166**:145–167.
- Tolls J. 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environmental Science & Technology* **35**:3397–3406.
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Meditek Trisulfa 200/40 mg/g premix pro medikaci krmiva. Available from: <http://www.uskvbl.cz/attachments/spc/0910f7c780096e4f.doc> (accessed February 2019).
- Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv. 2019. Souhrn údajů o přípravku Methoxazol 20/100 mg/ml roztok pro podání v pitné vodě pro prasata a kura domácího. Available from: <http://www.uskvbl.cz/attachments/spc/0910f7c780130ec1.doc> (accessed February 2019).
- Verlicchi P, Zambello E. 2015. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil – a critical review. *Science of the Total Environment* **538**:750–767.
- Winke M, Clemens J, Reich M, Gulyas H, Otterpohl R. 2010. Ryegrass uptake of carbamazepine and ibuprofen applied by urine fertilization. *Science of the Total Environment* **408**:1902–1908.

- Wu C, Spongberg AL, Witter JD, Fang M, Czajkowski KP. 2010. Uptake of pharmaceutical and personal care products by soybean plants from soils applied with biosolids and irrigated with contaminated water uptake of pharmaceutical and personal care products by soybean plants from soils applied with biosolids and irrig. *Environmental Science & Technology* **44**:6157–6161.
- Wu CX, Spongberg AL, Witter JD, Sridhar BBM. 2012. Transfer of wastewater associated pharmaceuticals and personal care products to crop plants from biosolids treated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **85**:104–109.
- Wu L, Li B, Bi E. 2017. Effect of molecular dissociation and sorbent carbonization on bisolute sorption of pharmaceuticals by biochars. *Water, Air, and Soil Pollution* **228**:242.
- Wu X, Conkle JL, Ernst F, Gan J. 2014a. Treated wastewater irrigation: uptake of pharmaceutical and personal care products by common vegetables under field conditions. *Environmental Science & Technology* **48**:11286–11293.
- 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.
- Wu X, Ernst F, Conkle JL, Gan J. 2013. Comparative uptake and translocation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by common vegetables. *Environment International* **60**:15–22.
- Wu XL, Xiang L, Yan QY, Jiang YN, Li YW, Huang XP, et al. 2014b. Distribution and risk assessment of quinolone antibiotics in the soils from organic vegetable farms of a subtropical city, Southern China. *Science of the Total Environment* **487**:399–406.
- Yang Y, Ok YS, Kim KH, Kwon EE, Tsang YF. 2017. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: a review. *Science of the Total Environment* **596–597**:303–320.
- Zbírál J. 2002. *Analýza půd I.: Jednotné pracovní postupy*. Laboratorní odbor ÚKZÚZ, Brno.
- Zhang Y, Price GW, Jamieson R, Burton D, Khosravi K. 2017. Sorption and desorption of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs in an agricultural loam-textured soil. *Chemosphere* **174**:628–637.
- Zhang YL, Lin SS, Dai CM, Shi L, Zhou XF. 2014. Sorption–desorption and transport of trimethoprim and sulfonamide antibiotics in agricultural soil: effect of soil type, dissolved organic matter, and pH. *Environmental Science and Pollution Research* **21**:5827–5835.
- Zhang ZY, Sun K, Gao B, Zhang GX, Liu XT, Zhao Y. 2011. Adsorption of tetracycline on soil and sediment: effects of pH and the presence of Cu(II). *Journal of Hazardous Materials* **190**:856–862.

