

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Degradace mikropolutantů z čistírenského kalu v systému  
půda – rostlina**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Kristýna Kuntová**

**Obor: Technologie odpadů**

**Vedoucí práce: Ing. Filip Mercl, Ph.D.**

**Konzultant: Prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Degradace mikropolutantů z čistírenského kalu v systému půda – rostlina" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4.2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu diplomové práce Ing. Filipovi Merclovi, PhD. za odborné vedení při zpracovávání práce, za cenné rady a připomínky během konzultací.

## Souhrn

Diplomová práce je zaměřena na problematiku čištění odpadních vod, přítomnost mikropolutantů v životním prostředí a následné možnosti jejich remediaci. V čistírně odpadních vod se velká část znečišťujících látek z vody odstraní, avšak v současné době nejsou využívány technologie, pomocí nichž je možné mikropolutanty zcela odstranit. Do vodního recipientu tak unikají stopová množství mikropolutantů, což může mít negativní efekt na vodní živočichy. Mikropolutanty mohou kontaminovat i půdu a dostat se tak až do potravního řetězce.

V teoretické části práce jsou definovány termíny jako odpadní voda, jednotlivé stupně čištění odpadní vody a čistírenské kaly. Jsou popsány možnosti jejich využití, jak (vermi)kompostováním, tak přímou aplikací na zemědělskou půdu, z důvodu vysokého obsahu esenciálních živin v čistírenském kalu. Popsána jsou rovněž rizika, která jsou s využíváním kalu v zemědělské produkci spojena. Neupravený kal obsahuje množství patogenů a rizikových prvků. Z tohoto důvodu je jakákoliv aplikace kalu do půdy ošetřena Zákonem o odpadech 541/2020 Sb., který reguluje a nastavuje pravidla k zamezení ohrožení životního prostředí.

Teoretická část práce dále zahrnuje téma výskytu léčivých látek v prostředí a faktory, které ovlivňují příjem farmak rostlinami. Důležitá část je věnována možnostem remediaci, kdy je pomocí remediálních technik možné více či méně odstranit mikropolutanty z prostředí. V neposlední řadě je pojednáno o vybraných léčivech a houbách používaných v remediaci jejich nežádoucích účinků v zemědělské produkci.

V experimentální části byl za účelem získání dat proveden nádobový experiment, založen v roce 2019 ve vegetačních halách České zemědělské univerzity v Praze. Experiment spočíval v založení 32 nádob, kdy jedna polovina nádob obsahovala pouze zeminu s kalem a houbové substráty, zatímco ve druhé polovině byla navíc pěstována rostlina kukuřice. V různých časech byly odebírány vzorky půdy a půdního roztoku a na konci pokusu byla sklizena biomasa kukuřice. V laboratoři na Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin byly provedeny základní analýzy a extrakce léčiv (karbamazepin, tramadol, venlafaxin, sulpirid, fluoxetin).

Na základě získaných výsledků bylo potvrzeno, že se sledované mikropolutanty v půdě uvolňují z čistírenského kalu a přecházejí do půdního roztoku, s výjimkou fluoxetinu, jehož koncentrace v půdním roztoku byly pod mezí detekce, což naznačuje, že fluoxetin není po aplikaci čistírenského kalu dostupný rostlinám. Naopak nejvíce dostupným se ukázal karbamazepin. Dále bylo zjištěno, že nejvyšší obsah karbamazepinu, tramadolu a venlafaxinu v biomase byl nalezen v listech kukuřice. Ve stoncích nebyl detekován venlafaxin a v zrnech nebyla nalezena žádná léčiva. V případě léčiv sulpirid a fluoxetin nebyly nalezeny v biomase žádné polutanty. U všech sledovaných léčiv bylo potvrzeno, že rostliny kukuřice a přídavek houbových substrátů podpořily degradaci sledovaných léčiv v půdě.

**Klíčová slova:** kukuřice, farmaka, remediaci, karbamazepin, tramadol, venlafaxin, sulpirid, fluoxetin

## Summary

The thesis is focused on the issue of wastewater treatment, the presence of micropollutants in the environment and the subsequent possibilities of their remediation. In a wastewater treatment plant, a large amount of the pollutants is removed from the water, but currently no technologies are used to remove micropollutants. This results in trace amounts of micropollutants being released into the water, which can have a negative effect on aquatic life. Micropollutants can also contaminate the soil and enter the food chain.

In the theoretical part of the thesis, terms such as wastewater, all different stages of wastewater treatment and the term sewage sludge are defined. The possibilities of sewage sludge use are described, both by (vermi)composting and by direct application to agricultural land, due to the high content of essential nutrients in sewage sludge. The risks associated with the use of sludge in agricultural production are also described. Untreated sludge contains many pathogens and potentially toxic elements. For this reason, any land application of sludge is in the Czech Republic regulated by the Waste Act 541/2020, which regulates and sets rules to avoid environmental hazards.

The theoretical part covers the topic of the occurrence of pharmaceutical substances in the environment and the factors that affect the uptake of drugs by plants. An important part is devoted to the possibilities of remediation, whereby micropollutants can be more or less removed from the environment using remediation techniques. Finally, selected pharmaceuticals and fungi used in remediation are discussed as well as their adverse effects in agricultural production.

In the experimental part, a pot experiment was conducted. The experiment was established in 2019 in the vegetation halls of the Czech University of Life Sciences Prague. The experiment consisted in setting up 32 containers, where one half of the pots contained only soil with sludge and fungal substrates while in the other half, maize plants were grown as well. At different times, the maize biomass was sampled and harvested. Basic analyses and extraction of pharmaceuticals (carbamazepine, tramadol, venlafaxine, sulpiride, fluoxetine) from soil solution, soil and plant biomass samples were carried out in the laboratory at the Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition.

Based on the results obtained, it was confirmed that the micropollutants of interest in the soil are released from the sewage sludge and transferred to the soil solution, except for fluoxetine, which was found below the detection limit in the soil solution, suggesting that fluoxetine is not available to plants after sewage sludge application. In contrast, carbamazepine was found to be the most available. It was also found that the highest biomass content of carbamazepine, tramadol and venlafaxine was found in maize leaves compared to other plant organs. Venlafaxine was not detected in the stems and no pharmaceuticals were found in the grains. In the case of the drugs sulpiride and fluoxetine, no pollutants were found in the biomass. For all drugs studied, it was confirmed that maize plants and the addition of fungal substrates promoted the degradation of pharmaceuticals in the soil.

**Keywords:** corn plant, pharmaceuticals, remediation, carbamazepine, tramadol, venlafaxine, sulpiride, fluoxetine

# Obsah

1	Úvod .....	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce .....	2
3	Literární rešerše .....	3
<b>3.1</b>	<b>Čištění odpadních vod .....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Stupeň 1: Předčištění .....	3
3.1.2	Stupeň 2: Mechanické čištění .....	4
3.1.3	Stupeň 3: Biologické čištění .....	5
<b>3.2</b>	<b>Kaly z čistíren odpadních vod .....</b>	<b>5</b>
3.2.1	Využití čistírenských kalů .....	7
3.2.1.1	Přímá aplikace na zemědělskou půdu .....	7
3.2.1.2	Kompostování .....	8
3.2.1.3	Vermikompostování .....	9
3.2.1.4	Spalování .....	10
<b>3.3</b>	<b>Rizikové látky v kalech z čistíren odpadních vod .....</b>	<b>10</b>
3.3.1	Mikropolutanty .....	10
3.3.2	Léčiva a látky osobní potřeby .....	10
3.3.2.1	Osud léčiv v životním prostředí .....	13
3.3.2.2	Faktory ovlivňující příjem léčiv rostlinami .....	14
<b>3.4</b>	<b>Remediace .....</b>	<b>15</b>
3.4.1	Fytoremediace .....	15
3.4.1.1	Fytodekontaminace .....	16
3.4.1.2	Fytostabilizace .....	17
3.4.2	Mykoremediace .....	17
3.4.3	Bioegradace .....	18
<b>3.5</b>	<b>Zástupci hub vhodných k mykoremediaci .....</b>	<b>19</b>
3.5.1	<i>Pleurotus</i> .....	19
3.5.2	<i>Phanerochaete</i> .....	19
3.5.3	<i>Irpex</i> .....	20
<b>3.6</b>	<b>Výčet sledovaných léčiv .....</b>	<b>21</b>
3.6.1	Venlafaxin .....	21
3.6.2	Tramadol .....	23
3.6.3	Karbamazepin .....	24
3.6.4	Sulpirid .....	25

3.6.5	Fluoxetin .....	26
4	Metodika .....	28
4.1	<b>Postup extrakce.....</b>	<b>30</b>
4.1.1	Extrakce půdy.....	30
4.1.2	Extrakce biomasy .....	32
4.1.3	Extrakce čistírenského kalu.....	33
4.2	<b>Statistické zhodnocení dat .....</b>	<b>34</b>
5	Výsledky .....	35
5.1	<b>Čistírenský kal .....</b>	<b>35</b>
5.2	<b>Půda.....</b>	<b>36</b>
5.2.1	Obsah léčiv v půdě .....	36
5.2.2	Zhodnocení dat pomocí vícefaktorové ANOVY .....	39
5.3	<b>Podíl odstraněných léčiv.....</b>	<b>44</b>
5.4	<b>Půdní roztok.....</b>	<b>45</b>
5.5	<b>Podíl přístupných léčiv v půdním roztoku.....</b>	<b>49</b>
5.6	<b>Výnos biomasy rostlin .....</b>	<b>55</b>
5.7	<b>Obsahy léčiv v biomase .....</b>	<b>57</b>
5.8	<b>Obsah léčiv nalezené v biomase z celkového množství aplikovaných léčiv ..</b>	<b>58</b>
5.9	<b>Tendence mikropolutantů k přestupu do rostlin .....</b>	<b>65</b>
6	Diskuze .....	67
7	Závěr.....	71
8	Literatura.....	73
	Obrázky:.....	84
	Grafy.....	84
	Tabulky:.....	85
9	Seznam použitých zkratek a symbolů .....	87

# 1 Úvod

Ačkoliv jsou dnešní technologie čištění odpadních vod účinné v odstraňování znečišťujících látek, i tak se do vodního recipientu dostává určité množství farmak. Ty mohou mít negativní dopad na životní prostředí i zdraví lidí. Výskyt léčiv v životním prostředí je primárně ovlivněn lidskou činností a je čím dál více předmětem výzkumů a studií. Komplikace nastávají tehdy, když se léčiva dostávají do vodního prostředí a potravinového řetězce. Mnoha experimenty bylo potvrzeno, že určité koncentrace rizikových látek mají negativní vliv na rostliny, živočichy i lidi. Je proto nesmírně důležité sledovat výskyt farmak v prostředí, omezovat jejich únik do půdy či dalších složek prostředí a nadále hledat způsoby, jak co nejlépe tyto látky z prostředí odstraňovat.

Dnes již existují metody, pomocí kterých lze odstraňovat mikropolutanty ze životního prostředí. Ať už jde o fyto-remediace (odstraňování rizikových látek pomocí rostlin) nebo myko-remediace (pomocí hub). Je důležité si uvědomit, že ne každá rostlina či houba je schopna dané léčivo degradovat. K odstraňování farmak za účelem úpravy vody na pitnou lze využít například adsorpci, oxidační procesy či membránové procesy.

Dnešní doba a s ní přichází vliv koronavirové pandemie má za následek to, že se čistírny odpadních vod musí potýkat s vyšší náloží farmak a dalších kontaminantů. Vliv mají i častěji se vyskytující období dlouhotrvajícího sucha, při kterých se odpadní voda výrazně koncentruje. Není v posledních letech novinkou, že lidé často nadužívají léky, které pro ně nejsou vždy nezbytné. Je proto zásadní, aby si lidstvo uvědomovalo svůj dopad na přírodu a snažilo se eliminovat nadbytečné užívání léčiv. I přesto, že produkce, spotřeba a únik léčiv do prostředí narůstá, je situace lepší, než kdy bývala. S rostoucím tlakem na ochranu životního prostředí a podpory dlouhodobé udržitelnosti je více investováno do technologií a vývoje nových a účinnějších metod k odstraňování mikropolutantů z přírody.

V mé diplomové práci byly zkoumány fyto-remediální, myko-remediální a fytomyko-remediální metody pro odstranění vybraných léčiv z čistírenského kalu po aplikaci do půdy. Dále byl sledován vliv uvedených metod na přestup léčiv do biomasy kukuřice.



## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit výsledky sledovaných mikropolutantů (venlafaxin, tramadol, karbamazepin, sulpirid a fluoxetin) v půdě, půdním roztoku a biomase rostlin kukuřice na základě třech stanovených hypotéz. Za tímto účelem byl proveden nádobový experiment s následnou analýzou vzorků. Práce si klade za cíl zodpovědět otázky, jaká část vybraných mikropolutantů je po aplikaci čistírenského kalu dostupná rostlinám, s jakou tendencí přestupují mikropolutanty do rostlin kukuřice, zda tyto rostliny podporují biodegradční procesy v půdě a jaké představují mikropolutanty environmentální riziko v případě hromadění v biomase kukuřice.

Hypotézy byly stanoveny následovně:

1. Sledované mikropolutanty se v půdě uvolňují z čistírenského kalu a přecházejí do půdního roztoku.
2. Sledované mikropolutanty jsou přijímány rostlinami kukuřice a v její biomase budou přítomné i po sklizni.
3. Rostliny kukuřice a přidavek houbových substrátů podpoří degradaci mikropolutantů v půdě.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Čištění odpadních vod

Nejprve je třeba si definovat pojem odpadní voda. Jde o vodu znečištěnou látkami a částicemi jejíž použití je nevhodné pro přímou konzumaci či využití v potravinářském průmyslu. Odpadní voda vzniká například v domácnostech a průmyslu (Stephens & Fuller, 2009).

Složení odpadní vody záleží na jejím původu. Vlastnosti odpadní vody se liší na základě jejího složení. Bude se lišit toxicita odpadní vody podle toho z jaké domácnosti či odvětví průmyslu voda pochází. Látky a částice obsažené v odpadní vodě mohou mít různé velikosti, vlastnosti i toxicitu. Znečišťující látky mohou být organického a anorganického původu (Pitter, 1999).

Organické látky, jako například tuky, bílkoviny a sacharidy nepředstavují pro životní prostředí významné riziko, neboť je lze poměrně dobře z odpadní vody vyčistit. Problém vyvstává u vod, které jsou znečištěné toxickými a těžko degradovatelnými látkami. Vysokou míru nebezpečí a zátěž pro životní prostředí představují právě látky, které mají pouze omezenou schopnost degradace ze životního prostředí. Jde například o antibiotika či hormonální antikoncepci, které jsou dnes velmi diskutovaným problémem a mají negativní vliv na živé organismy (Fojtů, 2012).

Odpadní vody jsou vysoce toxické a obsahují velmi často vysoké koncentrace kontaminujících látek. Proto je naprosto nezbytné, aby s nimi bylo na základě jejich parametrů adekvátně naloženo. K tomuto účelu slouží čistírny odpadních vod, na kterých je odpadní voda čištěna a navracena zpět do vodního recipientu. Takový proces je poměrně složitý cyklus za sebou jdoucích stupňů (Kreníková, 2014).

#### 3.1.1 Stupeň 1: Předčištění

Nejdůležitějším a zároveň prvním stupněm čištění je tzv. předčištění. Tato fáze zamezuje poškození či narušení chodu dalších fází tím, že odstraňuje ty největší nečistoty (plovoucí nerozpustné materiály, větve apod.). V případě absence předčišťovacího stupně by mohlo dojít například k porušení čerpadel. Během tohoto stupně odpadní voda putuje skrze jednotlivá zařízení: Lapák štěrku, česle, lapák písku a případně lapák tuku.

##### Lapáky štěrku

Hlavní úlohou lapáků štěrku je záchyt znečišťujících materiálů, které jsou velké a těžké. Stokou protéká znečištěná voda, na jejímž dně je jímka, ve které se usazuje znečištění. Nejčastěji jde o štěrk, těžké materiály, cihly (Kreníková, 2014).

Lapáky štěrku nenalezneme u malých čistíren. Konstruují se ve velkých čističkách, kde je možnost rozsáhlých sítí odpadních stok (Pošta et al., 2005).

## Česle

Odpadní voda dále putuje k česlím. Jde o jakési mřížky, jejímiž průlinami protéká voda a probíhá další odstraňování hrubých nečistot. Česle jsou konstruovány pod určitým úhlem. Nejčastěji v rozmezí 30–60°. Existují jemné, hrubé nebo střední. Toto rozdělení je na základě průlin mezi česlemi. Ty nejjemnější česle mají do 20 mm, naopak u hrubých česlí mohou mít průliny až 100 mm. Většinou ale do 40 mm. Na česlích se v průběhu čistícího procesu shromažďují shrabky, což je materiál, který může být vysoce patogenní. Odstranit je lze ručně, ale většinou se setkáme s česli, které jsou strojně stírané. Funkčnost česlí je ovlivněna tím, jakou rychlostí jimi odpadní voda protéká. Ideální rychlost průtoku je mezi 0,7 – 0,9 m.s<sup>-1</sup>. (Švehla et al., 2004; Pošta et al., 2005).

## Lapáky písku

Účelem lapáků písku je zachycovat písek a minerální částice. Částice o přibližné velikosti 0,2 mm se zachytávají v jímce. To je docíleno tím, že se sníží rychlost protékající vody. V jímce se pak stihnou usadit minerální částice včetně písku. Přítomnost písku v dalších stupních by mohla narušit chod čistícího procesu. Usazený písek se poté odstraňuje. Druhů lapáků je vícero. Všechny však pracují na stejném principu. Liší se pouze svou konstrukcí (Švehla et al., 2004; Dohányos et al., 2007).

## Lapáky tuku

V některých případech bývá zařazen i lapák tuku. Není to tak vždy. Konstrukce lapáku tuku připadá v úvahu v případě, že je na čistírnu přiváděna odpadní voda, která je znečištěná tuky a oleji. Principem je využití rozdílných hustot vody a tuků. Tuky hromadí se na hladině jsou následně odebírány do žlabu (Švehla et al., 2004).

### 3.1.2 Stupeň 2: Mechanické čištění

Po fázi předčištění, kdy byla odpadní voda zbavena hrubých nečistot, může voda putovat dále k mechanickému čištění. V této fázi se usazují látky, které nezachytila předešlá fáze. Mechanické čištění spočívá v principu usazování ve specializované nádrži, která je nazývána usazovací. Voda zde protéká pomalu a tím lze eliminovat i látky, které mají nízkou hustotu. V usazovací nádrži vzniká primární kal, který má následně využití jako energetická surovina. Zejména ve velkých čistírnách, kde je primární kal surovinou pro výrobu bioplynu. Primární kal, který vzniká právě v usazovací nádrži, může mít různorodé složení. Jeho složení je závislé na vlastnostech přitékající vody do nádrže. Zachytávají se primárně látky organické a někdy se může stát, že se na povrchu hladiny bude hromadit tuk či olej a ten je zapotřebí odstranit a odvézt do kalového hospodářství. V mechanické fázi lze odstranit asi třetinu celkového

znečištění. Anorganické látky ve vodě stále zůstávají, proto jsou důležité i následující stupně čištění odpadních vod (Dolejš, 1996).

### **3.1.3 Stupeň 3: Biologické čištění**

Neméně důležitou fází je biologický stupeň čištění. Ten je využíván ke snížení koncentrací znečištění v čištěné vodě za účasti mikroorganismů. Biologický stupeň je nejnáročnější, neboť proces závisí na mnoha faktorech. Jde nejen o typ znečištění, ale i teplotu, hodnotu pH, obsah kyslíku a schopnost buněk přijímat znečištění (Dolejš, 1996).

#### **Aktivační proces**

Součástí aktivačního procesu je aktivační nádrž, do které přitéká odpadní voda poté, co projde nádrží usazovací. V aktivační nádrži se za intenzivního provzdušňování mechanickými či pneumatickými aerátory promíchává odpadní voda s vratným aktivovaným kalem z dosazovací nádrže. Směs kalu a vody projde aktivační nádrží do dosazovací nádrže, kde dojde k oddělení aktivovaného kalu a ten se následně vrací zpět do aktivační nádrže. Následkem odstraňování organických sloučenin ze surové vody je tvorba biomasy, respektive sekundárního kalu. Ten je ze systému pravidelně odebírán a zpracováván v kalovém hospodářství. Během aktivačního procesu dochází k oxidaci organických sloučenin za aerobních podmínek. Výstupem je oxid uhličitý a voda. Z části je možné odstranit v aktivačním procesu i dusík s fosforem. To však lze pouze v případě, že bude proces modifikován (Švehla et al., 2004).

## **3.2 Kaly z čistíren odpadních vod**

Čistírenský kal vzniká v čistírně odpadních vod jako vedlejší produkt. Obsahuje mnoho užitečných živin pro půdu, jako je dusík a fosfor. Na stranu druhou však obsahuje patogeny, těžké kovy a látky, které jsou těžce degradovatelné. K tomu, aby šlo kal využít na zemědělské půdě jako hnojivo, je zapotřebí, aby byl dostatečně hygienizován. Tím je myšleno primárně to, aby byl zbaven patogenních mikroorganismů, které by mohly mít negativní vliv na životní prostředí. Pro ornou půdu je nejvhodnější kal, který obsahuje vysoké procento sušiny (Danso – Boateng, 2017).

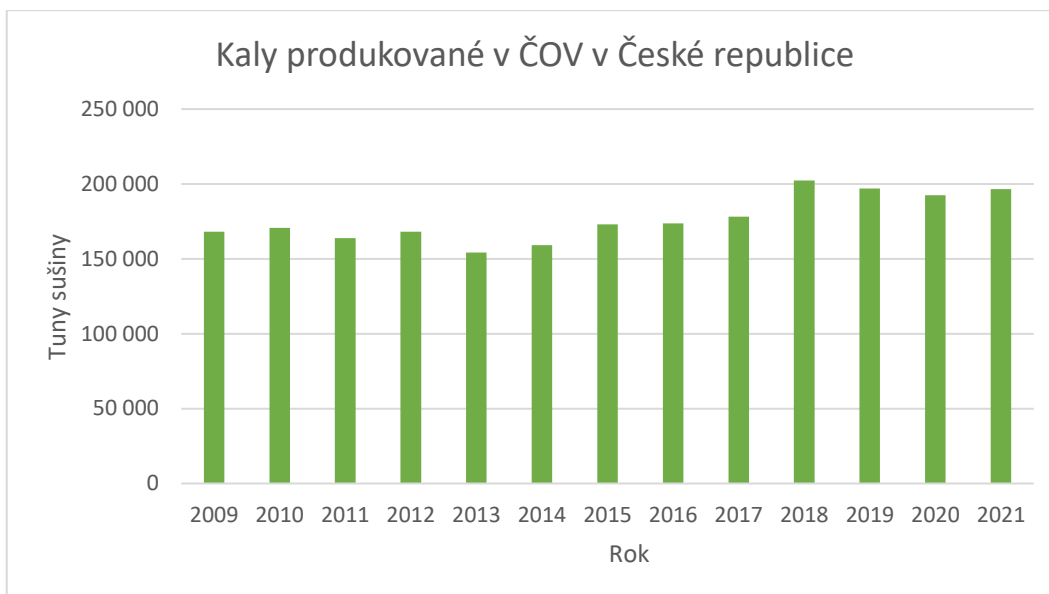
Kal lze definovat jako směs vyhnílé biomasy, organických zbytků různého původu či detritu (neživá organická hmota). Výsledný kal je zrnitého charakteru, kdy jedno zrno je většinou pod 2 mm. V sušině kalu je průměrně obsaženo 1,6–6 % dusíku a 1–4 % fosforu. Co se draslíku týče, je jeho obsah vůči dusíku a fosforu nízký. Ostatní mikro a makro živiny včetně rizikových prvků se odvíjí od daného čistírenského kalu. Obsahy těžkých kovů v kalech se pravidelně musí monitorovat. Vysoké množství těžkých kovů v kalech mohou být životnímu prostředí a lidem nebezpečné (Mercl et al, 2018; Alloway & Jackson, 1991).