*Literatura byla sepisována ručně, na základě stylu vědeckého časopisu  
Conservation Biology.*

## 9 Seznam použitých zkratek

ATB – antibiotika

CAS – mezinárodně uznávané registrační číslo chemických sloučenin

CASA – Kalifornské asociace sanitačních agentur

ČOV – čistírna odpadních vod

ČZU – Česká zemědělská univerzita

DT<sub>50</sub> – poločas rozpadu

EU – Evropská unie

FAPPZ – Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

H<sub>2</sub>O – voda (chemický vzorec)

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry (Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii)

K – kelvin

K<sub>R</sub> – rychlostní konstanta

lm – lumen

Log K<sub>oc</sub> – rozdělovací koeficient organického uhlíku

Log K<sub>ow</sub> – rozdělovací koeficient n-oktanol voda

Mpix – megapixel

MW – molekulová hmotnost (molecular weight)

např. – například

NSAID – nesteroidní protizánětlivá antiflogistika

obr. – obrázek

p.a. – per analytics (analytická jakost)

pK<sub>a</sub> – disociační konstanta

SÚKL – Státní ústav pro kontrolu léčiv

tab. – tabulka

tzv. – tak zvaně

USA – Spojené státy americké

ÚSKVBL – Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

W – watt

## 10 Doplnkové údaje k experimentu

### 10.1 Fotodokumentace experimentu

Detailní záznam pěstování modelových rostlin při experimentu si můžete prohlédnout zde, v příloze s fotografiemi jednotlivých soustav (vlastní fotodokumentace). Tab. 1 poskytuje legendu k následujícím fotografiím rostlin z experimentu.

Tab. 1. Legenda k fotografiím jednotlivých hydroponních soustav.

<b>a</b>	<b>špenát kontrola pH 5,0</b>
<b>b</b>	<b>špenát kontrola pH 6,5</b>
<b>c</b>	<b>špenát kontrola pH 8,0</b>
<b>d</b>	<b>špenát léčivo pH 5,0</b>
<b>e</b>	<b>špenát léčivo pH 6,5</b>
<b>f</b>	<b>špenát léčivo pH 8,0</b>
<b>g</b>	<b>rukola kontrola pH 5,0</b>
<b>h</b>	<b>rukola kontrola pH 6,5</b>
<b>i</b>	<b>rukola kontrola pH 8,0</b>
<b>j</b>	<b>rukola léčivo pH 5,0</b>
<b>k</b>	<b>rukola léčivo pH 6,5</b>
<b>l</b>	<b>rukola léčiv pH 8,0</b>



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



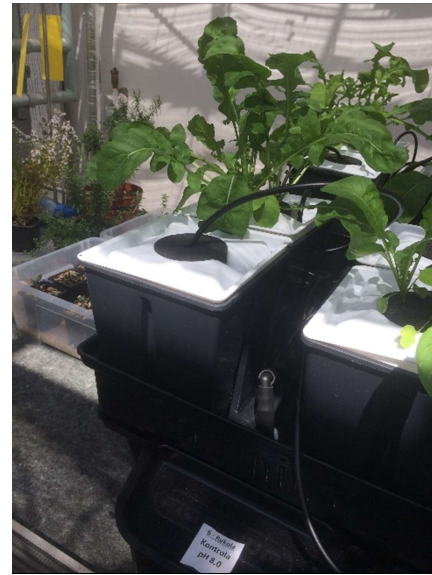
(f)



(g)



(h)



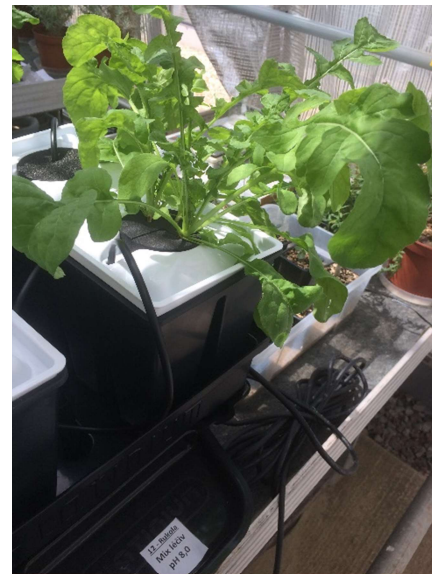
(i)



(j)



(k)



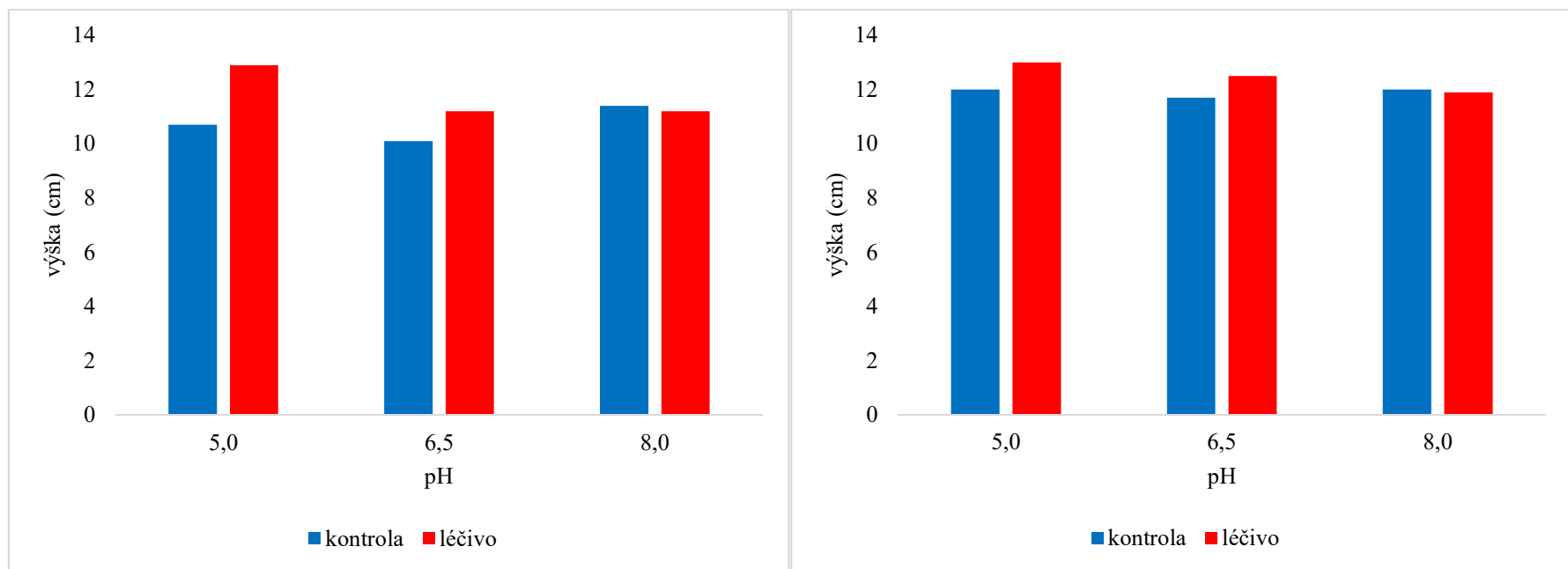
(l)

## 10.2 Vliv pH roztoku na spotřebu H<sub>2</sub>O rostlinami

V rámci experimentu byla průběžně měřena a zaznamenávána výška hladiny vody, respektive živného roztoku všech hydroponních soustav. Všechny soustavy s hodnotami pH udržovanými kolem 5,0 a 6,5 vykazují nižší spotřebu živného roztoku u soustav s přídatkem léčiv, oproti kontrolním soustavám. Soustavy s hodnotou pH udržovanou kolem 8,0 naopak vykazují vyšší spotřebu živného roztoku u soustav s přídatkem léčiv, oproti kontrolním soustavám. To samozřejmě pozitivně koreluje se skutečností, že hydroponické soustavy s přídatkem léčiv pěstované v zásaditém prostředí vykazovaly vyšší nárůst biomasy oproti jejich kontrolním soustavám s výjimkou kořenů rostlin špenátu při druhém odběru vzorků. Je tedy pravděpodobné, že vliv pH na spotřebu H<sub>2</sub>O má zároveň také vliv na vstřebávání léčiv rostlinami, protože rostliny byly pěstovány v hydroponních podmínkách a přídatek léčiv byl přidán do hydroponního roztoku.