Při použití kalu na zemědělské půdě musí být splněny legislativně dané limity obsahů těžkých kovů v kalu podle vyhlášky č. 273/2021 Sb. Nejdůležitějším legislativním dokumentem je nový zákon o odpadech č. 541/2020 Sb., který vymezuje povinnosti při aplikaci kalů na půdu, jejich úpravu před použitím a stanovuje zákazy k ochraně životního prostředí. Aplikací kalu na zemědělskou půdu můžeme významně zlepšit jednotlivé půdní vlastnosti. Půda s obsahem kalu lépe zadržuje půdní vlhkost, pozitivně ovlivňuje kapilární kapacitu a zvyšuje se pórovitost půdy (De Brouwere, 2006).

Na základě § 69 zákona o odpadech lze na zemědělskou půdu použít pouze kal, který je upraven, hygienizován a nepředstavuje riziko pro zhoršení kvality jak půdy, ale i okolní povrchové a podzemní vody. Důležité je brát v potaz na individuální potřeby rostlin pěstovaných na zemědělské půdě z hlediska živin. V tabulce níže jsou stanoveny limity rizikových prvků, vyplývající z vyhlášky č. 273/2021 Sb.

Rizikový prvek	Maximální hodnoty koncentrací v kalech [ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny]
Kadmium	5
Měď	500
Chrom	200
Olovo	200
Nikl	100
Zinek	2500
Rtuť	4
Arsen	30
PCB	0,6
PAU	10

Tabulka 1: Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (ukazatele pro hodnocení kalů) podle vyhlášky č. 273/2021 Sb.



Graf 1: Produkce čistírenských kalů na území ČR v období 2009–2021 (Český statistický úřad)

Z grafu 1 je patrné, že v časovém horizontu od roku 2009 došlo ke zvýšení produkce čistírenských kalů v České republice. Nejnižší produkce byla zaznamenána v roce 2013, naopak tomu bylo v roce 2018. Trend produkce kalů lze označit jako stoupající s přibývajícím lety. Důvodem může být nárůst počtu obyvatel.

### 3.2.1 Využití čistírenských kalů

Čistírenský kal vznikající na čistírně putuje ke zpracování do kalového hospodářství. Tam je stabilizován a co možná nejvíce hygienizován, aby byl vhodný k dalšímu využití. Kal má různé vlastnosti (chemické, biologické, fyzikální) na základě kterých s ním lze pak manipulovat dále (Bindzar et al. 2009).

Nejvýznamnější způsoby využití jsou popsány níže. Jsou ale i možnosti využití kalů, kdy nedochází k jejich zužitkování. Uložení na skládku se kalu sice zbavíme, ale je to ekonomicky velice nevýhodné. Poplatky za uložení kalu na skládku se stále navyšují a od roku 2030 nebude možné podle zákona č. 541/2020 Sb. na skládku uložit odpady, které lze ještě recyklovat či využít jiným, vhodnějším způsobem. Kaly lze využít i k výrobě briket a získávat tím energii (Dohányos, 2006).

#### 3.2.1.1 Přímá aplikace na zemědělskou půdu

Jak již bylo výše zmíněno, kal aplikovaný na zemědělskou půdu musí splňovat určitá kritéria. Aplikovat lze pouze kaly již odvodněné a upravené. Je to z důvodu ochrany životního prostředí, neboť při nedodržení legislativy by mohlo dojít k přechodu škodlivých látek z půdy do vody a následně do potravního řetězce (Kutil & Dohányos, 2005).

Podle zákona 541/2020 Sb. (Zákon o odpadech) nesmí být čistírenské kaly použity na zemědělské půdě, která se nachází v chráněném území krajiny, na půdách lesního hospodářství, v ochranných vodních pásmech či na zamokřených půdách. Aplikace kalů je taktéž zakázána v průběhu pěstování zemědělských plodin, v oblastech s léčivými prameny a v rekreačních oblastech.

Čistírenské kaly se aplikují na zemědělskou půdu za účelem zvýšení úrodnosti zemědělské plochy. Upravený kal obsahuje mnoho organické hmoty, která je pro půdu velmi prospěšná, včetně dusíku, fosforu a dalších stopových prvků. Obsahuje i rizikové prvky, jejichž limitní koncentrace jsou stanoveny legislativou ukotvenou v zákoně (Černý et al., 2009).

### 3.2.1.2 Kompostování

Kompostování čistírenského kalu je považováno za přirozený způsob hygienizace kalu. Kompostování je i vhodnou nízkonákladovou bioremediační technikou. Při tomto zhruba šesti měsíčním kompostovacím procesu dochází k rozkladu organických látek. Celý proces probíhá za aerobních podmínek (za přístupu vzduchu). Výsledek celého procesu je kompost, který obsahuje mnoho živin vhodných k obohacení půdy jako hnojiva. Procesem humifikace dochází k syntetickým procesům organických látek. Během tohoto procesu dochází k tvorbě vysokomolekulárních humusových látek, které vykazují vysokou stabilitu v půdě a velmi dobré sorpční vlastnosti. Humusové látky lze dělit na huminy, fulvokyseliny a huminové kyseliny. Dělí se na základě toho, jak se rozpouštějí v zásadách či kyselinách (Lyčková et al. 2009; Černý et al., 2019).

Kvalitního humusu lze dosáhnout při dodržení daných postupů. Čistírenský kal je nejprve třeba stabilizovat. Stabilizaci můžeme zajistit tím, že smícháme již odvodněný kal s pilinami, trávou, dřevní štěpkou a dalším podobným materiálem. Takto vzniklá směs se na hromadě začne rozkládat. V rozkladné fázi má kompost nejvyšší teplotu (50–65 °C). Snižuje se počet patogenních mikroorganismů a hmotnost kompostu. Ve druhé fázi dojde k poklesu teploty až na 10–20 °C a materiál se začne přeměňovat na humusové látky. Fáze třetí je už pouze dozrávací, kdy dojde k teplotní stabilizaci. K produkci kvalitního humusu je důležitá aerace a překopávání (Lyčková et al. 2009).

Procesem kompostování lze dosáhnout nejenom snížení patogenních organismů, ale i významné snížení koncentrací farmak a látek osobní potřeby obsažených v kalech. Například experimentem, který se zabýval účinností kompostování farmak bylo zjištěno, že lze tímto procesem spolehlivě výrazně snížit koncentrace léčiv v kalech. Výzkum byl založen na kontrolovaném 92 dní dlouhém procesu, kdy v reaktorech kompostovali kal smíchaný s dřevní štěpkou. Kal záměrně kontaminovali léčivy a po 92 dnech procesu sledovali úbytek léčiv v kompostu. Z 99,9 % byly odstraněny látky jako ibuprofen, estradiol či diklofenak a s účinností 87,8 % byl odstraněn karbamazepin. V podobném procentuálním úbytku se pohybovala i ostatní léčiva vyskytující se v kalech. V jiném výzkumu se taktéž autoři snažili prokázat účinnost degradace farmak během kompostovacího procesu a zjistili, že se podařilo

zcela degradovat léčivo fluoxetin z čistírenského kalu a triclosan z 59,5 % (Butkovskiy et al., 2016; Zheng et al., 2020). Dalahmed et al. (2022) zjistili, že léčivo fluoxetin vykazovalo méně než 50 % snížení mikropolutantu během kompostovacího procesu.

### 3.2.1.3 Vermikompostování

Vermikompostování kalů se ukázalo jako jednou z variant, jak upravit čistírenský kal. Úprava čistírenského kalu je velmi důležitá. Jedině takový kal, který je upraven/hygienizován, může být použit jako hnojivo na zemědělskou půdu (Míchal et al., 2019).

Vzhledem k legislativně nastaveným limitním koncentracím těžkých kovů, zde existuje riziko, že bude nutné s čistírenským kalem nakládat jako s odpadem. Proto je zapotřebí hledat možnosti, jak snižovat kontaminanty v kalech a zároveň, jak uchovat v kalu potřebné a důležité živiny. Vermikompostování se tak jeví jako adekvátní řešení (Dominguez & Edwards, 2011).

Vermikompostování, neboli kompostování za účasti žížal, je vhodné pro zpracování materiálů s vysokým podílem organické hmoty. Žížaly dokážou z kalu degradovat, respektive akumulovat do svých těl širokou škálu kontaminujících látek. Negativní účinky by na žížaly mohl mít amoniakální dusík obsažený v kalu. Toxicita amoniakálního dusíku je závislá na hodnotě pH a teplotě (Hanč et al., 2011; Hill et al., 2013).

Ve výzkumu Míchal et al. 2019 potvrdili, že žížaly jsou schopné přežít a aktivně žít v prostředí s čistírenským kalem. K tomu, aby proces eliminace polutantů z kalu proběhl s vysokou účinností je zapotřebí, aby byl proces kompostování rozdělen na dva stupně. V prvním stupni byl proces bez žížal. Během termofilní fáze odezní inhibiční vliv amoniakálního dusíku, který je vysoce toxický pro žížaly. Následně byly přidány žížaly k dokončení rozkladného procesu a odstranění mikropolutantů a zbytků farmak.

Degradaci farmak pomocí vermikompostování se zabývali i Xia et al. (2020). V jejich experimentu prokazovali schopnost žížal degradovat antibiotikum tetracyklin z čistírenského kalu. Během výzkumu zjistili, že existuje významná závislost odstranění mikropolutantů z kalu na základě toho, jaká byla koncentrace farmak v kalech před samotnou degradací. U kalů s velmi vysokou koncentrací farmak byla účinnost degradace antibiotika kolem 16 % a u kalů s nízkými koncentracemi se účinnost degradace vystoupala až ke 43 %.

Vojtěch Pospíšil (2021) zjistil, že venlafaxin a tramadol vykazoval na konci procesu vermikompostování samotného čistírenského kalu vyšší koncentrace látek, než které byly na začátku (venlafaxin 33,97 ng/g, tramadol 36,55 ng/g). Lze je tedy považovat za relativně stabilní. Příznivější vliv žížal byl zjištěn u karbamazepinu, kde došlo ke snížení koncentrací o 10–42 %.

Další studie se zabývala vlivem účinků na absorpci léčiv. Bylo zjištěno, že se koncentrace karbamazepinu a fluoxetinu v půdě vlivem žížal snížily. Úmrtnost žížal byla méně než 4 %, takže lze vyloučit akutní toxicitu látek po absorpci žížalami (Carter et al., 2014).



#### **3.2.1.4 Spalování**

Čistírenský kal je možné využít i pro jeho popel po spálení. Buď jako náhražka hlíny na výrobu cihel, dlaždic, nebo jako hnojivo. Z popela lze vyextrahovat kolem až 90 % fosforu, ale i další látky, které jsou pak vhodné k hnojení rostlin. Při spalování kalu se k němu buď přidává palivo, nebo se spaluje samostatně. Ale to pouze v případě, že je kal bohatý na organickou hmotu. Ke zjednodušení spalovacího procesu se kal odvodňuje a suší. K odstranění vlhkosti stačí 85 °C (Kutil & Dohányos, 2005).

### **3.3 Rizikové látky v kalech z čistíren odpadních vod**

Čistírenský kal je po jeho hygienizaci velmi bohatý na minerální živiny. Obsahuje ale také rizikové látky, které se při nedodržení zásad a legislativně stanovených limitů, mohou dostat až do potravního řetězce. Mezi rizikové látky, které v určitých koncentracích vyvolávají negativní účinky v životním prostředí, spadají: těžké kovy (kadmium, měď, chrom, olovo, nikl, zinek, rtuť, arsen), mikroorganismy, persistentní organické látky (halogenované organické sloučeniny, polychlorované bifenylly, polycyklické aromatické uhlovodíky, farmaka apod.

#### **3.3.1 Mikropolutanty**

V odpadních vodách se mohou vyskytovat mikropolutanty, které mají antropogenní původ. Mikropolutanty jsou charakteristické tím, že se v přírodě nacházejí ve velmi nízkém množství, nejčastěji v řádech nanogramů až miligramů na jeden gram. Může jít o léčiva a látky osobní potřeby, chlorované uhlovodíky, pesticidy, fungicidy, herbicidy, mikroplasty, ftaláty, alkylfenoly. Chování jednotlivých rizikových látek v životním prostředí je značně rozličné vzhledem k jejich odlišným fyzikálním a chemickým vlastnostem. Mikropolutanty obsažené v kalech se tak mohou velmi jednoduše dostat do povrchových vod. Studií zabývajících se léčivy v čistírenských kalech stále přibývá. Léčiva v životním prostředí jsou problémová vzhledem k jejich toxicitě již v nízkých koncentracích. Léčiva jsou do odpadní vody vylučována buď v nezměněné formě, ale také ve formě metabolitů. Stejně tak jako u mikroorganismů a těžkých kovů, i u léčiv platí rozdílné chování látky na základě povahy sloučeniny. Nejvíce je odpadní voda kontaminována analgetiky a různými léky na léčbu zánětů. Může to být právě tím, že právě tyto medikamenty jsou volně prodejné v lékárnách za často velmi nízkou cenu. Jsou ale i látky, které se v aplikovaných kalech na půdu velmi dobře degradují kompostováním. Jde například o diclofenak (Butkovskiy et al. 2016).

#### **3.3.2 Léčiva a látky osobní potřeby**

Pharmaceuticals and Personal Care Products, zkráceně PPCP, jsou léčiva a látky osobní potřeby, kam spadají všechna léčiva, kosmetika a další prostředky. Do životního prostředí se dostávají právě tím, že jsou lidmi nadužívány a tyto znečišťující látky pak po vyloučení lidmi

putují do čistíren odpadních vod, kde se ne vždy dokážou maximálně degradovat. V dnešní době jsou největším problémem koncentrace antibiotik a antikoncepce v recipientu, které mají prokazatelně negativní vliv na vodní organismy. Do odpadní vody unikají i drogy. Tento jev je převážně sledovatelný v určitých oblastech, například v období festivalů či společenských akcí, kde jsou drogy užívány. Více se o PPCP začalo mluvit teprve až v 90. létech. Významně to ovlivnil nástup rozvoj techniky a vyvíjely se nové technologie. Začaly vznikat i nové látky, které byly vyráběné synteticky (Mompelat et al., 2009).

Zavedení pojmu PPCP přikládáme Daughtonovi a Ternesovi, k tomu došlo v roce 1999. Ti se o léčiva a látky osobní potřeby začali zajímat podrobněji. Léčiva se velmi liší od jiných látek svými chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Nelze říci, že by léčiva byla lidem a přírodě nebezpečná. Obecně lze však tvrdit, že každá látka je jedem, pokud je užívána nadměru. Únik léčiv je dnes velkým tématem. Z toho důvodu je důležité proces čištění odpadních vod zdokonalovat, aby postupně došlo k dokonalému odstranění zbytků léčiv a vodní recipient by tak nebyl kontaminován zbytky PPCP.

Taktéž je na každém z nás, jaké množství léčivých látek budeme konzumovat. Ovšem při léčbě krátkodobých či chronických nemocí často omezit léčiva nelze. Bohužel v tomto směru je velmi náročné regulovat trh a smýšlení populace. Je také takřka nemyslitelné zakázat ženám užívat antikoncepci a přimět je k jiným a přírodě snesitelnějším metodám antikoncepce. U léčiv může být problém právě jejich přeměna na cestě z těla člověka do odpadní vody. Během procesu může měnit vlastnosti a chemickou strukturu. Ve velkém množství je odpadní voda kontaminována právě paracetamolem, což je látka, která je obsažena v léčivech, která se hojně používají na bolesti všeho rázu a na snížení tělesné teploty. Jde například o paralen. Vzhledem k jeho velmi nízké ceně je tak u obyvatel České republiky velmi oblíben a do odpadní vody se ročně uvolní zhruba 10 tun této látky (Daughton & Ternes, 1999; Svoboda et al. 2009).

V odpadních vodách jsou nejčastěji nalézány antibiotika, protizánětlivá léčiva, analgetika, beta – blokátory, antidepresiva, hormonální látky, antiepileptika a antipsychotika. Z odpadní vody lze pak nejjednodušeji odbourat kyselinu acetylsalicylovou (aspirin) ze skupiny analgetik a mezi nejhůře odbouratelná spadají antibiotika (Kotzya et al., 2009).

ng/g	Karbamazepin	Diklofenak	Propranolol	Sulfamethoxazol	Tramadol	Venlafaxin
Velká ČOV	59,17	0	358,33	715,59	101,18	99,98
Střední ČOV	57,37	43,25	2218	5006,95	132,6	35,44
Malá ČOV	40,9	15,93	1215,83	2847,5	49	41,9

Tabulka 2: Průměrné koncentrace léčiv v sušině kalů v České republice (Kuntová, 2020)

Podle Úředního věstníku Evropské unie na základě prováděcího rozhodnutí komise (EU) 2020/1161 byla v roce 2020 Evropskou komisí přijata nová verze seznamu obsahující látky, které je potřeba monitorovat. Do seznamu byly zahrnuty látky, které by mohly představovat environmentální riziko pro vodní prostředí. Účelem je tak sběr údajů a dat o jejich koncentracích ve vodním prostředí a hodnocení rizika. Do seznamu by měly být zařazeny tyto látky: antibiotika (sulfamethoxazol, trimethoprim), antidepresiva (venlafaxin, O – desmethylvenlafaxin), azolová léčiva (klotrimazol, flukonazol, mikonazol), azolové pesticidy (amazalil, ipkonazol, metkonazol, penkonazol, prochloraz, tebukonazol, tetrakonazol), fungicidy (famoxadon, dimoxystrobin)

První úroveň ATC kódu podle WHO	Anatomická soustava
A	Trávicí ústrojí a metabolismus
B	Krev a krevtovorné orgány
C	Kardiovaskulární systém
D	Dermatologika
G	Urogenitální systém a pohlavní hormony
H	Systémové hormonální přípravky kromě pohlavních hormonů a inzulínu
J	Protiinfekční léčiva pro systémové použití
L	Antineoplastika a imunomodulující léčiva
M	Muskuloskeletální systém
N	Nervová soustava
P	Antiparazitika, insekticidy, repelenty
R	Dýchací ústrojí
S	Smyslové orgány
V	Různé

Tabulka 3: Úroveň 1 kódu ATC – hlavní skupiny léčiv dle WHO

### 3.3.2.1 Osud léčiv v životním prostředí

Léčiva se do odpadních vod dostávají primárně po užití lidmi, popřípadě zvířaty. Ta se mohou dostávat z těla buď ve stejné formě, v jaké je člověk přijal, nebo se přemění v metabolity. Splašky se dostávají do odpadní vody a následně do čistírny odpadních vod. Většinu reziduí se podaří vyčistit, ale část není čistička plně schopna zachytit a dostávají se tak do recipientu a může dojít i ke kontaminaci pitné vody. Léčiva jsou přítomna i v čistírenských kalech, který může pak znamenat riziko pro potravní řetězec. Farmaka se dostávají do životního prostředí i prostřednictvím veterinárních antibiotik. Ta jsou využívána k hromadnému ošetřování drůbeže a dalším živočišným výrobám. Ve velké míře jsou používána i na rybích farmách primárně k prevenci a léčení infekcí. Další možností, jak se mohou léčiva dostat do životního prostředí, je průsak léčiv ze skládky do půdy. To může být způsobeno tím, že se na skládku dostanou proslá léčiva, která lidé vyhodili spolu s komunálním odpadem. Významně to může ovlivnit nedostatečné zabezpečení skládky v rámci průsaků (Kotyza et al. 2009).

Únik léčiv do vodního prostředí velmi negativně může ovlivňovat organismy žijící ve vodě. Dnes je už známým pojmem působení hormonálních léčiv na ryby. Látka, která je obsažena v hormonálních pilulkách, tzv. ethinylestradiol ovlivňuje reprodukci a střeva ryb. Látek ovlivňujících vodní svět je vícero, například diclofenac, který inhibuje fotosyntézu u řas působením na chloroplasty. Karbamazepin má podobné účinky (Li, 2014).

Nežádoucí působení hormonální antikoncepce bylo potvrzeno několika studiemi. Jeden z experimentů potvrdil snížení plodnosti střevlí. Studie trvala 5 let v experimentálním jezeře, kde chovali střevle. Do jezera napustili roztok s antikoncepcí a sledovali změny. Došli k závěru, že u samic byla významně snížena plodnost a u samců zcela zastavena produkce mlíčí. V dalších studiích v Kolumbii zjistili u lososů změnu pohlavních orgánů (Kotyza et al., 2009).

Při čištění odpadních vod jsou nejdůležitější 2 pochody, které degradují léčiva. Jde o adsorpci na pevné částice a biodegradační techniky. Účinnost adsorpce je vázána na to, jakým způsobem farmaka interagují s mikroorganismy a dalšími částicemi. Vhodné pro degradaci farmak adsorpcí na pevné částice jsou léčiva hydrofobní povahy. Například ibuprofen a diklofenac jsou adsorpcí degradovány jen velmi špatně. Jsou poměrně kyselé a ve vodním prostředí tvoří záporně nabitě ionty (anionty). Léčiva, která se dobře rozpouštějí ve vodě, jsou pak nejlépe eliminována z vodního prostředí právě biodegradačními technikami. Ty mohou probíhat už při procesu čištění odpadních vod v zóně aktivovaného kalu (za přístupu i nepřístupu kyslíku), nebo také při anaerobní digesci (Fent et al., 2006).

### 3.3.2.2 Faktory ovlivňující příjem léčiv rostlinami

To, jak se jednotlivá rezidua léčiv chovají ve vodě, je ovlivňováno různými faktory. Vliv na to jednoznačně mají chemická struktura, rozpustnost, sorpce, dané klimatické podmínky, persistence a v neposlední řadě vlastnosti vody. Rostliny mohou přijímat kontaminanty a zabudovávat je do svých tkání. To je ovlivněno fyzikálně – chemickými vlastnostmi rostlin a půd. Vstup mikropolutantů do rostlin je ovlivněn druhem rostliny, odrůdou rostliny, množstvím kontaminantů v půdě, přístupným podílem kontaminantu a prostředím, tedy vstupy kontaminantů do rostlin a půd. Sloučeniny kontaminantů, které jsou hydrofobní, jsou pevně vázané na povrch kořenů a je poměrně obtížné je degradovat (Schnoor et al., 1995).

Pro příjem karbamazepinu a translokaci mikropolutatu do rostliny má významný vliv jeho hydrofobnost, rozpustnost a celkové množství přijaté rostlinou (Ravichandran & Philip, 2021). Wu et al. (2010) zjistili při studiu léčiva fluoxetin, že při pěstování sóji v půdách, které zavlažovali vodou obsahující cca 10 µg/l této látky nebyly po sklizni nalezeny žádné koncentrace. Což mohlo být způsobeno sorpcí na půdní částice a poukazuje to na nízkou biologickou dostupnost léčiva v půdě.

Dostupnost kontaminantů rostlinám je závislá na lipofilních vlastnostech sloučenin kontaminantů, typu dané půdy a taktéž staří vyskytujícího se kontaminantu, respektive doby, po kterou byl kontaminant v půdě (Schnoor et al., 1995).

Rostliny jsou schopny poměrně efektivně odebírat látky a další částice z okolí. Zvláště ty, které jsou průměrně lipofilní nebo jsou slabými elektrolyty. Omezený odběr rostlinami je u polárních látek. Takové látky se jen velmi těžko dostávají skrze biomembrány. Naopak látky, které se vyznačují vysokou lipofilitou se přes membránu dostávají dobře a rychle. Poté se akumuluje v kořenech rostliny (Trapp & Karlson, 2001; Briggs et al., 1982).

Mobilitu léčiv a zároveň i dostupnost léčivých látek pro rostliny je ovlivněna obsahem organického uhlíku a sorpční kapacitou. Taktéž je důležitým faktorem, zda je látka hydrofobní (horší průchod léčiva přes membránu), nebo hydrofilní, pak je průchod membránou snazší (Trapp, 2004).

Cílem živých organismů je snaha omezit toxický vliv cizorodých látek, které by mohly mít na organismus negativní dopad. S evolucí se postupně vyvíjely obranné mechanismy. Jak již bylo výše zmíněno, obranné mechanismy závisí na povaze dané látky vstupující do rostliny. Přes plazmatickou membránu do rostlinné buňky je obtížný průchod látek polárních, hydrofilních. Látky s touto povahou nepředstavují pro rostlinu významné riziko, neboť hydrofobní membrány rostlin jsou schopny řídit a kontrolovat příjem cizorodých látek. Naopak látky nepolární a lipofilní vstupující do rostlin a organismů mohou výrazně ovlivnit mechanismy buněk. Látky tohoto charakteru díky svým vlastnostem mohou procházet membránou takřka samovolně. V této chvíli se mohou rostlinné buňky bránit detoxikačními reakcemi, což jsou reakce, kterými se snaží vypořádat s přítomností cizorodých látek

(xenobiotik). Podstatou detoxikačních reakcí je chemická transformace cizorodé látky na látku, která nebude rostlině škodit a působit fyto toxicky (Vaněk, et al., 2017).

### **3.4 Remediace**

Remediace je proces, kdy dochází k odstraňování polutantů ze životního prostředí. Lze tak snížit a omezit následky kontaminace, která byla způsobena antropogenní činností. Během bioremediačních technik probíhají biologické procesy, které spolu s mikroorganismy odstraňují polutanty z prostředí. V dnešní době se výzkumy zabývají zefektivňováním již existujících metod, modifikacemi, případně zkoumáním metod nových. Díky dlouholetým výzkumům byly vyvinuty metody, které efektivně a levně čistí kontaminované plochy (Soudek et al., 2008).

Bioremediační proces je ovlivněn mnoha faktory a hodnocení procesu by mělo probíhat před remediačním zásahem, během něj a po něm. K zamezení negativního působení polutantů na životní prostředí přispívá informovanost o vlastnostech těchto látek a zvolení správné remediační techniky. Celkově je zapotřebí nejprve pochopit danou problematiku a okolnosti a následně je možné provést nápravná opatření. Použití metody se odvíjí nejen od složení znečišťujících látek v odpadní vodě, ale taktéž nesmí být opomenut ekonomický aspekt problematiky (Wanner, 2019).

#### **3.4.1 Fytoremediace**

Rostliny přeměňují a mineralizují vysoké množství organických polutantů. Díky této funkci rostlin mohou být pak farmaka z prostředí degradována a následně mineralizována na látky, které už jsou poměrně neškodné v životním prostředí. Kupříkladu oxid uhličitý nebo amoniak (Meagher, 2000).

Technika fytoremediace využívá zelených rostlin k tomu, aby přesunula, odstranila nebo akumulovala kontaminanty obsažené v životním prostředí. Fytoremediační techniky mají největší využití na lokalitách, které jsou znečištěné povrchově. Vysoká účinnost dekontaminace byla zjištěna u látek hydrofobních, například u benzenu, toluenu a nitrosloučenin. Některé rostliny vhodné k fytoremediačním technikám odstraňování kontaminantů na lokalitě jsou schopné remediovat i za velmi nepříznivých podmínek, jako jsou chudé či příliš kontaminované půdy. Avšak tyto rostliny často limitují zase jiné faktory, jako je jejich omezená schopnost akumulovat pouze určité látky nebo pomalý růst (nízká produkce biomasy). Nejvhodnější je tedy zvolit rostliny, které tvoří dostatek biomasy, jsou schopné absorbovat širší paletu vyskytujících se kontaminantů a taktéž odolávat nepříznivému prostředí (Cunningham et al., 1995; Gabbrielli et al., 1991).

Využití rostlin jako remediační techniky je výhodné z hlediska nízkých nákladů a minimálního poškození okolního prostředí. Fytoremediace je vhodná pro různé typy polutantů a společností jsou tyto techniky přijímány velmi pozitivně. Co se nevýhod týče, tak v porovnání

s fyzikálně – chemickými metodami jsou významně pomalejší a ne vždy dochází k úplnému odstranění kontaminantů (Schnoor et al., 1995).

Fytoremediačních schopností rostlin je často využíváno podél vozovky, kde rostliny zachytávají polutanty ze spalovacích motorů aut a dalších prostředků silniční dopravy. S využitím rostlin lze i čistit odpadní vodu, například vytvořením umělých mokřadů (Vaněk et al., 2017).

Mikropolutanty, mezi které spadají i látky osobní péče a léčiva se v životním prostředí vyskytují ve velmi nízkých koncentracích, i přesto mohou představovat environmentální rizika pro vodní ekosystémy. Jako účinnou technologií odstraňování mikropolutantů se ukázala metoda umělých mokřadů, kde je nejdůležitějším procesem degradace mikropolutantů (Sossalla et al., 2021).

Brunhoferová et al. (2021) se zabývali možnostmi fytoemediace mikropolutantů z odpadní vody. Vybudované umělé mokřady jsou schopné přispět k odstranění mikropolutantů z odpadních vod. V experimentu byl využit rákos obecný (*Phragmites australis*), kosatec žlutý (*Iris pseudacorus*) a kyprej vrbice (*Lythrum salicaria*). Tyto rostliny byly vystaveny určité koncentraci směsi mikropolutantů (1–14 mg/l) a sledovány 30 dní. Nejvyšší rychlost odstraňování mikropolutantů bylo prokázáno u antibiotických látek (90 %), dále u beta – blokátorů (50 %) a následně u fluorosurfaktantů (30 %). Výsledky výzkumu jasně prokázaly, že fytoemediace pomocí umělých mokřadů se jeví jako vhodná technologie využitelná k dodatečnému dočištění odpadní vody.

Na každou lokalitu je vhodná jiná rostlina či strom. Z rostlin se využívá hojně vojtěška, která výborně svými hlubokými kořeny fixuje dusík. Ze stromů jsou pak pro svou odolnost a rychlost růstu vhodné k fytoemediačním technikám vrby a topoly z čeledi vrbovitých (*Salicaceae*) (Nyer & Gatliff, 1996).

Fytoemediace využívá dvou základních technik:

#### **3.4.1.1 Fytodekontaminace**

Do této metody spadá fytoextrakce, kdy dochází k akumulování kontaminantů do tkání rostlin. Rostliny jsou v určitém čase sklizeny, zpracovány a uloženy k dalším analýzám. Z rostlin se pak extrahují chemicky kontaminanty. V případě, že kontaminant, který byl extrahován rostlinou, není hned odstraněn, nebo odstraněn pouze z části, dojde k fytoakumulaci. Některé druhy rostlin umějí fytoakumulovat kovy a radionuklidy. Kontaminující látky se v rostlinách akumulují a poté je jednodušší následné odstranění. Rostliny se sklídí a spolu se znečišťujícími látkami se spálí. Další metodou je fytodegradace, kdy rostliny jednotlivé kontaminanty přeměňují a vzniklé produkty pak zabudovávají do svých rostlinných tkání (Gabbrielli et al., 1991).

Fytodekontaminační technikou je i rhizodegradace, pomocí které dochází ke snížení kontaminantu v půdě vlivem navýšení půdních bakterií v okolí kořenů. Z kořenů dochází k uvolňování organických látek a ty se stávají cennou živinou pro bakterie, které se v půdě nacházejí. Dostatek živin tak stimuluje jejich aktivitu, to má za následek zvyšování efektivity procesu odbourávání kontaminantů (EPA, 2007).

V neposlední řadě je vhodné zmínit i fytovolatilizaci. Jde o dekontaminační techniku, při které rostlina převádí kontaminující látku do její těkavé podoby, ta poté těká z půdy do atmosféry. Například může rostlina převést do méně toxické podoby selen. Za přítomnosti mikroorganismů ho převede na dimethylselenid, což je sice stále těkavá látka, ale s podstatně nižší toxicitou. Fytovolatilizovat lze pouze látky obsahující selen, rtuť nebo chlorovaná rozpouštědla (Susarla et al., 2002; Rugh et al., 1996)

#### **3.4.1.2 Fytostabilizace**

Fytostabilizace je vhodná pro přípravu dané kontaminované lokality před tím, než dojde k její dekontaminaci. Fytostabilizací lze omezit pohyb kontaminantů do okolí. Toho lze docílit tím, že vysázíme určité stromy, které se vyznačují rychlým růstem a dobrou absorpcí vody kořeny. Před vysázením takových dřevin je zapotřebí zanalyzovat zeminu a podzemní vodu v dané oblasti. Následně pak lze odhadnout směr a rychlost polutantů v prostředí. Fytostabilizační techniky jsou ovlivněné produkcí huminových látek, které jsou schopné vázat polutanty v půdě. Huminové látky mají schopnost zabraňovat větrné i vodní erozi (Hanks & Ritchie, 1991).

Fytostabilizace využívá toho, že jsou kořeny schopné měnit půdní pH a vlhkost. Vhodným výběrem vegetace pro fytostabilizaci lze ustálit kontaminující látky a předejít tak negativním interakcím se životním prostředím (Susarla et al., 2002).

#### **3.4.2 Mykoremediace**

Mykoremediční techniky jsou zatím nejméně prostudované. K dekontaminaci prostředí využívají ligninolytické houby. Tyto houby, nazývané také jako houby bílé hniloby rozkládají ligninové části dřeva. Rozklad ligninu je za účasti extracelulárních enzymů, které houby produkují. Mezi extracelulární enzymy patří lakázy, peroxidázy a mezi intracelulární enzymy např. monooxygenázy či nitroreduktázy cytochromu P450. Ligninolytické houby produkují nespécifický enzym lignin peroxidázu. Pomocí tohoto enzymu jsou tak schopné oxidovat poměrně široké spektrum aromatických sloučenin. Hlavními zástupci ligninolytických hub jsou například *Pleurotus* a *Phanerochaete* (hlíva a kůrovka). Náklady na využití hub k dekontaminaci prostředí jsou poměrně nízké a metoda je zároveň šetrná k životnímu prostředí (Pointing, 2001).

Houby jsou vhodné k dekontaminaci půdy a vody. V remediačních technikách lze rozlišovat 3 druhy hub. Prvním druhem jsou houby saprofytické, které za účasti enzymů



rozkládají organický materiál. Dále parazitické houby, které jsou schopny ničit bakterie, případně další patogeny a houby mykorrhizní (Rhodes, 2015).

Houby jsou schopné ze životního prostředí odstraňovat těžké kovy, ropné uhlovodíky, polychlorované bifenylly, polycyklické aromatické uhlovodíky, pesticidy, farmaka nebo barviva (Singh, 2006).

Mykoremediační techniky se do budoucna jeví jako velmi vhodné možnosti remediaci, zvláště pro těžko rozložitelné kontaminanty. Houby dokážou kontaminanty odstraňovat, ale i snižovat jejich toxicitu. Mykoremediace je možné aplikovat *in situ* i *ex situ*. Obě varianty nezatěžují životní prostředí a jsou nízkonákladové. Tyto techniky jsou prostorově nenáročné. Jedinou nevýhodou je čas. Houby potřebují poměrně hodně času k tomu, aby se zvládnuly adaptovat v prostředí znečišťujících látek a začaly je odstraňovat. Než se houby nasadí na danou lokalitu, je třeba nejprve zvážit a posoudit toxicitu remediovaného území (Bierkens et al., 2005).

Mykoremediace jsou stále předmětem výzkumů a zkoumání dalších možných způsobů, jak dekontaminovat půdu a vodu. Existují různé metody, které jsou schopné pomocí hub dekontaminovat životní prostředí (Kulshreshta et al., 2014).

### 3.4.3 Bidegradace

Metoda biodegradace má schopnost rozkladu znečišťujících látek za pomoci enzymů schopných degradace. V rámci biodegradace léčiv byly sledovány primárně diklofenak, propranolol, ibuprofen, karbamazepin, ketoprofen, atenolol, sulfamethoxazol či naproxen (Marco – Urrea et al., 2009).

Marco et al. (2009) zkoumali schopnost hub (*Ganoderma lucidum*: Leskokorka lesklá, *Trametes versicolor*: Outkovka pestrá, *Irpex lacteus*: Bránovitka mléčná, *Phanerochaete chrysosporium*) rozkládat mikropolutanty jako karbamazepin, kyselinu klofibrovou a ibuprofen. Zjistili, že všechny druhy hub úspěšně rozložili ibuprofen. *Trametes versicolor* nejúčinněji biotransformovala karbamazepin a kyselinu klofibrovou.

Čvančarová et al. (2013, 2015) se zabývali rozkladem antibiotik, která se hojně využívají ve veterinární léčbě. Tato fluorochinolonová antibiotika v přírodě zapříčiňují vyšší rezistenci bakteriálních společenstev k antibiotikům. První z jejich prací se zabývala studiem flumechínu a jeho biotransformace s účastí 5 hub. Flumechín se využíval k léčbě infekcí způsobených bakteriemi. Výsledkem modelového pokusu trvajícího tři až 6 dní byla degradace polutantu s účinností vyšší než 90 %. Nejúspěšněji proběhla degradace v případě hub *Irpex Lacteus*, *Trametes versicolor* a *Dichomitus squalens*. V jejich dalším pokusu zkoumali i další antibiotika v rámci biodegradace houbami. Za účasti houby *Irpex lacteus* a *Trametes versicolor* zjistili, že antibiotika jako ciprofloxacin, ofloxacin a orfloxacin jsou hůře degradovatelná než antibiotikum flumechín.

## 3.5 Zástupci hub vhodných k mykoremediaci

### 3.5.1 *Pleurotus*

Hlíva ústříčná je užívána jako doplňková potravina v kuchyni a lze ji použít i ke snížení cholesterolu v krvi. Ohledně hlívy plicní jsou prováděny průzkumy kvůli její potenciální schopnosti pomáhat v léčbě rakoviny či diabetu. *Pleurotus* je považován za nejúčinnější rod hub, který je schopný degradovat kontaminanty z půdy. Zároveň po aplikaci této houby dochází ke snížení akutní toxicity v místě, kde je využívána (Singh, 2006).

*Pleurotus ostreatus* (Hlíva ústříčná) pochází ze skupiny ligninolytických hub, které jsou schopné pomocí ligninolytických enzymů (např. lakázy) degradovat mikropolutanty. Tyto enzymy rozkládají lignin a aromatické skupiny. Hlíva ústříčná a hlíva plicní (*P. ostreatus*, *P. pulmonaris*) jsou účinné v odstraňování PAH, PCB, ropných uhlovodíků, těžkých kovů a mikropolutantů z půdy a odpadních vod. Využití ligninolytických hub v remediacích je podmíněno jejich specifickými podmínkami, které vyžadují pro svůj růst. *Pleurotus ostreatus* má oproti *Phanerochaete chrysosporium* jiné požadavky na teplotní podmínky. Hlíva ústříčná je méně náchylná a je schopná degradovat i za nízké teploty, až do 8 °C (Hestbjerg et al., 2001)

Využití hlívy pro dekontaminaci perzistentních organických polutantů je dobře známo. Hlíva je schopná odstraňovat z půdy PAU (Eggen & Majcherczyk 1998; Huttermann, 1989) i PCB (Moeder et al. 2005).

Studii bylo prokázáno, že *Pleurotus* velmi dobře rozkládá endokrinní disruptor bisfenol A. Tento disruptor negativně ovlivňuje činnost žláz. Hlíva je schopná škodlivou látku pomocí enzymů přetvořit na neškodnou. Velmi dobrá účinnost odstraňování polutantů je i v případě antibiotik. Pokusem bylo zjištěno, že hlíva dokáže rozložit ciprofloxacin. Taktéž její houbové enzymy odstraňují toxickou látku alfatoxin B1 (Singh et al., 2017; Lauren et al., 2017).

### 3.5.2 *Phanerochaete*

Kůrovky jsou nejprostudovanější houbou (Bogan et al., 1996). Houby rodu *Phanerochaete* jsou stejně jako *Pleurotus* vhodné k dekontaminaci půdy od polycyklických aromatických uhlovodíků. Biodegradují i PCB, pesticidy, dioxiny, výbušniny a mikropolutanty. Například zemina pocházející ze staré zátěže byla pomocí této houby zbavena 45 % koncentrací PAH oproti původní kontaminaci (May et al., 1997).

Nejznámějším zástupcem rodu *Phanerochaete* je *chrysosporium*. Experimentem bylo dokázáno, že tento druh je schopný degradovat ve vodě trinitrotoluen až na konečný oxid uhličitý. Dalším experimentem byla prokázána biodegradační schopnost u zástupce *P. velutina*. V tomto případě bylo degradováno cca 80 % trinitrotoluen z půdy (Perkins et al., 2005).

Pomocí této houby lze účinně odstranit i ibuprofen, karbamazepin a kyselinu klobfibrovou. Degradace mikropolutantů ligninolytickou houbou byla prokázána v experimentálním modelu v tekutých systémech (Marco – Urrea et al., 2009).

Zhang et al., (2019) ve své studii zkoumali možnost degradace antibiotika sulfadiazinu houbou *Phanerochaete chrysosporium*. Sulfadiazin je často detekován v půdě a povrchových vodách. Výsledky ukázaly, že je houba schopná degradovat léčivo v koncentracích do 10 mg/l při pH 5,7 a teploty 30 °C během 6 dnů. Na účasti degradace se podílely zejména enzymy: manganová peroxidáza a ligninolytická peroxidáza.

V případě *Phanerochaete chrysosporia* je pro růst potřeba teplota 37 °C a pro správnou tvorbu enzymů o 7 stupňů méně. Tato houba je tedy nevhodná pro využití v oblastech mírného klimatického pásma (Hestbjerg et al., 2001)

### 3.5.3 *Irpex*

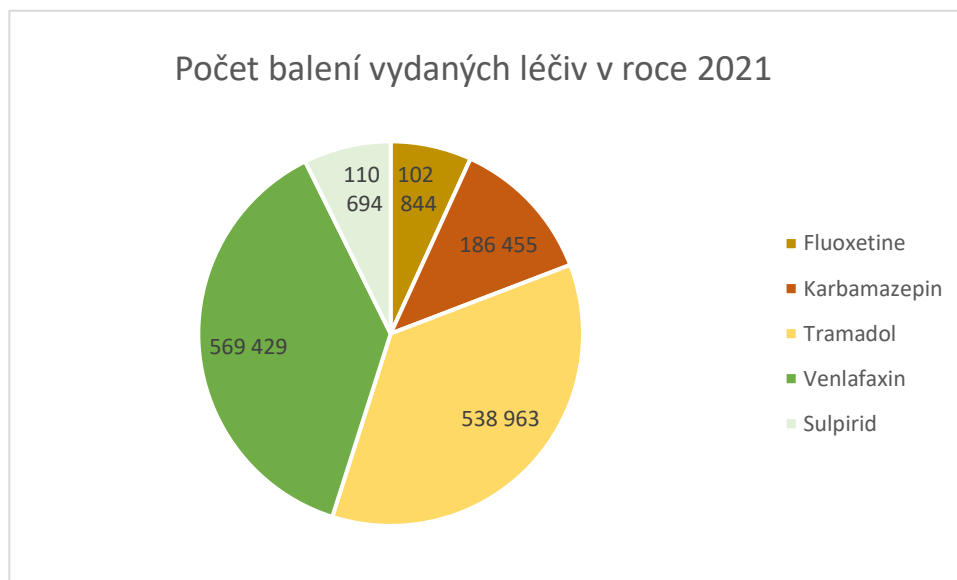
Bránovitky poházejí ze Severní Ameriky a Evropy. V České republice spadá mezi ohrožené druhy (Singh, 2006).

Cajthaml et al. (2002) prokázali, že houby rodu *Irpex* (bránovitky) jsou vhodné k degradaci polycyklických aromatických uhlovodíků, polychlorovaných bifenyly, výbušnin a syntetických barviv. Společně s houbou rodu *Pleurotus* mají nejvyšší biodegradační účinky. Biodegradace zeminy houbou *Irpex* je jednou z nejrychlejších a také má schopnost výrazně snížit akutní toxicitu.

Čvančarová et al. (2013) zkoumali možnosti degradace fluorochinolonových antibiotických léčiv, které jsou využívány ve veterinární léčbě. Výskytem těchto léčiv v životním prostředí se předpokládá, že může postupně dojít k rezistenci na tato antibiotika. Výzkum zaměřený na biotransformaci flumechinu potvrdil velice účinnou degradaci léčiva houbou *Irpex lacteus* (>90 %). Této účinnosti bylo dosaženo během 3 až 6 dnů. Ligninolytická houba *Irpex lacteus* je také schopná degradovat v tekutých systémech ibuprofen, karbamazepin a kyselinu klofibrovou (Marco – Urrea et al., 2009).

### 3.6 Výčet sledovaných léčiv

Látek, které se dostávají do čistírenského kalu a odpadních vod je opravdu mnoho. Během analýz v rámci praktické části práce bylo nalezeno velké množství farmak ve vzorcích. Z toho důvodu bylo pro účely diplomové práce vybráno a popsáno 5 z nich.

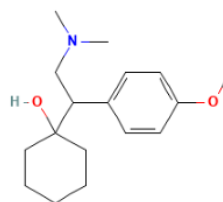


Graf 2: Počet balení vydaných léčiv v roce 2021 dle Súkl.cz

#### 3.6.1 Venlafaxin

Venlafaxin ( $C_{17}H_{27}NO_2$ ) je látkou ovlivňující chemické procesy v mozku. Působí jako antidepresivum, tzn. slouží ke zmírnění depresivních poruch, úzkostí a dalších duševních nemocí. Léčivá látka účinkuje v lidském organismu poměrně rychle a vzhledem k jejím nízkým nežádoucím účinkům je považována pro člověka za bezpečnou (Tran et al., 2003).