Ve všech hydroponických soustavách dosahovala hladina vody při zahájení experimentu výšky 17 cm. Výška hladiny hydroponního roztoku uvnitř každé hydroponické soustavy se každodenně snižovala o množství vody spotřebované rostlinami a množství vody vypařené vlivem teploty udržované na 24 °C přes den a 18 °C přes noc. Je nutné dodat, že po prvním odběru vzorků rostlin byla voda ve všech soustavách vyměněna za novou. Znamená to tedy, že hladina vody se vrátila zpátky na počátečních 17 cm výšky a opět bylo přidáno hnojivo i mix léčiv.

Důvodem ukončení experimentu 38. den místo plánovaného 43. dne byla nízká hladina hydroponního roztoku v soustavě rostlin rukoly s přídatkem mixu léčiv a bazickým pH (obr. 2b), ve které by posléze výška hladiny již neumožňovala chod čerpadla.

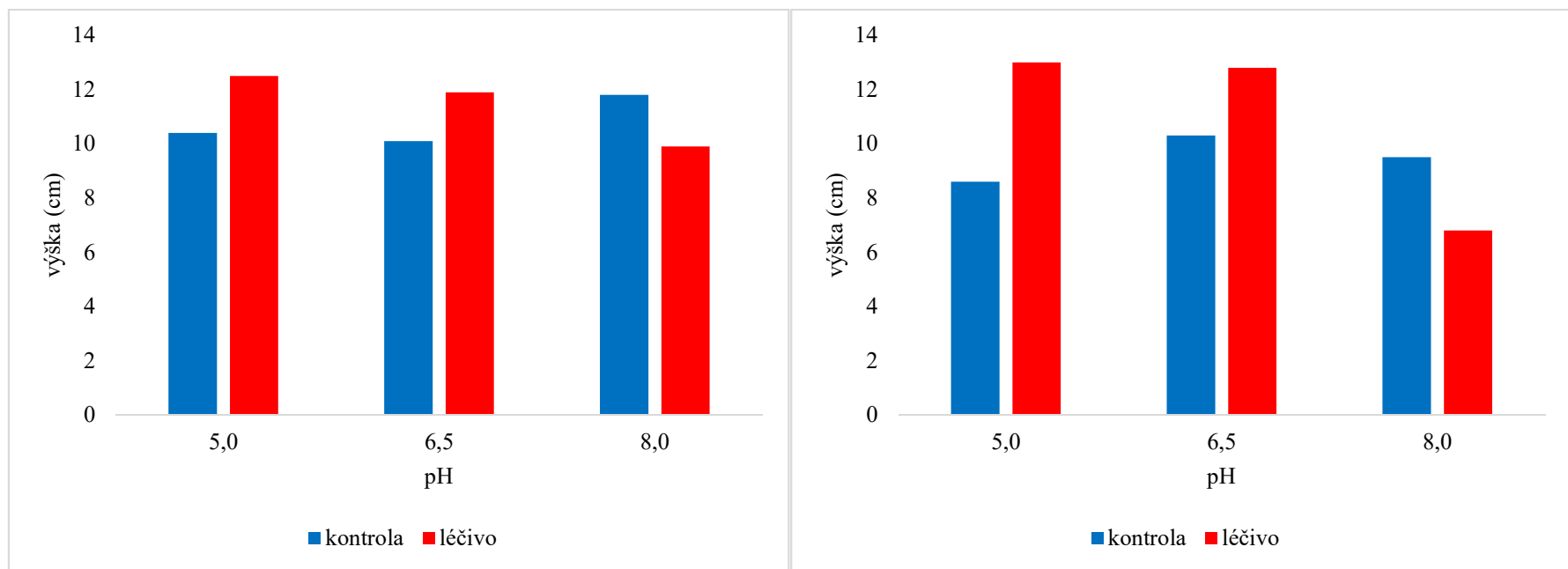


(a)

(b)

Obr. 1. Výška hladiny vody v hydroponních soustavách s pěstovaným špenátem po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).





(a)

(b)

Obr. 2. Výška hladiny vody v hydroponních soustavách s pěstovanou rukolou po 21 dnech (a) a po 38 dnech (b).