ATC kód dle Pubchem.ncbi
N06AX16 – Venlafaxin
N – Nervový systém
N06 – Psychoanaleptika
N06A – Antidepresiva
N06AX – Jiná antidepresiva



Jako antidepresivum je tato látka hojně předepisována. Zhruba polovina přijaté látky se během dvou dnů vyloučí močí do odpadní vody ve formě metabolitu (O – desmethyl venlafaxin). Pouhých 5 % účinné látky je z těla vyloučeno ve své nezměněné formě. Výzkumem, který se zabýval analýzou surové odpadní vody z italských měst, se potvrdila přítomnost venlafaxinu a jeho metabolitů. Venlafaxin byl detekován ve všech vzorcích a byly přítomny i dva metabolity. Výsledná data souhlasila i s výsledky ze španělských měst (Boix et

al., 2016). V roce 2010 byl proveden rozsáhlý monitoring odpadních vod z 90 čistíren a vzorky byly analyzovány na přítomnost mikropolutantů. V odpadní vodě se průměrně nacházelo 119 ng/l venlafaxinu. Maximální koncentrace dosahovaly 548 ng/l (Loos et al., 2013). Koncentrace venlafaxinu byly naměřeny i v povrchových vodách, ve kterých mohou negativně ovlivňovat vodní živočichy. Ve španělských řekách v okolí Madridu byly zjištěny koncentrace venlafaxinu kolem 57 ng/l (Melvin, 2017). Přítomnost a účinnost odstraňování venlafaxinu byla sledována na čtyřech čistírnách. Čistírny byly vybaveny technologií, která byla schopna čistit aktivovaný kal. Koncentrace zkoumané látky v kalu se pohybovala mezi 54–336 ng/l. Na odtoku byly zjištěny koncentrace kolem 22–176 ng/l. V rámci výzkumu bylo potvrzeno snížení koncentrací venlafaxinu na odtoku ze systému. I přes to by koncentrace, které se do vodního recipientu dostaly po vyčištění v čistírně odpadních vod, mohly mít nežádoucí účinky na vodní prostředí (Rua – Gomez et al., 2012).

Další studií bylo prokázáno, že koncentrace venlafaxinu v pikogramech/l ve vodním prostředí vyvolaly negativní účinky na život hlemýžďů žijících ve sladké vodě. Účinky léčiva by tak mohly způsobit i smrt. Zároveň nelze vyloučit účinky toxikologické povahy v rámci interakcí mezi jednotlivými léčivy vyskytujícími se v odpadní vodě (Fong & Hoy, 2012; Cleuvers, 2004). Bylo také potvrzeno, že koncentrace venlafaxinu v povrchových vodách mají fyto toxické účinky na břehové ekosystémy. Konkrétně u kapradiny štětinonosné (*Polystichum setiferum*) byla vyvolána po kontaktu s venlafaxinem akutní fyto toxicita po 24 a 48 hodinách. Po této době došlo k významnému snížení mitochondriální aktivity (Feito et al., 2013).

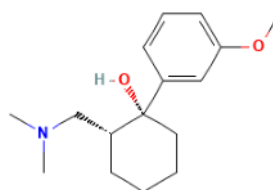
Odstranění venlafaxinu ze životního prostředí není tak jednoduché. Například pomocí biofilmových reaktorů během terciálního čištění odpadních vod za účelem výroby pitné vody nebylo možné zcela odstranit venlafaxin. Studie se zaměřovala na degradaci léčiv za přidání acetátu. Ani v případě zvýšení dávky acetátu nebyl venlafaxin degradován (Zhang et al., 2019). Koncentrace mikropolutantů je možné snižovat i pomocí kompostovacího procesu. Bohužel ne u všech látek má kompostování vysokou účinnost. Výzkumem trvajícím 12 měsíců bylo zjištěno, že obsah venlafaxinu v anaerobně vyhnílé a odvodněném kalu vykazoval nízké (účinnost méně než 50 %), nebo žádné snížení koncentrací látky během procesu kompostování (Dalahmeh et al., 2021). K uvolnění léčiva do životního prostředí může dojít i při výrobě léčiva. Venlafaxin v půdě je mírně mobilní a nachází se výhradně ve formě kationů, což značí, že se v půdě silněji sorbuje (NCBI, 2021). Venlafaxin vstupuje do rostlin ve formě kationtu. Je snadno absorbován a transportován do kořenů rostlin a následně translokován do nadzemních částí. V případě výskytu venlafaxinu v závlahové vodě se tak poměrně snadno může dostávat do plodin (Khalaf et al., 2021).

### 3.6.2 Tramadol

Tramadol ( $C_{16}H_{25}NO_2$ ) je analgetikum ovlivňující centrální nervovou soustavu. Tlumí bolesti a lze ho považovat za opiát. Do vodního recipientu se dostává nejčastěji odtokem z čističky (Rúa – Gomez & Püttman, 2012).

Tramadol je vhodným léčivem pro pacienty se středními až závažnými nemocemi. Z provedených testů závislosti na daném léčivu nebyla zjištěna fyzická závislost při krátkodobém užívání. V případě dlouhodobého užívání nelze fyzickou závislost vyloučit (Lee et al., 1993).

<b>ATC kód dle Pubchem.ncbi</b>
N02AX02 – Tramadol
N – Nervový systém
N02 – Analgetika
N02A – Opioidy
N02AX – Jiné opioidy



Tramadol se dostává do vodního prostředí převážně jako metabolit, *O*-desmethyltramadol (60 % uvolněné látky). Pouze z 30 % se dostane močí odpadem do vody ve své nezměněné podobě (Khalaf et al., 2021). V Číně byly analyzovány vzorky odpadní vody z 30 měst, kde v naprosté většině vzorků byl tramadol přítomen. Koncentrace dosahovaly až 186 ng/l (Du et al., 2021). Tramadol je dobře rozpustný ve vodě a takřka netěká z vody do ovzduší. Lze předpokládat, že bude spíše přetrvávat ve vodě namísto akumulace do čistírenského kalu nebo vodních organismů. V německých řekách byly koncentrace tramadolu v hodnotách od 25 do 381 ng /l (Gomez & Püttman, 2012). Gomez & Püttman (2012) provedli studii v německé čistírně. Zkoumali rozšiřování a chování tramadolu. Vzorky analyzovali extrakční metodou a měřili plynovou chromatografií. Analyzované vzorky z přítoků odpadní vody vykazovaly koncentrace tramadolu. V neošetřené vodě byl nalezen v koncentracích do 3302 ng/l. S tramadolem si čistírna odpadních vod dokázala poradit jen částečně. Určité koncentrace i po biologickém čištění byly postupně vypouštěny do povrchové vody.

Koncentrace tramadolu v životním prostředí může z dlouhodobého hlediska narušit evoluční chování vodních živočichů. Prokázal to výzkum, během kterého byla ryba jelec tloušť (*Squalius cephalus*) vystavena koncentraci 1000 ng/l látky po dobu 42 dnů. Výsledky byly následně porovnány s kontrolní skupinou ryb bez vystavení tramadolu a bylo zjištěno, že došlo ke změně chování. Ryby vystavené tramadolu vykazovaly změny v jejich přirozeném chování. Ryby setrvaly častěji mimo svůj úkryt, vykazovaly nižší aktivitu a méně prozkoumávaly prostředí, které neznají. Chronická přítomnost látky v jejich tělech by tak mohla změnit jejich zdatnost a jejich chování dané evolucí (Santos et al., 2021).

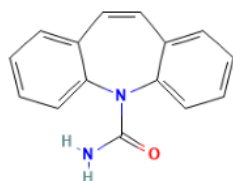
Tramadol patří mezi látky, které není možné dobře odstranit na klasické čistírně odpadních vod. Z toho důvodu jsou hledány alternativy. Byla zkoumána metoda, pomocí které se podařilo z 99,7 % odstranit tramadol z vodného roztoku. Bylo využito kombinace gama záření a nanofiltrační membrány. Výzkumem tak bylo prokázáno, že touto metodou lze spolehlivě tramadol odstraňovat. Metoda je navíc udržitelná a nespotřebává mnoho energie (Ghazouani et al., 2022).

Tramadol vstupuje do rostlin jako kation a má vysokou tendenci k translokaci do nadzemních částí rostlin (Khalaf et al., 2021).

### 3.6.3 Karbamazepin

Karbamazepin ( $C_{15}H_{12}N_2O$ ) je antiepileptickou látkou, která se využívá ke zmírnění bolestí, léčbě epileptických záchvatů a zmírnění neurologických stavů. Karbamazepin je také vhodný v léčbě bipolární poruchy, což je stav, kdy se střídají stavy mánie a deprese (Inchem, 1999; Bialer, 2012). Jako léčivo je takřka bez zápachu a má mírně nahořklou chuť (Debnath et al., 2020).

ATC kód dle Pubchem.ncbi
N03AF01 – Karbamazepin
N – Nervový systém
N03 – Antiepileptika
N03A – Antiepileptika
N03AF – Karboxamidové deriváty



Na evropském trhu je k dostání téměř 60 let. Tento lék působící na nervovou soustavu je prodejný pouze na lékařský předpis. Karbamazepin je častým kontaminantem odpadních vod. Světová spotřeba činní zhruba 1000 tun ročně. Tato hodnota naznačuje, že jde o poměrně významný kontaminant (Bialer, 2012; Zhang & Geissen, 2008). V odpadních vodách byl karbamazepin detekován po celém světě. Jeho koncentrace se pohybují ve stovkách nanogramů na litr, případně v mikrogramech na litr. Ve výzkumu Ternese (1998) se maximální hodnoty kontaminantu v odpadní vodě pohybovaly do 6300 ng/l. V povrchových vodách se už koncentrace karbamazepinu lišily v různých zemích. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny v Berlíně. Tam dosahovaly koncentrací 1075 ng/l (Heberer et al., 2002). U karbamazepinu je největším problémem, že je těžko odbouratelný a z 97 % se uvolňuje do prostředí ve formě metabolitů. Pouze ze zbylých pár procent se dostává do vody ve své původní formě (Smrček, 2014). Perzistentnosti karbamazepinu bylo věnováno mnoho studií. Většinou se účinnost odstranění této látky pohybovala pod 10 %. Nejvyšší účinnosti odstranění karbamazepinu na čistírně bylo dosaženo Paxéusem (2004), kdy byl kontaminant odstraněn z 53 % (Zhang et al., 2008). Karbamazepin jako jeden z nejvíce studovaných léčiv se dostává i do čistírenského kalu. Průměrné naměřené koncentrace byly kolem 0,9 ng/g v Číně a až 256 ng/g znečišťující látky ve Španělsku (Mejías et al., 2021).

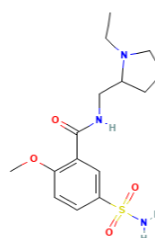
V případě karbamazepinu je důležité pravidelně sledovat jeho ekotoxikologické vlastnosti. Malarvizhi et al. (2012) sledovali účinky karbamazepinu na kapru obecném. Vystavili ho určité koncentraci (59,7 mg/l) a po 24 hodinách sledovali to, že se v jeho játrech a svalech snížila aktivita enzymů. V některých případech může dojít k akutní toxicitě, ale častější je toxicita chronická. Testy na chronickou toxicitu většinou vykazují vyšší toxicitu než v případě akutní toxicity. V některých případech bylo zjištěno, že karbamazepin nezpůsobil toxicitu žádnou, naopak koncentrace kontaminantu v organismu postupně klesala. Andreozzi et al. (2002) to potvrdili u řas *Ankistrodesmus braunii*. Mnoho studiemi bylo potvrzeno, že karbamazepin je z dlouhodobého hlediska škodlivý pro vodní ekosystémy (Zhang et al., 2008).

Jak už bylo zmíněno, karbamazepin je látkou, která je rezistentní v životním prostředí. Potenciálním rizikem úniku do půdy je jeho aplikace s čistírenským kalem na zemědělskou půdu nebo během zavlažování polí. Tímto způsobem se pak dostává z půdy do plodin a jeho výskyt je pak značný v potravinovém řetězci, například v zelenině. Zhang et al. (2022) studovali možnosti odstranění karbamazepinu z odpadních vod. Jako účinná metoda se ukázala kombinace UV fotolýzy s oxidací jodičnanu ( $\text{IO}_3^-$ ). Samotná UV fotolýza na degradaci kontaminantu nestačila (účinnost kolem 7 % po půl hodině reakce). Nedostatečné odstranění karbamazepinu je i při použití oxidace  $\text{IO}_3^-$ . Kombinací těchto dvou metod bylo dosaženo kolem 92 % účinnosti po půl hodině reakční doby. V úvahu připadá i metoda kompostování, pomocí které je možné snížit koncentrace karbamazepinu v půdě. Tímto procesem ho lze degradovat s méně než 50 % účinností (Calisto & Esteves, 2012; Dalahmeh et al., 2021). Vzhledem k tomu, v jaké míře je životní prostředí karbamazepinen kontaminováno, tak nelze jeho přítomnost vyloučit v potravinovém řetězci. Například zelenina jako je mrkev a celer jsou schopny přijímat karbamazepin a akumulovat ho ve svých rostlinných tkáních. Byl potvrzen jeho výskyt ve všech jedlých částech zeleniny. Příjem a translokaci karbamazepinu je možné omezit aplikací hnojiva, čistírenských kalů do půdy (Li et al., 2018).

#### 3.6.4 Sulpirid

Sulpirid ( $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ ) je v léčbě používán jako antidepresivum a antipsychotikum. Je významný v léčbě schizofrenie. Sulpirid se vyskytuje ve vodním prostředí a ve skládkovém výluhu (Hong et al., 2020). Hojně je využíván v nemocnicích a klinikách k léčbě psychických nemocí, jako například halucinací apod. Právě z tohoto zdroje se sulpirid dostává do odpadní vody ve vysoké míře. Množství uvolněného léčiva závisí na hustotě obyvatelstva v dané lokalitě (Zhang et al., 2016).

ATC kód dle Pubchem.ncbi
N05AL01 – Sulpirid
N – Nervový systém
N05 – Psycholeptika
N05A – Antipsychotika
N05AL – Benzamidy





Sulpirid je považován za antipsychotikum. V povrchových vodách čínského poloostrova Liaodong byl nalezen v koncentracích 0,35 – 1,5 ng/l, v městských čínských řekách průměrně 77,3 ng/l (Xie et al., 2020; Wang et al., 2015). Analýzou byl na odtoku z městské čistírny detekován sulpirid v surové a vyčištěné vodě v koncentracích do 1100 ng/l. Studií, která se zabývala výskytem a osudem sulpiridu v čistírnách odpadních vod bylo zjištěno, že sulpirid by mohl představovat indikátor pro vyčištěné odpadní vody pro použití k výrobě pitné vody. Ten byl indentifikován ve vyčištěné odpoadní vodě, ale nebyl kvantifikován. Během laboratorního pokusu biodegradace s aktivovaným kalem také zjistili, že nedošlo k významnému odstranění farmaka, což naznačuje jeho vysokou persistenci (Bollmann et al., 2016).

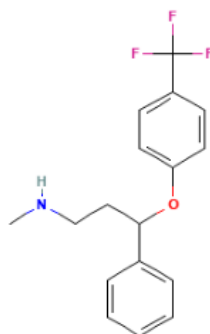
Sulpirid je látkou, která je ledvinami člověka poměrně rychle vylučována v nezměněné podobě. V původní formě se vyloučí až 95 % přijatého sulpiridu. V případě psů a potkanů bylo potvrzeno, že se látka přeměnila na metabolity. U člověka k této přeměně nedošlo. V případě laboratorních drobných hlodavců bylo potvrzeno, že sulpirid zapříčiňuje zvyšování uvolnění prolaktinu. Právě tento jev by mohl podpořit vznik rakoviny mléčné žlázy u těchto hlodavců (Sukl, 2009).

Účinnost odstraňování látky z odpadní vody byla nízká, do 30 %. Plně odstranit se kontaminant podařilo ionizací. V laboratorních podmínkách ionizovali v poměru 2:1 (ozon:analyt). Persistentní sulpirid se může dostat i do podzemních vod (Bollmann et al., 2016). Pomocí elektrochemických oxidačních procesů je možné účinně degradovat sulpirid v kyselém i neutrálním roztoku. Je tak možné odstranit i nízké koncentrace této látky. Nevýhodou je vysoká spotřeba energie, z tohoto důvodu není technologie vhodná pro využití ve velkém měřítku (Sun et al., 2017).

### 3.6.5 Fluoxetin

Fluoxetin  $C_{17}H_{18}F_3NO$  je taktéž jedno z hojně používaných antidepressivních léčiv. S nárůstem spotřeby léčiva vzrůstá i nebezpečí úniku látky do životního prostředí, převážně do povrchových vod. To může mít za následek negativní ovlivnění vodních i suchozemských živočichů. Spolu s karbamazepinem spadají tato léčiva do skupiny selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (Kuster & Adler, 2014).

ATC kód dle Pubchem.ncbi
N05AL01 – Sulpirid
N – Nervový systém
N05 – Psycholeptika
N05A – Antipsychotika
N05AL – Benzamidy



Účinky fluoxetinu v životním prostředí jsou podobně jako u ostatních léčiv zkoumány. Stopové koncentrace jsou běžně nacházeny v povrchových vodách, to vyvolává u vědců obavy. Z toho důvody je prováděno mnoho studií na výskyt mikropolutantů ve vodním prostředí. Silva et al. (2012) uvedli, že průměrné koncentrace fluoxetinu v povrchových a podzemních světových vodách se pohybují v hodnotách kolem 0,5 – 8000 ng/l, v odpadních 0,15 – 32 228 ng/l. Ve Španělské řece v Madridu byl fluoxetin nalezen v mediánu 14 ng/l (Maláčová et al., 2021). Čistírna odpadních vod si v Portugalsku poradila s fluoxetinem dobře. Látka byla detekována pouze ve vzorcích na přítoku (127,97 ng/l) a na odtoku z čistírny se už látka nevyskytovala (Silva et al., 2012). Naopak v norských čistírnách byl fluoxetin detekován v čistírenském kalu v rozmezí od 30 do 40 µg/kg sušiny kalu (Vasskog et al., 2009).

Fluoxetin má už při nízkých koncentracích negativní vliv na živočichy žijící ve vodě. Mnoho studiemi bylo potvrzeno, že může v přítomnosti kontaminující látky dojít ke změně chování rybích společenstev. Na univerzitě v Georgii zkoumali vliv koncentrací fluoxetinu ve vodě na chování akvarijních rybek *Gambusia affinis*. Zjistili, že při vyšších koncentracích se akvarijní rybky držely při hladině a jejich fyzická aktivita byla značně omezena či polehávaly na boku. Ve výzkumu byla vyhodnocena akutní toxicita při 5 – 5,34 mg/l fluoxetinu a chronická při 0,00005 – 0,005 mg/l. Při zvyšování koncentrací fluoxetinu se zvyšovalo riziko úmrtnosti ryb (Henry & Black, 2008). Dalším experimentem bylo zase zjištěno, že fluoxetin s jeho antidepresivními účinky významně utlumil agresivního Kněžíka dvoupruhového (*Thalassoma bifasciatum*), který pochází z korálových útesů západního Atlantiku (Perreault et al., 2003).

Fluoxetin se po užití metabolizuje játry na norfluoxetin a menší množství této látky je vyloučeno v jeho nezměněné podobě. Ze životního prostředí ho lze následně degradovat pomocí fytoimediačních technik, případně na čistírně odpadních vod (Kuster & Adler, 2014). Jeho koncentrace lze významně snížit kompostovacím procesem, kdy byla u této látky potvrzena vysoká rychlost degradace přítomné látky, výtěžnost přes 57 % (Vasskog et al., 2009).

K tomu, aby fluoxetin rostlina z půdy přijala je zapotřebí, aby se sloučenina nacházela v půdním prostředí po delší dobu. Je zároveň v půdě odolný vůči biologickému rozkladu. Fluoxetin nejprve přijme rostlina kořeny, kde se dlouho nezdrží a kumuluje se ve stoncích a listech. Nebyla potvrzena fytotoxicita, která by významně omezovala růst rostlin (Redshaw et al., 2008).

## 4 Metodika

V rámci experimentální části práce byly analyzovány vzorky dříve realizovaného nádobového pokusu z hlediska obsahu residuí vybraných léčiv. Samotná realizace nádobového pokusu provedeného na Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin nebyla součástí této diplomové práce a jeho popis je tedy dále uveden jen stručně. Podstatou této práce bylo analyzovat vzorky půdy, půdních roztoků a rostlin kukuřice z hlediska vybraných mikropolutantů (venlafaxin, tramadol, karbamazepin, sulpirid, fluoxetin). Podrobně je tedy popsána metodika zpracování vzorků půdy a biomasy kukuřice, což bylo realizováno autorkou této práce.

Nádobový pokus proběhl v roce 2019 ve venkovních vegetačních halách České zemědělské univerzity v Praze. Hlavním cílem pokusu bylo studovat možnost zvýšení degradace residuí léčiv v čistírenském kalu po aplikaci na půdu přídatkem substrátů ligninolytických hub a/nebo kultivací rostlin kukuřice (*Zea mays* L.). Schéma experimentu se skládalo ze dvou hlavních částí, a to částí bez rostlin kukuřice a částí s rostlinami kukuřice. Každá z uvedených částí pak obsahovala 4 varianty – samotnou půdu po aplikaci čistírenského kalu, která sloužila jako kontrola, a pak tuto kalem ošetřenou půdu s přídatkem houbových substrátů. Všechny používané substráty (*Pleurotus*, *Phanerochaete*, *Irpex*) jsou schopny degradovat mikropolutanty a způsobují bílou hnilobu. *Pleurotus* je houba, která v přírodě roste celý rok na mrtvém i živém dřevě listnatých stromů. Její plodnice jsou tenké, světlé, s tendencí ke žloutnutí. Oproti tomu houba *Phanerochaete* roste pouze na mrtvém dřevě, to jak na listnatých stromech, tak na jehličnatých. Zbarvovat se mohou jednotlivé druhy do bíla, až červena. *Irpex* roste na dřevě listnatých stromů a oproti výše zmíněným se liší tzv. „roztrhanými rourky“, které připomínají ostny a jde o ohrožený druh.

Celkově tedy bylo založeno 8 variant, přičemž každá varianta byla tvořena ze 4 nezávislých opakování. Schéma pokusu je uvedeno v tabulce 6 a 7.

Pokus byl založen 9. května v roce 2019. V průběhu pokusu byly odebírány vzorky půdních roztoků pomocí vzorkovačů půdního roztoku Rhizon MOM v hlavních růstových fázích v předem určenou denní dobu. Vzorky byly odebírány v průběhu vegetačního období. První odběr byl realizován 17. května, druhý 7. června, třetí 3. července, čtvrtý 23. července, pátý 14. srpna a poslední odběr byl 28. srpna. O den později byla sklizeň.

Na konci vegetačního období, tedy po 112 dnech růstu byly rostliny kukuřice sklizeny v plné zralosti. Rostliny byly rozděleny na kořeny, stonky, listy a zrno. Jednotlivé části rostlin byly zlyofilizovány a následně byly zváženy, namlety a připraveny k extrakci residuí léčiv.

V tabulkách níže je uvedena charakteristika půdy a hodnoty pH. Na jednu nádobu se aplikovalo 1 kg čerstvého kalu. Kal měl sušinu 23,7 %.

Typ	Kambizemě
Textura	Hlinitopísčítá
pH	5,3
Draslík	9,63 g/kg
Vápník	1,83 g/kg
Hořčík	18 g/kg
Fosfor	8,47 g/kg
Suma 16 PAU	<5,6 µg/kg sušiny

Tabulka 4: Charakteristika použité půdy (Košnář et al., 2018)

Varianta	Počet nádob	Bez rostliny kukuřice
1: Kontrolní	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.)
2: Pleurotus	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Pleurotus substrát (0,2 kg čerstvé hm.)
3: Phanerochaete	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Phanerochaete substrát (0,2 kg čerstvé hm.)
4: Irpex	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Irpex substrát (0,2 kg čerstvé hm.)

Tabulka 5: Desing experimentu (varianta bez rostliny kukuřice)

Varianta	Počet nádob	S rostlinou kukuřice
5: Kontrolní	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.)
6: Pleurotus	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Pleurotus substrát (0,2 kg čerstvé hm.)
7: Phanerochaete	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Phanerochaete substrát (0,2 kg čerstvé hm.)
8: Irpex	4	Půda (4,0 kg suché hm.) + kal (1 kg čerstvé hm.) + Irpex substrát (0,2 kg čerstvé hm.)

Tabulka 6: Desing experimentu (varianta s rostlinou kukuřice)

## 4.1 Postup extrakce

### 4.1.1 Extrakce půdy

Do plastových centrifugačních zkumavek byl navážen 1 g vzorku. Dvě zkumavky byly bez naváženého vzorku, tzv. blanky (slepé vzorky). Do všech zkumavek bylo napipetováno 4 ml extrakčního roztoku (MeOH: MilliQ (0,5% FA (kyselina mravenčí), 0,5 g/l EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina – sodná sůl)) v poměru 1:1). Zkumavky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru značky IKA. Promíchané zkumavky se vzorky byly včetně držáku na vzorky umístěny do ultrazvukové lázně při 50 °C po dobu 15 minut. Následně byly osušené vzorky dány na 30 minut do třepačky. Po třepání byly vloženy na 10 minut do centrifugy při rychlosti RPM 4500 otáček za minutu a 10°C.



Obrázek 1: Zkumavky v centrifuze (zdroj vlastní)

Po odstředění bylo zapotřebí čistou tekutinu (supernatant) přelit do předem připravených a označených nových zkumavek. Zkumavky s výsledným supernatantem byly uzavřeny a ponechány stranou. Celý dosavadní proces byl proveden se zkumavkami se sedimentem znovu. Změnil se pouze extrakční roztok. Do zkumavek byly přidány 4 ml extrakčního roztoku (ethylacetát: MeOH: MilliQ (0,5% FA, 0,5 g/l EDTA v poměru 1:3:4. Po centrifugaci byl supernatant 2 přelit k supernatantu 1 (4 + 4 ml)



Obrázek 2: Zkumavky se supernatatem (zdroj vlastní)

Před tím, než byly provedeny další kroky, byl v centrifuze vyměněn nástavec na zkumavky za nástavec na eppendorfové zkumavky. V centrifuze byla teplota temperována cca hodinu a půl na teploty v rozmezí 0-6°C. Eppendorfky byly očíslovány ke každému vzorku po dvou, včetně blanků a umístěny do stojanu. Do eppendorfek byl pipetován 1 ml supernatantu. Po pipetování tedy vznikly od každého vzorku 2 ml. Následně bylo do všech zkumavek pipetováno 100 $\mu$ l roztoku SSA (4,85 g kyseliny sulfosalicylové + 10 ml MeOH: MilliQ). Dále byly vzorky promíchány na vortexu a vloženy na 10 minut do ledu. Zkumavky byly po osušení vloženy do centrifugy na 10 minut na maximální rychlost otáček za minutu (RPM 14000). Během centrifugace byly očíslovány skleněné vialky a vloženy do stojanu. Po centrifugaci byly vzorky přesunuty opět do ledu. Eppendorfky stejného čísla byly přefiltrovány do nových eppendorfek. Blanky přímo do připravených vialek. Cílem bylo převést a přefiltrovat roztok po centrifugaci do eppendorfek bez sedimentu na dně zkumavky (protein). Do vialek označených pouze číslem bylo pipetováno 995  $\mu$ l obsahu eppendorfek. Zbytek byl pipetován do vialek značených číslem a písmenem A. V posledním kroku bylo již pracováno pouze s vialkami značených A (after spike: vialky, ke kterým byla přidána směs léčiv). Pomocí přesné automatické pipety bylo ke vzorkům ve vialkách pipetováno 5  $\mu$ l roztoku (Mix all 200 PPCP). Vialky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru. K analýze připravených vzorků byla využita kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC – MS/MS).



Obrázek 3: Vialky k analýze (zdroj vlastní)

#### 4.1.2 Extrakce biomasy

Do plastových centrifugačních zkumavek byl navážen 0,1 g vzorku. Dvě zkumavky byly bez naváženého vzorku, tzv. blanky (slepé vzorky). Do všech zkumavek bylo napipetováno 5 ml extrakčního roztoku MeOH: MilliQ (0,5% FA, 0,5 g/l EDTA v poměru 1:1). Zkumavky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru značky Vortex. Promíchané zkumavky se vzorky byly včetně držáku na vzorky umístěny do ultrazvukové lázně při 50 °C po dobu 15 minut. Následně byly osušené vzorky dány na 30 minut do třepačky. Po třepání byly vloženy na 10 minut do centrifugy při rychlosti RPM 4500 otáček za minutu a 20°C.

Po odstředění bylo zapotřebí čistou tekutinu (supernatant) přelit do předem připravených a označených nových zkumavek. Zkumavky s výsledným supernatantem byly uzavřeny a ponechány stranou. Celý dosavadní proces byl proveden se zkumavkami se sedimentem znovu. Po centrifugaci byl supernatant 2 přelit k supernatantu 1 (5 + 5 ml).

Před tím, než byly provedeny další kroky, byl v centrifuze vyměněn nástavec na zkumavky za nástavec na eppendorfové zkumavky. V centrifuze byla teplota temperována cca hodinu a půl na teploty v rozmezí 0-6°C. Eppendorfky byly očíslovány ke každému vzorku po dvou, včetně blanků a umístěny do stojanu. Do eppendorfek byl pipetován 1 ml supernatantu. Po pipetování tedy vznikly od každého vzorku 2 ml. Následně bylo do všech zkumavek pipetováno 100µl roztoku SSA (4,85 g kyseliny sulfosalicylové + 10 ml MilliQ). Dále byly vzorky promíchány na vortexu a vloženy na 10 minut do ledu. Zkumavky byly po osušení vloženy do centrifugy na 10 minut na maximální rychlost otáček za minutu (RPM 14000). Během centrifugace byly očíslovány skleněné vialky a vloženy do stojanu. Po centrifugaci byly vzorky přesunuty opět do ledu. Eppendorfky stejného čísla byly přefiltrovány do nových eppendorfek. Blanky přímo do připravených vialek. Cílem bylo převést a přefiltrovat roztok po centrifugaci do eppendorfek bez sedimentu na dně zkumavky (protein). Do vialek označených pouze číslem bylo pipetováno 995 µl obsahu eppendorfek. Zbytek byl pipetován

do vialek značených číslem a písmenem A. V posledním kroku bylo již pracováno pouze s vialkami značených A (after spike: vialky, ke kterým byla přidána směs léčiv). Pomocí přesné automatické pipety bylo ke vzorkům ve vialkách pipetováno 5 µl roztoku (Mix all 200 PPCP). Vialky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru. K analýze připravených vzorků byla využita kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC – MS/MS).

#### 4.1.3 Extrakce čistírenského kalu

Do plastových centrifugačních zkumavek byl navážen 0,1 g vzorku. Dvě zkumavky byly bez naváženého vzorku, tzv. blanky (slepé vzorky). Do všech zkumavek bylo napipetováno 6 ml extrakčního roztoku (MeOH: MilliQ (0,5% FA; 0,1% Na<sub>2</sub>EDTA) v poměru 1:1). Zkumavky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru značky Vortex. Promíchané zkumavky se vzorky byly včetně držáku na vzorky umístěny do ultrazvukové lázně při 50 °C po dobu 15 minut. Následně byly osušené vzorky dány na 30 minut do třepačky. Po třepání byly vloženy na 10 minut do centrifugy při rychlosti RPM 13000 otáček za minutu a 20°C.

Po odstředění bylo zapotřebí čistou tekutinu (supernatant) přelit do předem připravených a označených nových zkumavek. Zkumavky s výsledným supernatantem byly uzavřeny a ponechány stranou. Celý dosavadní proces byl proveden se zkumavkami se sedimentem znovu. Po centrifugaci byl supernatant 2 přelit k supernatantu 1 (6 + 6 ml).

Před tím, než byly provedeny další kroky, byl v centrifuze vyměněn nástavec na zkumavky za nástavec na eppendorfové zkumavky. V centrifuze byla teplota temperována cca hodinu a půl na teploty v rozmezí 0-6°C. Eppendorfky byly očíslovány ke každému vzorku po dvou, včetně blanků a umístěny do stojanu. Do eppendorfek byl pipetován 1 ml supernatantu. Po pipetování tedy vznikly od každého vzorku 2 ml. Následně bylo do všech zkumavek pipetováno 200µl roztoku SSA (450 mg/ml v MilliQ). Dále byly vzorky promíchány na vortexu a vloženy na 10 minut do ledu. Zkumavky byly po osušení vloženy do centrifugy na 10 minut na 16000 otáček za minutu (RPM 16000). Během centrifugace byly očíslovány skleněné vialky a vloženy do stojanu. Po centrifugaci byly vzorky přesunuty opět do ledu. Eppendorfky stejného čísla byly přefiltrovány do nových eppendorfek. Blanky přímo do připravených vialek. Cílem bylo převést a přefiltrovat roztok po centrifugaci do eppendorfek bez sedimentu na dně zkumavky (protein). Do vialek označených pouze číslem bylo pipetováno 995 µl obsahu eppendorfek. Zbytek byl pipetován do vialek značených číslem a písmenem A. V posledním kroku bylo již pracováno pouze s vialkami značených A (after spike: vialky, ke kterým byla přidána směs léčiv). Pomocí přesné automatické pipety bylo ke vzorkům ve vialkách pipetováno 5 µl roztoku (Mix all 200 PPCP). Vialky byly uzavřeny a promíchány na vírovém mixéru. K analýze připravených vzorků byla využita kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC – MS/MS).



## 4.2 Statistické zhodnocení dat

Výsledky byly interpretovány pomocí grafů znázorňující koncentraci studovaných léčiv v časech odběrů a doprovodných výpočtů. Podíl odstraněných léčiv byl proveden výpočtem, který byl získán podílem součtu množství půdy v suché hmotnosti a aplikační dávky na nádobu. Výsledek byl následně přepočítán na procenta. Odběr biomasou byl zjištěn součinem výnosu biomasy a koncentrace léčiv v biomase.

Dále byla data statisticky vyhodnocena k porovnání, jakým způsobem se liší v konkrétních časech. Byl použit Tukeyův test, který byl aplikován na data půdy, vždy ve variantě bez rostlin kukuřice a s rostlinou kukuřice pro všechny sledované varianty. Porovnávala se varianta bez houbového substrátu (půda + kal) a s houbovými substrátem (půda + kal + *Pleurotus*, *Phanerochaete*, *Irpex*).

Následně byla data analyzována pomocí ANOVY při opakovaných měřeních. Cílem této analýzy bylo zhodnotit, jaký faktor (rostlina, houba, čas) ovlivnil míru koncentrace léčiva ve vzorcích půdy. Hodnota P udává míru průkaznosti ovlivnění rostlinou/houbou.

## 5 Výsledky

Čas					
Varianta	T1	T2	T3	T4	T5
2: Kontrolní bez rostliny	4,22	3,9	4,12	3,74	4,18
6: Pleurotus	5,42	5,3	5,77	5,03	5,4
7: Phanerochaete	5,44	5,07	5,89	5,44	5,42
8: Irpex	4,93	4,77	5,96	5,56	5,52
10: Kontrolní s rostlinou	4,15	5,04	5,5	5,39	5,85
14: Pleurotus	5,96	5,41	5,71	5,18	6,07
15: Phanerochaete	6,2	5,92	5,76	5,5	6,14
16: Irpex	5,22	5,71	5,66	5,2	5,4

Tabulka 7: Průměrné naměřené hodnoty pH půdního roztoku v různých časech

### 5.1 Čistírenský kal

Léčivo	ng/g sušiny
Karbamazepin	26,7 ± 0,14
Venlafaxin	54,4 ± 1,69
Tramadol	18,4 ± 2,71
Sulpirid	25,8 ± 0,58
Fluoxetin	16,8 ± 1,19

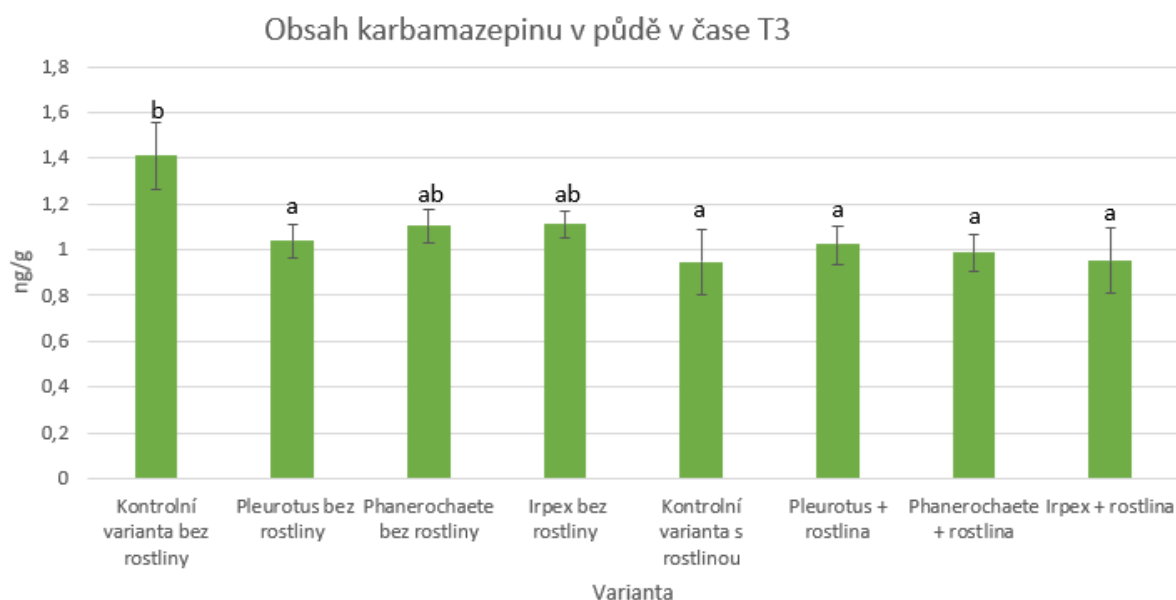
Tabulka 8: Obsahy léčiv v aplikovaném kalu

Nejvyšší zastoupení léčiv v čistírenském kalu bylo v případě venlafaxinu, nejnižší naopak u fluoxetinu.

## 5.2 Půda

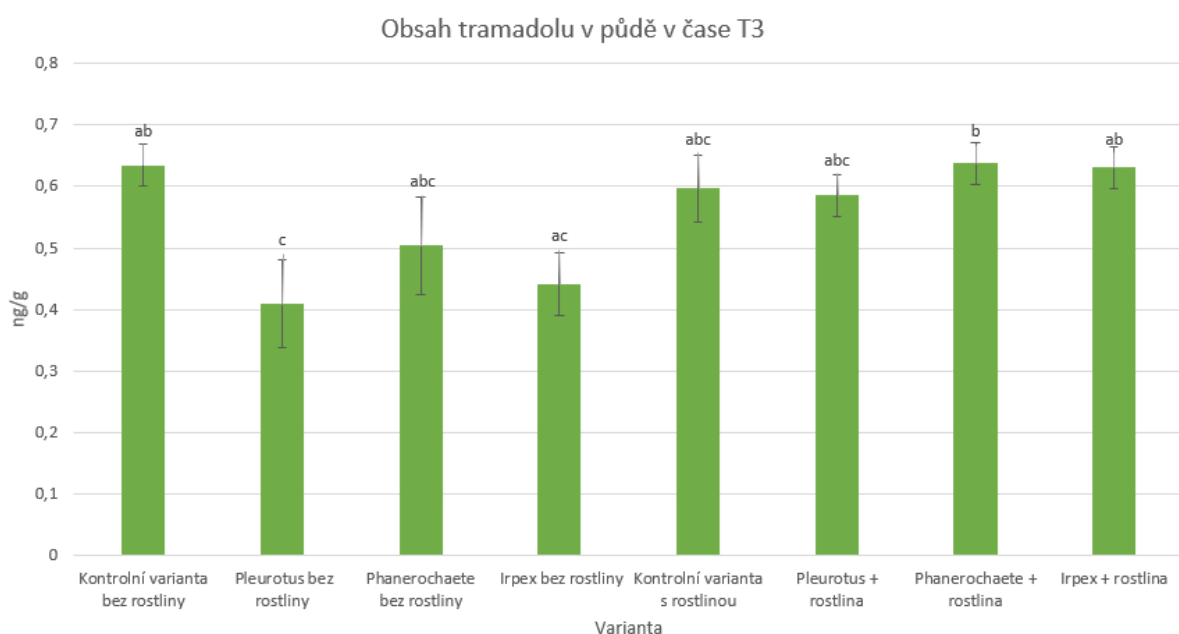
### 5.2.1 Obsah léčiv v půdě

Následující grafy obsahů léčiv ukazují množství léčiva v půdě v posledním měřeném čase (T3). V grafu jsou znázorněné směrodatné odchylky formou chybových úseček.



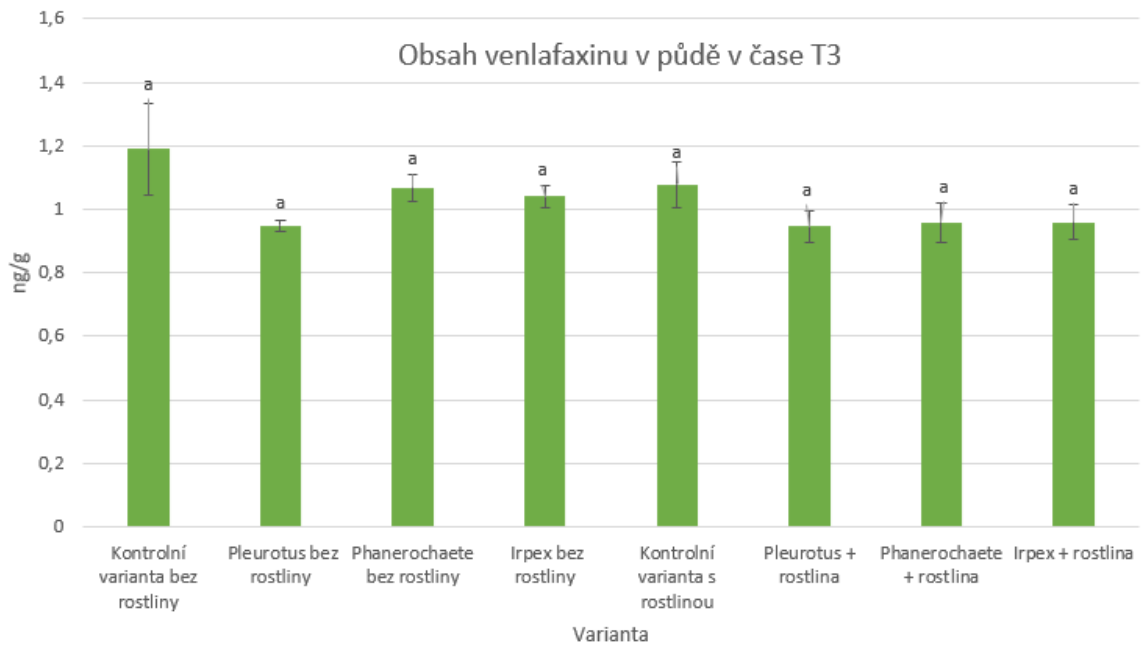
Graf 3: Obsah karbamazepinu v půdě po sklizni (v čase T3)

Nejvyšší obsahy karbamazepinu byly zjištěny u kontrolní varianty bez rostliny. Tato varianta si byla výsledky podobná jen s variantou *Phanerochaete* a *Irpex* bez rostliny kukuřice. Mezi zbylými variantami nebyl statisticky významný rozdíl.



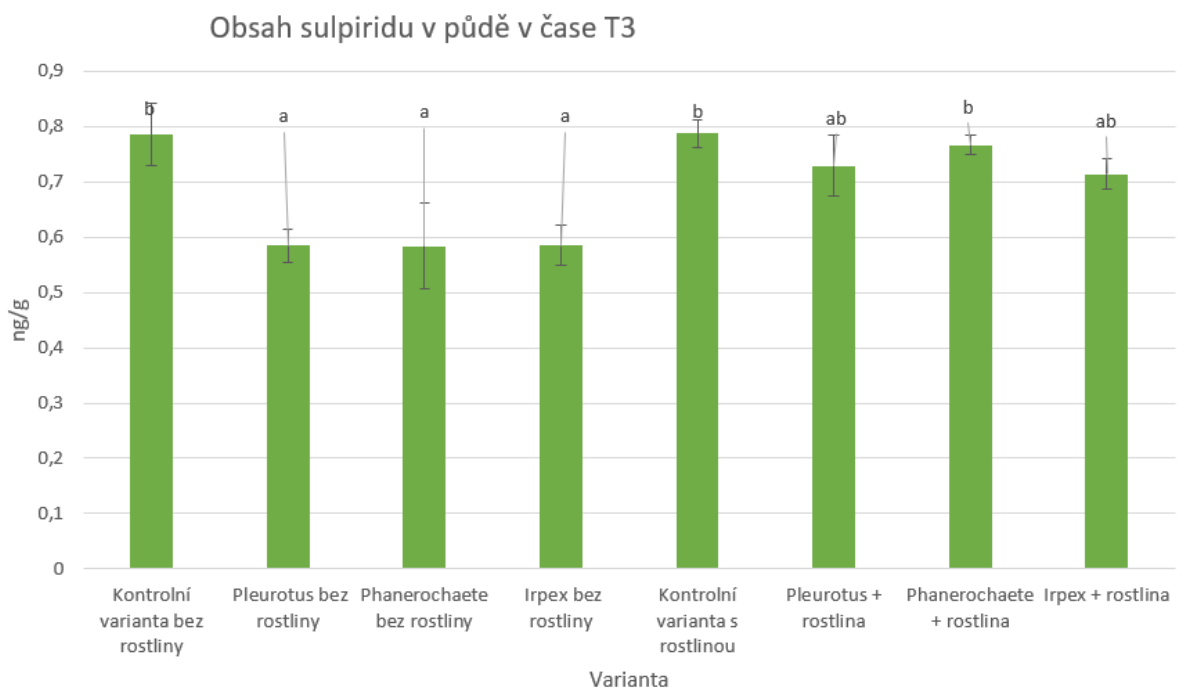
Graf 4: Obsah tramadolu v půdě v čase T3

U tramadolu jsou výsledky dat různorodější. Nejvyšší zastoupení léčiva je u varianty *Phanerochaete* s rostlinou kukuřice. Nejnížší obsahy tramadolu byly naměřené u varianty *Pleurotus* bez rostliny.



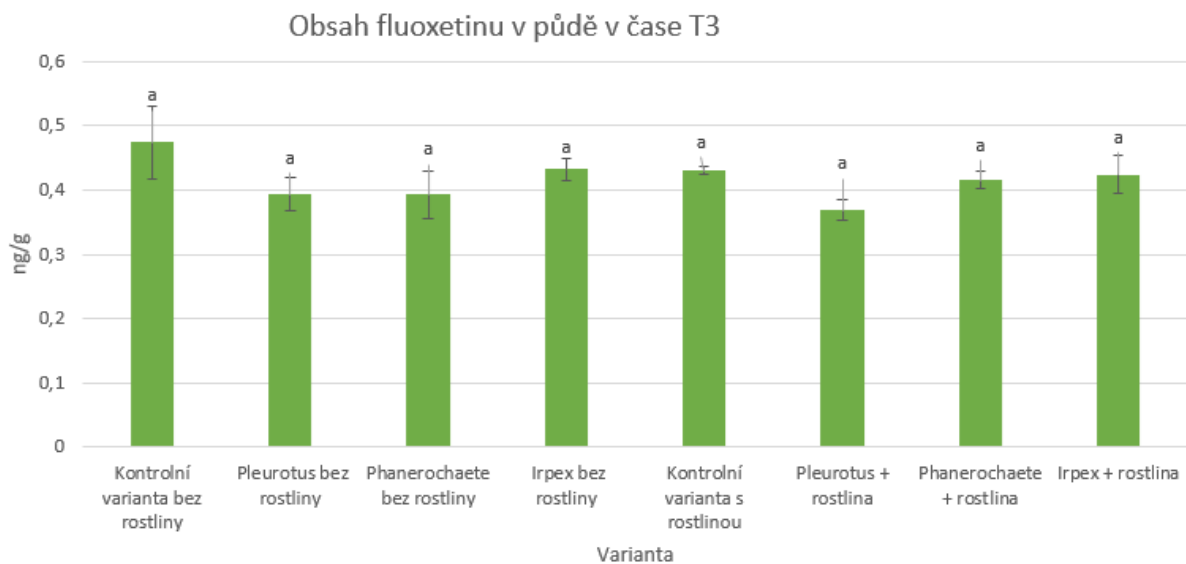
Graf 5: Obsah venlafaxinu v půdě v čase T3

V případě obsahů venlafaxinu v uvedených variantách není statisticky významný rozdíl.



Graf 6: Obsah sulphiru v půdě v čase T3

Nejvyšší obsahy sulpiridu jsou u varianty kontrolní s rostlinou kukuřice. U varianty bez rostliny kukuřice se výsledky statisticky liší pouze u kontrolní varianty. U varianty s rostlinou kukuřice jsou hodnoty statisticky bez významného rozdílu.



Graf 7: Obsah fluoxetinu v půdě v čase T3

Z grafu 7 je patrné, že obsahy fluoxetinu v jednotlivých variantách nejsou statisticky rozdílné.

## 5.2.2 Zhodnocení dat pomocí vícefaktorové ANOVY

Použití vícefaktorové ANOVY při opakovaných měřeních za účelem získání výsledků, zda rostlina kukuřice/houba podpořila degradaci mikropolutantů v půdě. V analýze byl brán ohled na tři faktory a těmi jsou houba, rostlina a čas. Hodnota P zde ukazuje míru průkaznosti ovlivnění daným faktorem.

ANOVA při opakovaných měřeních (karbamazepin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	63,18968	1	63,18968	4044,636	0,000000
rostlina	0,00358	1	0,00358	0,229	0,640634
houba	0,06032	1	0,06032	3,861	0,073002
rostlina*houba	0,02701	1	0,02701	1,729	0,213153
Chyba	0,18748	12	0,01562		
T	0,05926	2	0,02963	0,859	0,436331
T*rostlina	0,30574	2	0,15287	4,430	0,023044
T*houba	0,08341	2	0,04171	1,209	0,316153
T*rostlina*houba	0,21098	2	0,10549	3,057	0,065663
Chyba	0,82821	24	0,03451		

Obrázek 4: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Pleurotus*)

ANOVA při opakovaných měřeních (karbamazepin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	65,05765	1	65,05765	2348,025	0,000000
Rostlina	0,02226	1	0,02226	0,803	0,387742
Houba	0,01663	1	0,01663	0,600	0,453483
Rostlina*Houba	0,00563	1	0,00563	0,203	0,660298
Chyba	0,33249	12	0,02771		
T	0,10348	2	0,05174	1,742	0,196530
T*Rostlina	0,45612	2	0,22806	7,680	0,002642
T*Houba	0,12912	2	0,06456	2,174	0,135600
T*Rostlina*Houba	0,11144	2	0,05572	1,876	0,174927
Chyba	0,71269	24	0,02970		

Obrázek 5: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Irpex*)

ANOVA při opakovaných měřeních (Karbamazepin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	62,63489	1	62,63489	4772,666	0,000000
rostlina	0,05900	1	0,05900	4,496	0,055509
houba	0,07872	1	0,07872	5,998	0,030640
rostlina*houba	0,00035	1	0,00035	0,027	0,873053
Chyba	0,15748	12	0,01312		
T	0,05397	2	0,02698	1,428	0,259536
T*rostlina	0,30574	2	0,15287	8,088	0,002065
T*houba	0,09040	2	0,04520	2,392	0,112953
T*rostlina*houba	0,20885	2	0,10442	5,525	0,010626
Chyba	0,45363	24	0,01890		

Obrázek 6: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Phanerochaete*)

V případě houby *Pleurotus* a *Irpex* ovlivnila koncentrace karbamazepinu pouze rostlina kukuřice s ohledem na časové hledisko. Analýza prokázala ovlivnění koncentrací karbamazepinu houbou *Phanerochaete*. Rostlina při zanedbání časového hlediska zde nemá vliv. V opačném případě došlo k ovlivnění jak houbou *Phanerochaete*, tak rostlinou.

ANOVA při opakovaných měřeních (Tramadol)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	16,93285	1	16,93285	1660,476	0,000000
rostlina	0,16346	1	0,16346	16,029	0,001750
houba	0,06533	1	0,06533	6,406	0,026370
rostlina*houba	0,01366	1	0,01366	1,339	0,269666
Chyba	0,12237	12	0,01020		
T	0,04223	2	0,02112	4,425	0,023130
T*rostlina	0,02613	2	0,01306	2,737	0,084952
T*houba	0,02052	2	0,01026	2,150	0,138363
T*rostlina*houba	0,03318	2	0,01659	3,476	0,047222
Chyba	0,11454	24	0,00477		

Obrázek 7: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Pleurotus*)

ANOVA při opakovaných měřeních (Tramadol)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	17,55090	1	17,55090	1990,567	0,000000
Rostlina	0,22449	1	0,22449	25,461	0,000286
Houba	0,03282	1	0,03282	3,722	0,077668
Rostlina*Houba	0,03474	1	0,03474	3,940	0,070503
Chyba	0,10580	12	0,00882		
T	0,02902	2	0,01451	3,136	0,061689
T*Rostlina	0,02938	2	0,01469	3,174	0,059843
T*Houba	0,01331	2	0,00665	1,437	0,257266
T*Rostlina*Houba	0,02158	2	0,01079	2,332	0,118742
Chyba	0,11108	24	0,00463		

Obrázek 8: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Irpex*)

ANOVA při opakovaných měřeních (Tramadol)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	18,32910	1	18,32910	3298,403	0,000000
rostlina	0,10706	1	0,10706	19,265	0,000882
houba	0,00797	1	0,00797	1,435	0,254089
rostlina*houba	0,00158	1	0,00158	0,285	0,603472
Chyba	0,06668	12	0,00556		
T	0,04567	2	0,02283	5,682	0,009544
T*rostlina	0,02392	2	0,01196	2,977	0,070011
T*houba	0,03285	2	0,01642	4,087	0,029671
T*rostlina*houba	0,03416	2	0,01708	4,250	0,026297
Chyba	0,09644	24	0,00402		

Obrázek 9: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Phanerochaete*)

U houby *Pleurotus* došlo k ovlivnění obsahu tramadolu vlivem houby i rostliny. U *Irpexu* nebyl vliv prokázán. Vliv na obsah léčiva měla pouze rostlina při zanedbání času. U

*Phanerochaete* bez ohledu na čas nedošlo k ovlivnění houbou, ale pouze rostlinou. Při zohlednění času došlo k ovlivnění houbou i rostlinou.

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Venlafaxin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	43,76042	1	43,76042	1462,739	0,000000
rostlina	0,00017	1	0,00017	0,006	0,941864
houba	0,04096	1	0,04096	1,369	0,264689
rostlina*houba	0,00030	1	0,00030	0,010	0,921766
Chyba	0,35900	12	0,02992		
T	0,18582	2	0,09291	10,166	0,000634
T*rostlina	0,01718	2	0,00859	0,940	0,404550
T*houba	0,10522	2	0,05261	5,757	0,009075
T*rostlina*houba	0,03706	2	0,01853	2,027	0,153610
Chyba	0,21933	24	0,00914		

Obrázek 10: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Pleurotus*)

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Venlafaxin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	45,45443	1	45,45443	4331,128	0,000000
Houba	0,00571	1	0,00571	0,544	0,474976
Rostlina	0,01455	1	0,01455	1,386	0,261834
Houba*Rostlina	0,00817	1	0,00817	0,779	0,394894
Chyba	0,12594	12	0,01049		
T	0,22156	2	0,11078	9,832	0,000760
T*Houba	0,08568	2	0,04284	3,802	0,036774
T*Rostlina	0,02463	2	0,01231	1,093	0,351321
T*Houba*Rostlina	0,04048	2	0,02024	1,796	0,187493
Chyba	0,27041	24	0,01127		

Obrázek 11: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Irpex*)

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Venlafaxin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	46,30304	1	46,30304	3623,485	0,000000
rostlina	0,03359	1	0,03359	2,628	0,130929
houba	0,00017	1	0,00017	0,013	0,910953
rostlina*houba	0,02342	1	0,02342	1,833	0,200738
Chyba	0,15334	12	0,01278		
T	0,20350	2	0,10175	9,050	0,001178
T*rostlina	0,02868	2	0,01434	1,276	0,297500
T*houba	0,08413	2	0,04206	3,741	0,038519
T*rostlina*houba	0,06507	2	0,03253	2,894	0,074841
Chyba	0,26983	24	0,01124		

Obrázek 12: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Phanerochaete*)

V tomto případě došlo k ovlivnění koncentrací venlafaxinu pouze v případě houbových substrátů a zohlednění času.



ANOVA při opakovaných měřeních (Sulpirid)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	24,63351	1	24,63351	2517,996	0,000000
rostlina	0,15428	1	0,15428	15,770	0,001856
houba	0,05398	1	0,05398	5,517	0,036786
rostlina*houba	0,00854	1	0,00854	0,873	0,368620
Chyba	0,11740	12	0,00978		
T	0,00128	2	0,00064	0,130	0,878816
T*rostlina	0,01499	2	0,00750	1,517	0,239747
T*houba	0,03004	2	0,01502	3,040	0,066580
T*rostlina*houba	0,04718	2	0,02359	4,774	0,017975
Chyba	0,11861	24	0,00494		

Obrázek 13: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Pleurotus*)

ANOVA při opakovaných měřeních (Sulpirid)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	24,64890	1	24,64890	4031,149	0,000000
Rostlina	0,14098	1	0,14098	23,056	0,000432
Houba	0,05326	1	0,05326	8,710	0,012116
Rostlina*Houba	0,00564	1	0,00564	0,922	0,355827
Chyba	0,07338	12	0,00611		
T	0,00720	2	0,00360	0,792	0,464538
T*Rostlina	0,01133	2	0,00566	1,245	0,305864
T*Houba	0,03475	2	0,01738	3,820	0,036274
T*Rostlina*Houba	0,01755	2	0,00878	1,930	0,167062
Chyba	0,10916	24	0,00455		

Obrázek 14: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Irpex*)

ANOVA při opakovaných měřeních (Sulpirid)					
Sigma-omezená parametrizace					
Dekompozice efektivní hypotézy					
Efekt	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	25,40510	1	25,40510	5341,153	0,000000
rostlina	0,08254	1	0,08254	17,354	0,001309
houba	0,02409	1	0,02409	5,064	0,043976
rostlina*houba	0,00017	1	0,00017	0,036	0,852787
Chyba	0,05708	12	0,00476		
T	0,01095	2	0,00547	1,614	0,219958
T*rostlina	0,00276	2	0,00138	0,406	0,670626
T*houba	0,02888	2	0,01444	4,258	0,026134
T*rostlina*houba	0,08008	2	0,04004	11,807	0,000269
Chyba	0,08139	24	0,00339		

Obrázek 15: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Phanerochaete*)

Na průkaznost ovlivnění koncentrací sulpiridu měla vliv houba i rostlina.

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Fluoxetin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	7,490939	1	7,490939	2157,720	0,000000
rostlina	0,002294	1	0,002294	0,661	0,432073
houba	0,008595	1	0,008595	2,476	0,141602
rostlina*houba	0,002123	1	0,002123	0,611	0,449400
Chyba	0,041660	12	0,003472		
T	0,011732	2	0,005866	1,631	0,216629
T*rostlina	0,017884	2	0,008942	2,487	0,104364
T*houba	0,011774	2	0,005887	1,637	0,215515
T*rostlina*houba	0,007358	2	0,003679	1,023	0,374637
Chyba	0,086302	24	0,003596		

Obrázek 16: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Pleurotus*)

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Fluoxetin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	7,796864	1	7,796864	2626,107	0,000000
Rostlina	0,000006	1	0,000006	0,002	0,965633
Houba	0,001397	1	0,001397	0,471	0,505747
Rostlina*Houba	0,008386	1	0,008386	2,825	0,118650
Chyba	0,035628	12	0,002969		
T	0,033745	2	0,016873	6,581	0,005263
T*Rostlina	0,004458	2	0,002229	0,869	0,431975
T*Houba	0,001818	2	0,000909	0,355	0,705084
T*Rostlina*Houba	0,011712	2	0,005856	2,284	0,123568
Chyba	0,061528	24	0,002564		

Obrázek 17: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Irpex*)

Efekt	ANOVA při opakovaných měřeních (Fluoxetin) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SC	Stupně volnosti	PC	F	p
Abs. člen	7,772304	1	7,772304	3690,188	0,000000
rostlina	0,002027	1	0,002027	0,962	0,345971
houba	0,001746	1	0,001746	0,829	0,380542
rostlina*houba	0,002396	1	0,002396	1,138	0,307107
Chyba	0,025274	12	0,002106		
T	0,020562	2	0,010281	4,252	0,026253
T*rostlina	0,007001	2	0,003500	1,448	0,254904
T*houba	0,011511	2	0,005755	2,381	0,113992
T*rostlina*houba	0,017409	2	0,008704	3,600	0,042914
Chyba	0,058025	24	0,002418		

Obrázek 18: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Phanerochaete*)

U fluoxetinu nebylo průkaznost ovlivnění houbou *Phanerochaete* a rostlinou samostatně prokázána. K ovlivnění obsahů došlo pouze v kombinaci houby *Phanerochaete*, rostliny a času. U houby *Pleurotus* a *Irpex* nebyl prokázán vliv na koncentrace fluoxetinu v půdě.

### 5.3 Podíl odstraněných léčiv

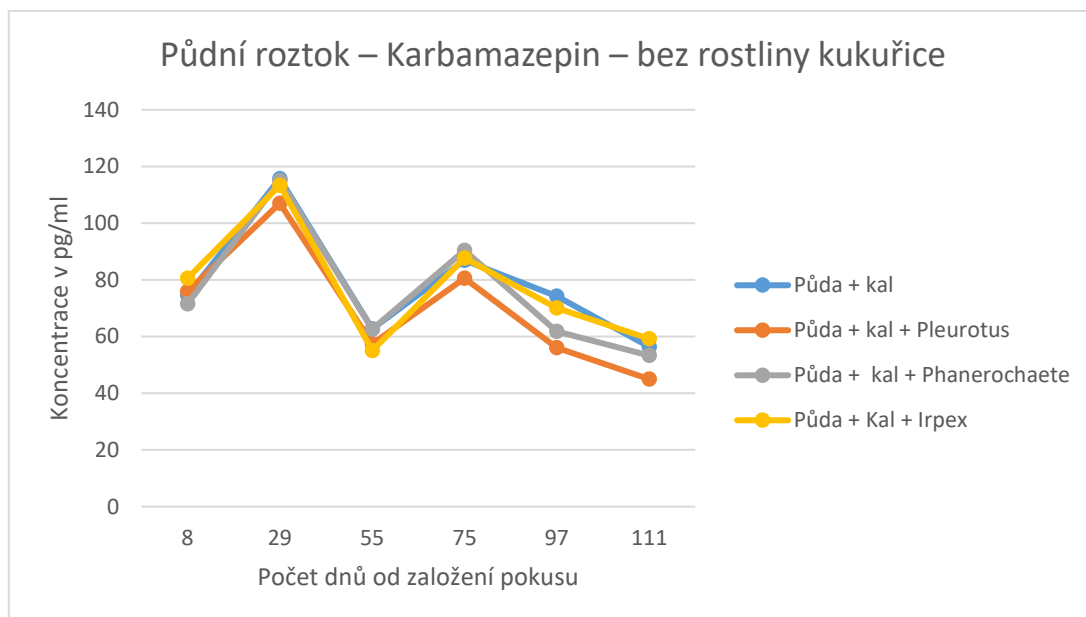
	Množství léčiv v ng aplikované do nádoby	Podíl zbylých léčiv v půdě v %	Podíl odstraněných léčiv z půdy v %
Karbamazepin	6327,9	67	33
Venlafaxin	12892,8	33	67
Tramadol	4360,8	97	3
Sulpirid	6114,6	69	31
Fluoxetin	3981,6	106	-6

Tabulka 9: Průměrný souhrnný podíl odstraněných léčiv z půdy v %

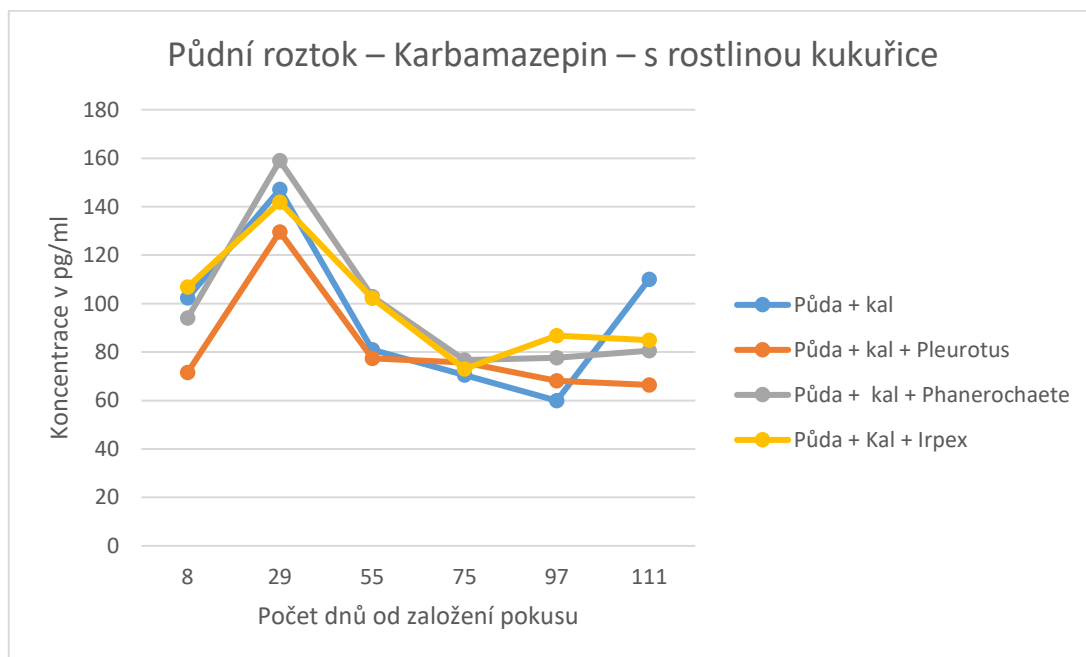
Aplikovalo se 1 kg čerstvého kalu na nádobu. Kal měl sušinu 23,7 %

Z výpočtu je patrné, že nejvyšší podíl odstraněných léčiv z půdy byl v případě venlafaxinu. Taktéž jeho aplikační dávka byla nejvyšší. Naopak tramadol byl odstraněn jen minimálně a téměř veškeré množství tramadolu aplikované ve formě kaluzůstalo v půdě i po sklizni kukuřice. Fluoxetin nebyl odstraněn vůbec.

## 5.4 Půdní roztok

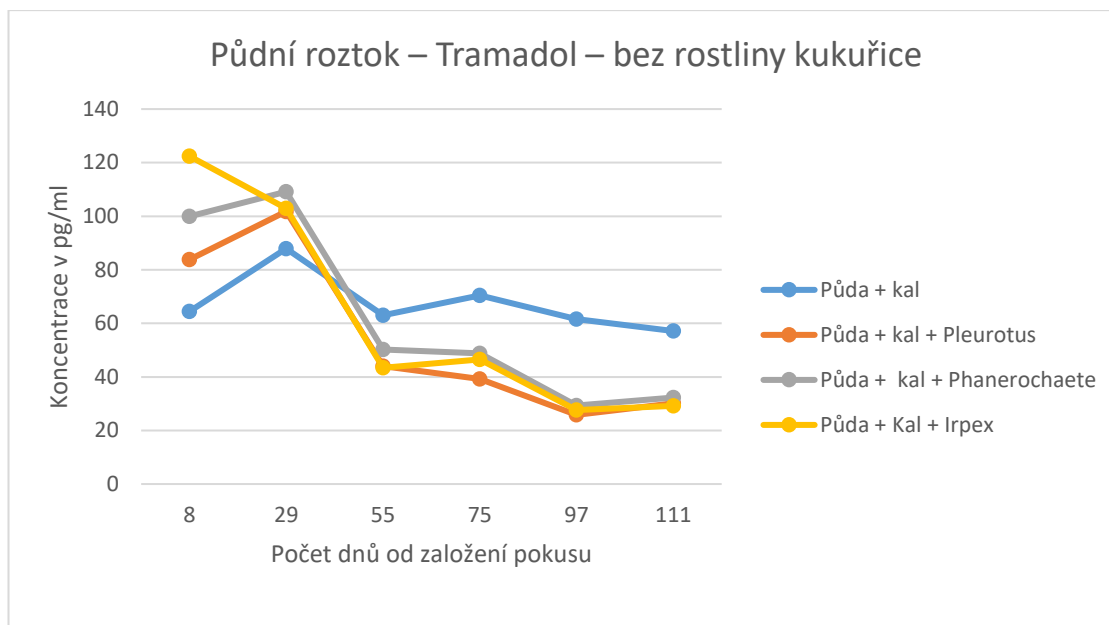


Graf 8: Koncentrace karbamazepinu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

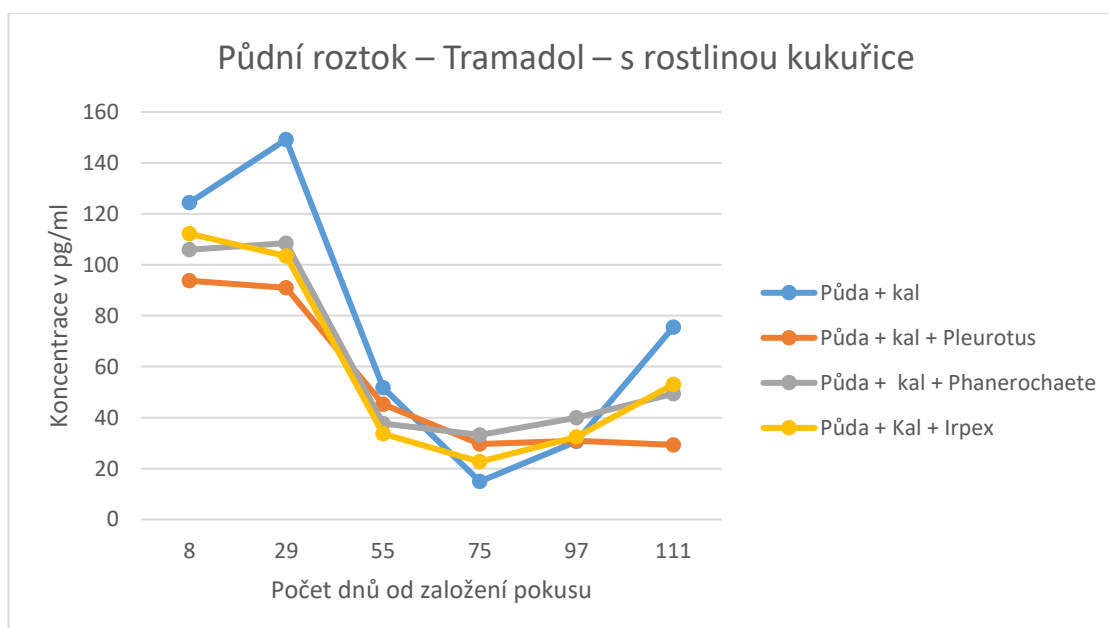


Graf 9: Koncentrace karbamazepinu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

V půdním roztoku došlo v případě karbamazepinu ke snížení koncentrací léčiva v posledním měřeném čase ve všech houbových variantách. Výjimka byla u varianty s kukuřicí s houbou *Phanerochaete*, kde došlo u T5 k mírnému zvýšení koncentrace karbamazepinu.

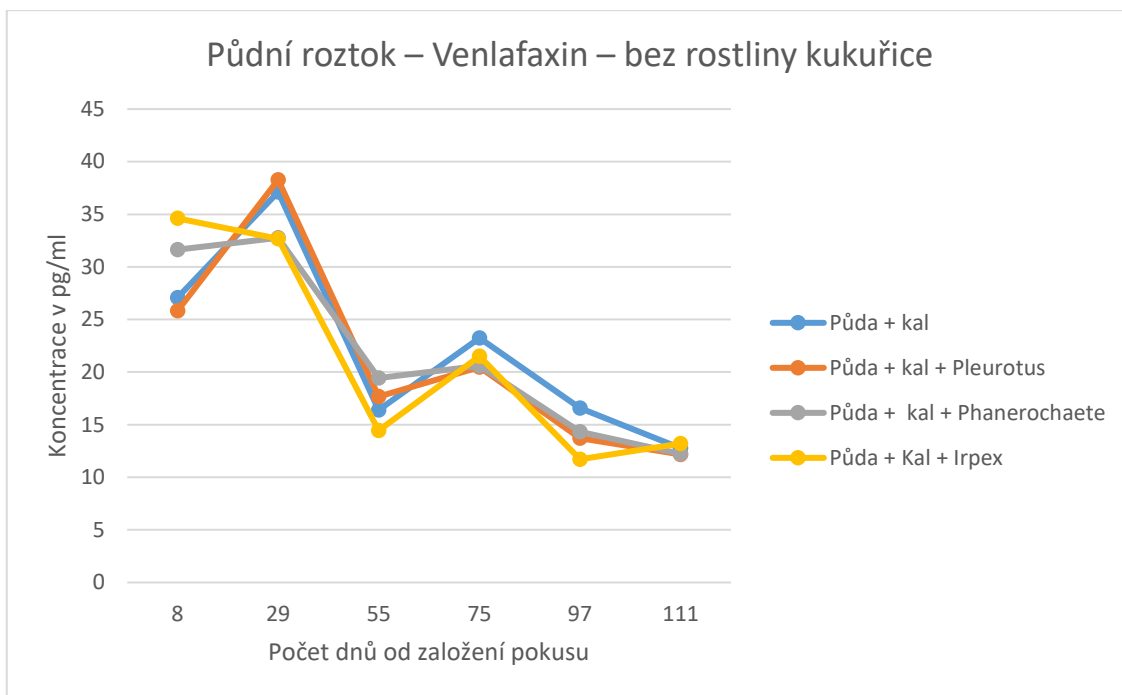


Graf 10: Koncentrace tramadolu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

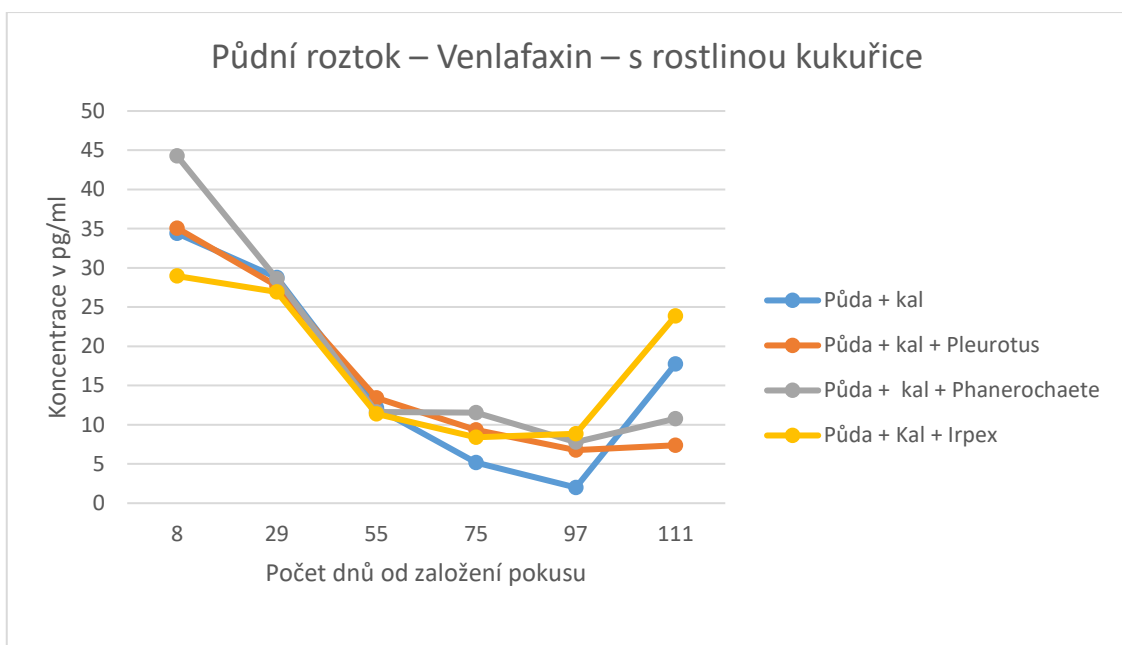


Graf 11: Koncentrace tramadolu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Koncentrace tramadolu v půdním roztoku se v případě nádobového pokusu bez rostliny kukuřice kolísavě stříдалy. V případě pěstování s rostlinou kukuřice hodnoty koncentrací zprvu výrazně poklesly, nakonec se mírně zvýšily.

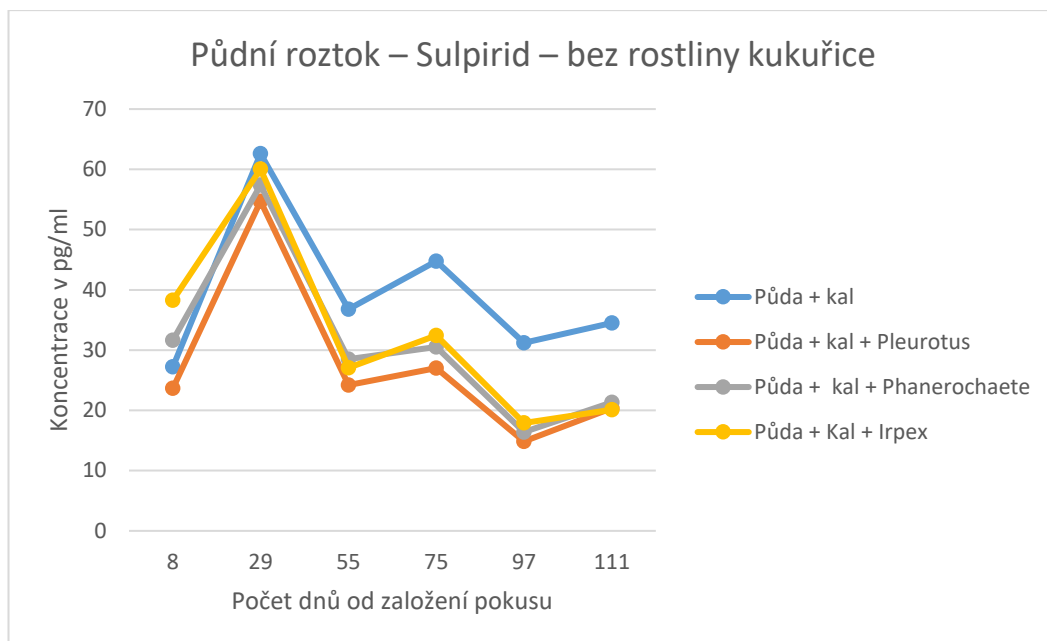


Graf 12: Koncentrace venlafaxinu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

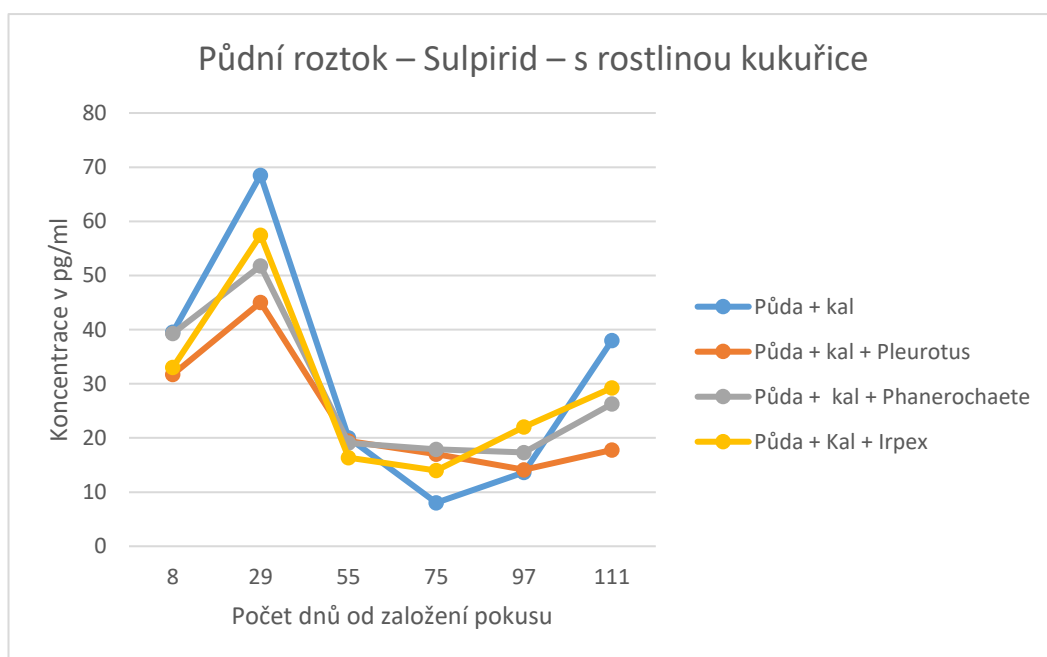


Graf 13: Koncentrace venlafaxinu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Venlafaxin v půdním roztoku měl v případě varianty bez rostliny kukuřice klesající trend. Koncentrace venlafaxinu v druhém případě nejprve poklesly a v čase T5 se začaly zvyšovat. Nejvyšší rozdíly zvýšení koncentrací byl zaznamenán u kontrolní varianty (půda + kal) a varianty s houbou Irpex.



Graf 14: Koncentrace sulpiridu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice



Graf 15: Koncentrace sulpiridu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Koncentrace sulpiridu v půdním roztoku byly v obou variantách zprvu vyšší s následným spádem. Pokles koncentrací pokračoval dále ve variantě s rostlinou kukuřice, bez rostliny kukuřice naopak. V čase T5 v obou variantách došlo ke zvýšení koncentrací sulpiridu.

V případě fluoxetinu byly koncentrace látky v půdním roztoku pod mezí detekce, <10 pg/ml.

## 5.5 Podíl přístupných léčiv v půdním roztoku

Cílem tohoto výpočtu je zhodnocení, jaká část mikropolutantů je po aplikaci kalu dostupná rostlinám. Do každé nádoby bylo aplikováno 237 g sušiny kalu, avšak v čerstvé podobě.

Výpočet aplikované dávky léčiv na nádobu (viz tabulka 10) byl získán součinem aplikační dávky sušiny kalu (237 g sušiny kalu) a obsahem léčiva v aplikovaném kalu v ng/g sušiny pro každou látku zvlášť.

Přístupný podíl (tabulka 11) byl vypočítán součinem průměrných koncentrací z půdního roztoku pro každou variantu zvlášť a číslem 1612 ml vody. Tím byl získán výsledek, kolik léčiva je přítomno v půdním roztoku. Tato hodnota byla dále vydělena aplikovanou dávkou léčiv na nádobu z tabulky 10 pro každé léčivo. Závěčná hodnota byla přepočtena na procenta.

Obsahy léčiv v aplikovaném kalu byly následující:

Karbamazepin: 26,7 ng/g sušiny

Venlafaxin: 54,4 ng/g sušiny

Tramadol: 18,4 ng/g sušiny

Sulpirid: 25,8 ng/g sušiny

Fluoxetin: 16,8 ng/g sušiny

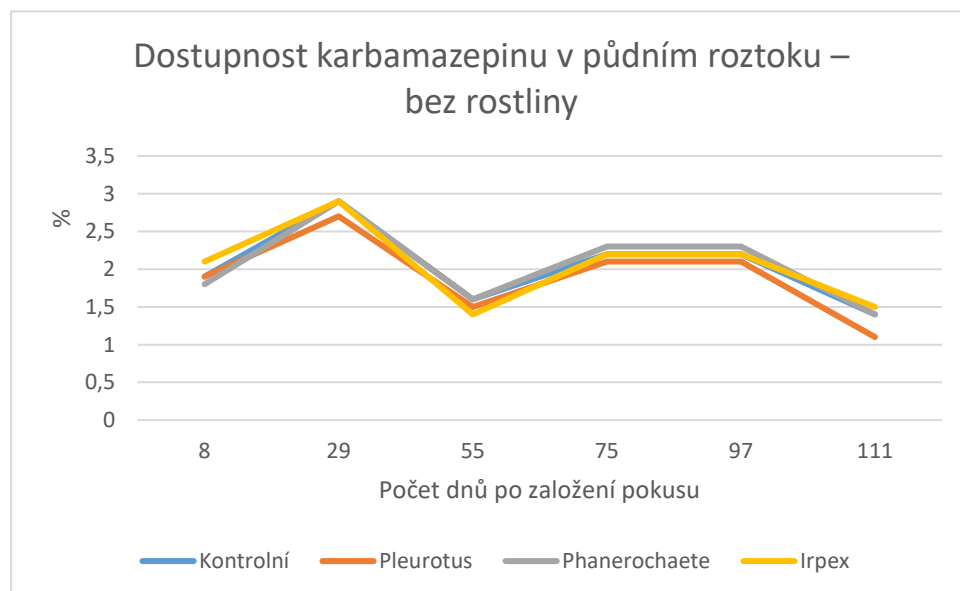
Karbamazepin	6327,9 ng/nádoba
Venlafaxin	12892,8 ng/nádoba
Tramadol	4360,8 ng/nádoba
Sulpirid	6114,6 ng/nádoba
Fluoxetin	3981,6 ng/nádoba

Tabulka 10: Aplikovaná dávka léčiv na nádobu (ng)

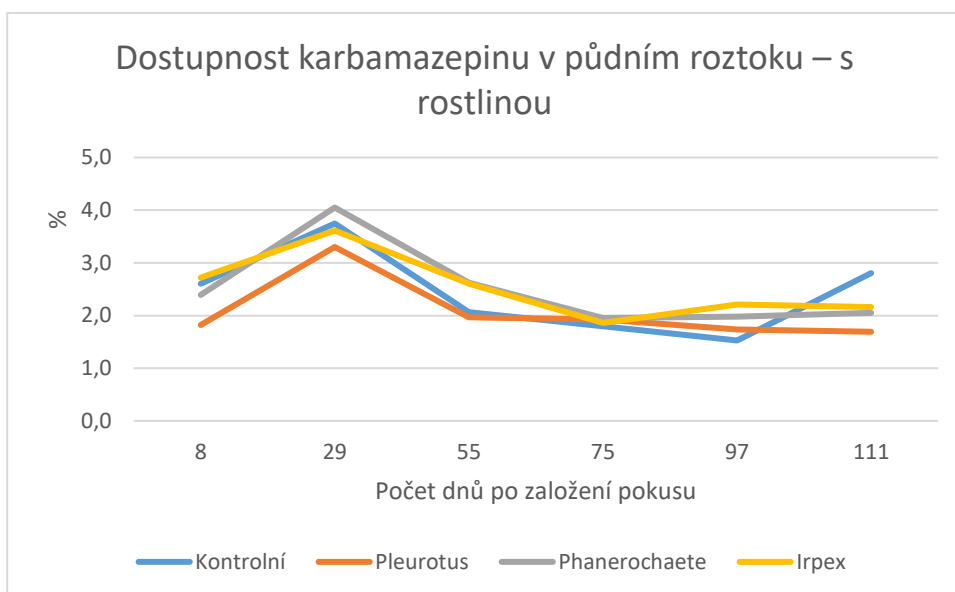


Léčivo a varianta	Karbamazepin (%)	Tramadol (%)	Venlafaxin (%)	Sulpirid (%)
Kontrolní bez rostliny	2,033	2,493	0,278	1,042
<i>Pleurotus</i> bez rostliny	1,900	2,001	0,267	0,724
<i>Phanerochaete</i> bez rostliny	2,050	2,278	0,273	0,816
<i>Irpex</i> bez rostliny	2,050	2,292	0,267	0,860
Kontrolní s rostlinou	2,423	2,750	0,209	0,825
<i>Pleurotus</i> s rostlinou	2,075	1,971	0,208	0,637
<i>Phanerochaete</i> s rostlinou	2,508	2,309	0,239	0,754
<i>Irpex</i> s rostlinou	2,529	2,202	0,226	0,756

Tabulka 11: Přehled hodnot přístupného podílu léčiv v procentech (průměr všech časů)

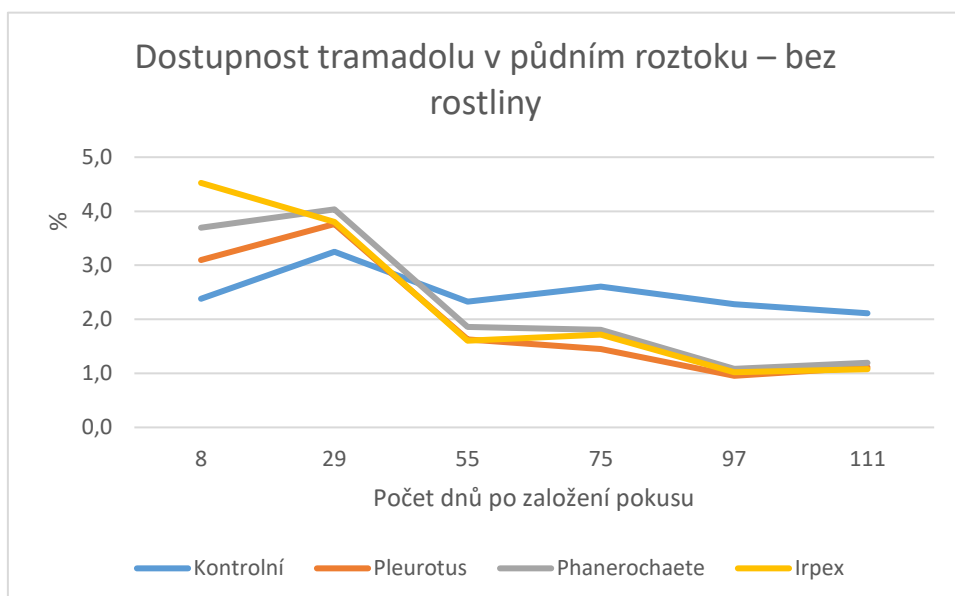


Graf 16: Dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku (bez rostliny)

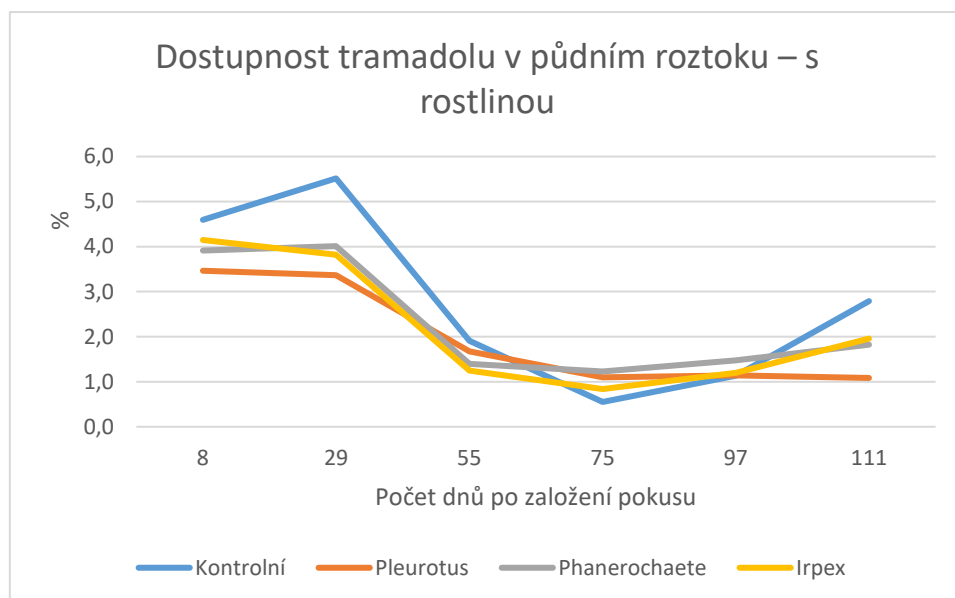


Graf 17: Dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku (s rostlinou)

Bylo prokázáno, že dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku ve variantě bez rostliny kukuřice s časem klesá. S rostlinou kukuřice dostupnost léčiva nepatrně vzrostla.

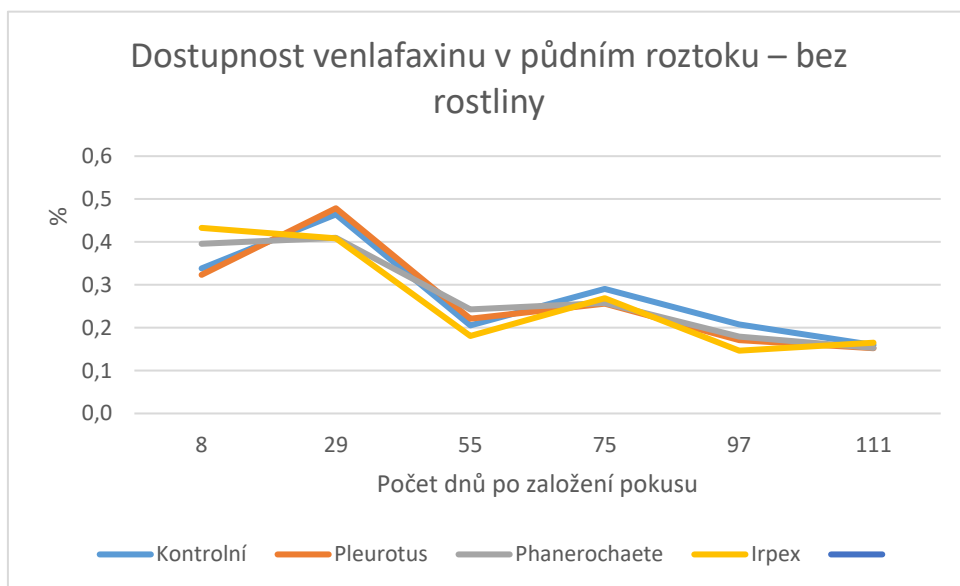


Graf 18: Dostupnost tramadolu v půdním roztoku (bez rostliny)

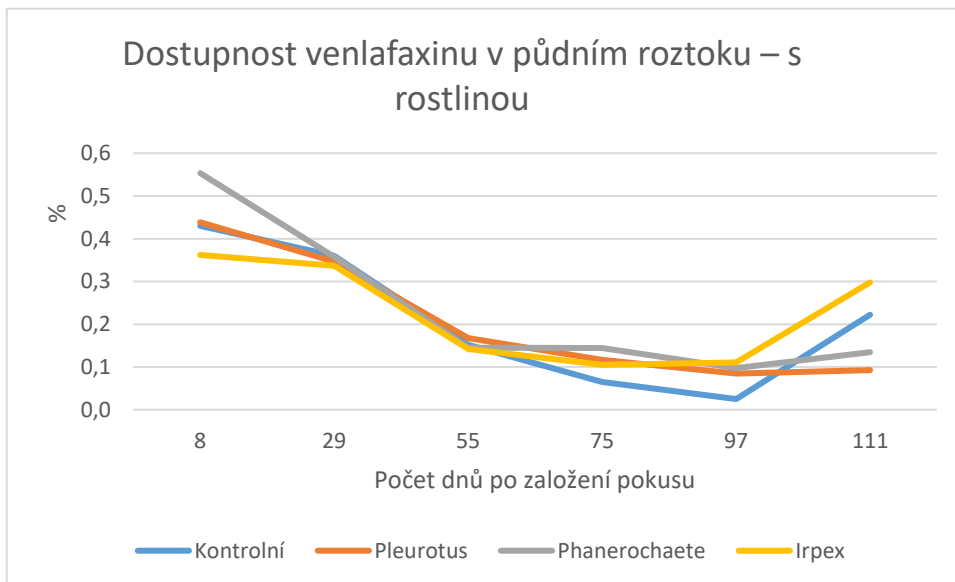


Graf 19: Dostupnost tramadolu v půdním roztoku (s rostlinou)

Dostupnost tramadolu z výsledného grafu ukazuje na podobný trend jako v případě karbamazepinu. Ve variantě bez rostliny kukuřice dostupnost látky postupem času klesá, v přítomnosti rostliny je tomu naopak.

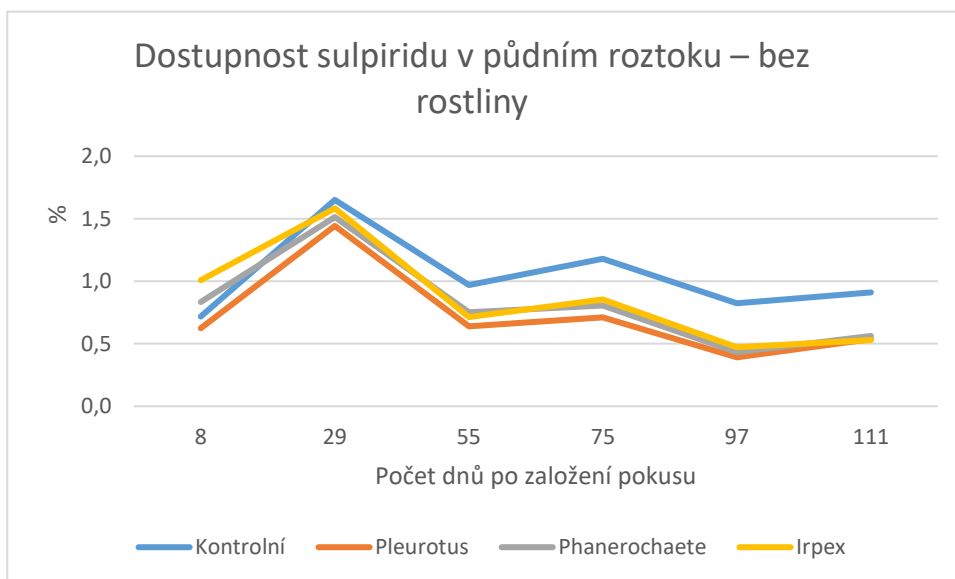


Graf 20: Dostupnost venlafaxinu v půdním roztoku (bez rostliny)

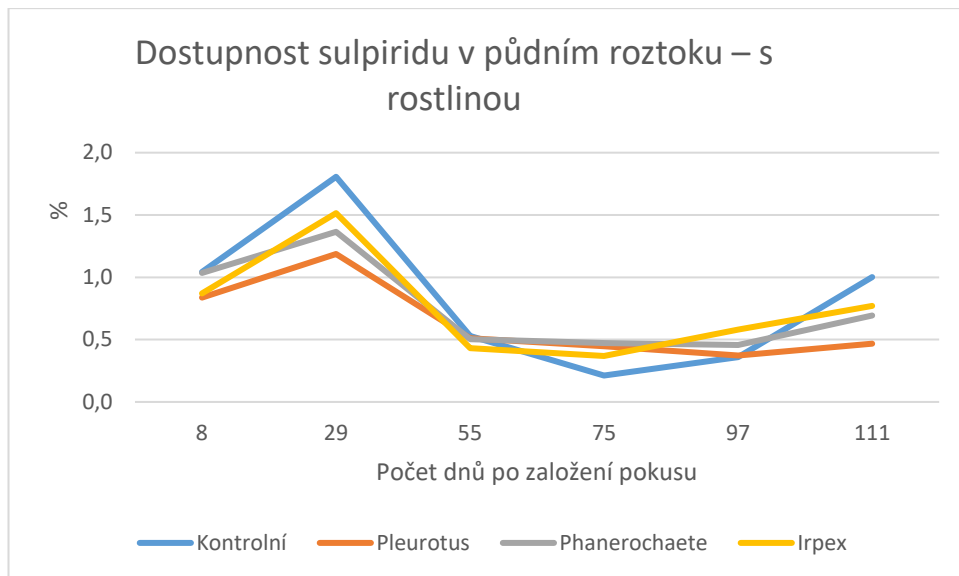


Graf 21: Dostupnost venlafaxinu v půdním roztoku (s rostlinou)

I v tomto případě je interpretace dat podobná s karbamazepinem a tramadolem.



Graf 22: Dostupnost sulpiridu v půdním roztoku (bez rostliny)



Graf 23: Dostupnost sulpiridu v půdním roztoku (s rostlinou)

Dostupnost sulpiridu v půdním roztoku se nepatrně zvyšuje v obou variantách.

V případě fluoxetinu nebylo možné zjistit dostupnost látky v půdním roztoku, neboť koncentrace látky byly pod mezí detekce (< 10 pg/ml)

## 5.6 Výnos biomasy rostlin

g sušiny na nádobu	Kořen	Stonek	List	Zrno
<b>Kontrolní</b>	70,318 ± 13,386 AB	90,105 ± 11,140 A	109,290 ± 9,591 B	76,335 ± 10,167 A
<b><i>Pleurotus</i></b>	48,403 ± 5,556 A	62,930 ± 10,587 B	90,055 ± 4,957 A	71,685 ± 13,369 A
<b><i>Phanerochaete</i></b>	66,858 ± 8,814 AB	87,970 ± 5,390 A	98,880 ± 6,236 AB	75,390 ± 9,589 A
<b><i>Irpex</i></b>	83,088 ± 9,543 B	81,900 ± 1,389 AB	99,983 ± 2,602 AB	71,180 ± 5,338 A
(g sušiny na nádobu)				
<b>Suma nadzemní biomasy pro kontrolní variantu A</b>	1102,92			
<b>Suma nadzemní biomasy pro <i>Pleurotus</i> A</b>	898,68			
<b>Suma nadzemní biomasy pro <i>Phanerochaete</i> A</b>	1048,96			
<b>Suma nadzemní biomasy pro <i>Irpex</i> A</b>	1012,25			
<b>Suma celkové biomasy pro kontrolní variantu A</b>	1384,19			
<b>Suma celkové biomasy pro <i>Pleurotus</i> A</b>	1092,29			
<b>Suma celkové biomasy pro <i>Phanerochaete</i> A</b>	1316,39			
<b>Suma celkové biomasy pro <i>Irpex</i> A</b>	1344,6			

Tabulka 12: Průměrný výnos biomasy rostlin v g sušiny na nádobu se statistikou odlišnosti mezi variantami a sumy nadzemní a celkové biomasy pro jednotlivé varianty

Nejvyšší výnos kořene byl u varianty s houbou *Irpex*. U stonku, listu a zrna byl nejvyšší výnos u kontrolní varianty, tedy varianty bez houbového substrátu. Suma nadzemní a celkové biomasy se statisticky nelišila mezi sledovanými variantami.

Z výsledné tabulky výše je patrné, že výnos kořene byl podobný, s výjimkou srovnání varianty *Pleurotus* a *Irpex*, kdy byl výnos kořene statisticky rozdílný. Výnos stonku u varianty *Pleurotus* se statisticky lišil od varianty kontrolní a *Phanerochaete*. U listu si výsledky dat byly podobné, vyjma varianty kontrolní a *Pleurotus*, kde byl potvrzen statisticky významný rozdíl. Výsledky statistiky porovnání výnosu u zrna ukázaly, že zde není statisticky významný rozdíl mezi sledovanými variantami.

## 5.7 Obsahy léčiv v biomase

Tabulky 13 – 16 ukazují průměrné obsahy léčiv nalezené v biomase pro sledované varianty v kořeni, stonku, listu a zrnu. Do výsledků je promítnuta směrodatná odchylka pro jednotlivá data.

Kořen (ng/g)	Karbamazepin	Tramadol	Venlafaxin	Sulpirid	Fluoxetin
Varianta bez houby	0,379 ± 0,080	0,180 ± 0,026	0,215 ± 0,082	0	0
Phanerochaete	0,247 ± 0,039	0,077 ± 0,050	0,025 ± 0,025	0	0
Pleurotus	0,289 ± 0,154	0,112 ± 0,059	0,054 ± 0,080	0	0
Irpex	0,251 ± 0,081	0,122 ± 0,010	0,196 ± 0,039	0	0

Tabulka 13: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (kořen)

Stonek (ng/g)	Karbamazepin	Tramadol	Venlafaxin	Sulpirid	Fluoxetin
Varianta bez houby	0,201 ± 0,127	0,299 ± 0,063	0	0	0
Phanerochaete	0,229 ± 0,014	0,325 ± 0,062	0	0	0
Pleurotus	0,249 ± 0,021	0,335 ± 0,065	0	0	0
Irpex	0,252 ± 0,147	0,269 ± 0,063	0	0	0

Tabulka 14: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (stonek)

List (ng/g)	Karbamazepin	Tramadol	Venlafaxin	Sulpirid	Fluoxetin
Varianta bez houby	2,410 ± 0,191	1,255 ± 0,255	0,178 ± 0,185	0	0
Phanerochaete	1,611 ± 0,189	0,819 ± 0,120	0,192 ± 0,090	0	0
Pleurotus	1,458 ± 0,229	0,819 ± 0,064	0,157 ± 0,111	0	0
Irpex	1,904 ± 0,217	0,789 ± 0,048	0,145 ± 0,151	0	0

Tabulka 15: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (list)

Zrno (ng/g)	Karbamazepin	Tramadol	Venlafaxin	Sulpirid	Fluoxetin
Varianta bez houby	<MLOD	0	0	0	0
Phanerochaete	0	0	0	0	0
Pleurotus	0	0	0	0	0
Irpex	0	0	0	0	0

<MLOD pod mezí detekce

Tabulka 16: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (zrno)



V kořeni měl nejvyšší zastoupení karbamazepin. Pro karbamazepin, tramadol a venlafaxin byly nejvyšší koncentrace zjištěné v kontrolní variantě, tedy variantě bez houby. Koncentrace pod mezí detekce byly v kořeni u léčiva sulpirid a fluoxetin. Ve stonku bylo nejvíce tramadolu ze sledovaných léčiv. Pod mezi detekce pak byly koncentrace u venlafaxinu, sulpiridu a fluoxetinu. V listu byly nejvyšší koncentrace karbamazepinu a sulpirid s fluoxetinem opět pod mezí detekce. Ve zrnu kukuřice byla všechna léčiva zjištěna pod mezí detekce.

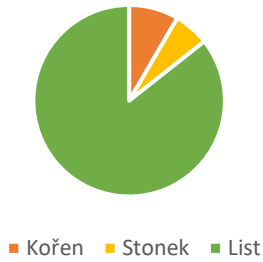
## 5.8 Obsah léčiv nalezené v biomase z celkového množství aplikovaných léčiv

Karbamazepin	kořen	stonek	list	zrno
Kontrolní varianta	25,688 ± 3,092	18,245 ± 10,893	261,824 ± 13,169	0
Pleurotus	13,758 ± 6,574	15,540 ± 2,325	130,497 ± 16,275	0
Phanerochaete	16,228 ± 1,826	20,122 ± 1,353	158,291 ± 12,069	0
Irpex	20,638 ± 6,219	20,593 ± 12,039	190,656 ± 24,643	0

Tabulka 17: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru karbamazepinu biomasou v ng

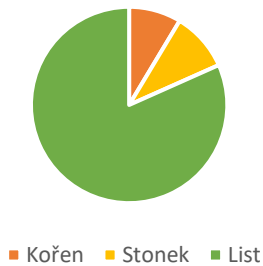
Nejvyšší odběr léčiva karbamazepin byl v případě listu ve všech variantách. Bylo potvrzeno, že nejvyšší odběr byl zjištěn u kontrolní varianty. Houbové varianty nepředstavovaly mezi sebou významný rozdíl. Hodnoty pod mezí detekce byly pak zjištěny u zrna kukuřice. Kořen a stonek v porovnání se studovanými variantami měl výsledky víceméně podobné. U odběru karbamazepinu stonkem byly zjištěné hodnoty v podstatě stejné.

Rozložení obsahu (ng/nádoba)  
karbamazepinu v kontrolní variantě



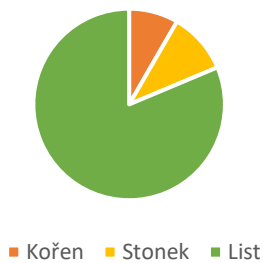
Graf 24: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro kontrolní variantu

Rozložení obsahu (ng/nádoba)  
karbamazepinu ve variantě Pleurotus



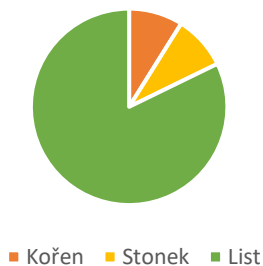
Graf 25: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Pleurotus*

Rozložení obsahu (ng/nádoba)  
karbamazepinu ve variantě Phanerochaete



Graf 26: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*

Rozložení obsahu (ng/nádoba)  
karbamazepinu ve variantě Irpex



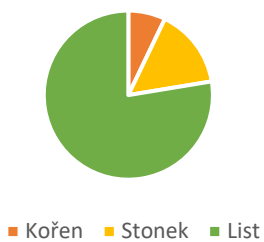
Graf 27: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Irpex*

Tramadol	kořen	stonek	list	zrno
Kontrolní varianta	12,354 ± 1,052	26,541 ± 4,563	134,698 ± 14,778	0
Pleurotus	5,218 ± 2,393	21,389 ± 6,533	74,046 ± 9,713	0
Phanerochaete	7,820 ± 3,485	28,620 ± 6,011	81,375 ± 14,539	0
Irpex	10,098 ± 1,360	22,088 ± 5,260	79,015 ± 6,651	0

Tabulka 18: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru tramadolu biomasou v ng

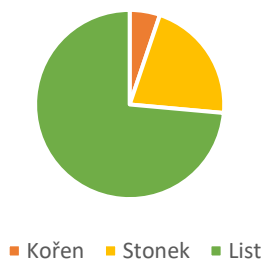
I zde platí v případě listu a zrna tvrzení z výsledků karbamazepinu. S tím rozdílem, že u kontrolní varianty byl odběr listem takřka dvojnásobný v porovnání s variantami s houbovým přídatkem. Od ostatních variant se pak lišila pouze varianta kontrolní. U kořene byl nejnižší odběr tramadolu v případě varianty *Pleurotus* a *Phanerochaete*. Co se stonku týče, nebyl potvrzen rozdíl mezi jednotlivými variantami.

Rozložení obsahu (ng/nádoba) tramadolu v  
kontrolní variantě



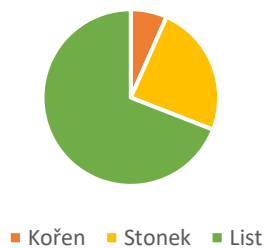
Graf 28: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro kontrolní variantu

Rozložení obsahu (ng/nádoba) tramadolu ve  
variantě Pleurotus



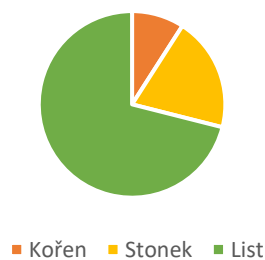
Graf 29: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Pleurotus*

Rozložení obsahu (ng/nádoba) tramadolu ve  
variantě Phanerochaete



Graf 30: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*

Rozložení obsahu (ng/nádoba) tramadolu ve  
variantě Irpex



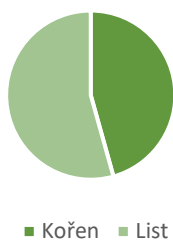
Graf 31: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Irpex*

Venlafaxin	kořen	stonek	list	zrno
Kontrolní varianta	15,151± 7,412	0	18,028 ± 17,074	0
Pleurotus	2,446 ± 3,515	0	14,018 ± 9,735	0
Phanerochaete	1,656 ± 1,624	0	18,674 ± 7,873	0
Irpex	16,602± 4,710	0	14,554 ± 14,962	0

Tabulka 19: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru venlafaxinu biomasou v ng

Nulový odběr venlafaxinu byl potvrzen u stonku a zrna. Srovnatelný odběr kořenem byl v případě kontrolní varianty s *Irpex* a *Pleurotus* s *Phanerochaete*. U listu se výsledky významně nelišily.

Rozložení obsahu (ng/nádoba) venlafaxinu  
v kontrolní variantě



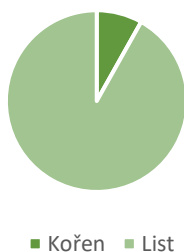
Graf 32: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro kontrolní variantu

Rozložení obsahu (ng/nádoba) venlafaxinu  
ve variantě Pleurotus



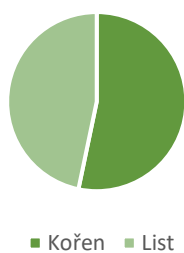
Graf 33: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Pleurotus*

Rozložení obsahu (ng/nádoba) venlafaxinu ve  
variantě Phanerochaete



Graf 34: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*

Rozložení obsahu (ng/nádoba) venlafaxinu  
ve variantě Irpex



Graf 35: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Irpex*

<b>Sulpirid</b>	kořen	stonek	list	zrno
Kontrolní varianta	0	0	0	0
Pleurotus	0	0	0	0
Phanerochaete	0	0	0	0
Irpex	0	0	0	0

Tabulka 23: Průměrné hodnoty odběru sulpiridu biomasou v ng

<b>Fluoxetin</b>	kořen	stonek	list	zrno
Kontrolní varianta	0	0	0	0
Pleurotus	0	0	0	0
Phanerochaete	0	0	0	0
Irpex	0	0	0	0

Tabulka 20: Průměrné hodnoty odběru fluoxetinu biomasou v ng

Pro obě léčiva (sulpirid, fluoxetin) platí stejné tvrzení. Byly zjištěny nulové odběry biomasou ve všech studovaných variantách.

## 5.9 Tendence mikropolutantů k přestupu do rostlin

<b>Karbamazepin</b>	Koncentrace v kořeni ng/g	Koncentrace v půdě (ng/g)	Biokoncentrační faktor
Kontrolní	0,379	0,946	0,400
Phanerochaete	0,247	1,023	0,241
Pleurotus	0,289	0,986	0,293
Irpex	0,251	0,953	0,264

Tabulka 21: Biokoncentrační faktor (karbamazepin)

<b>Tramadol</b>	Koncentrace v kořeni ng/g	Koncentrace v půdě (ng/g)	Biokoncentrační faktor
Kontrolní	0,180	0,597	0,302
Phanerochaete	0,077	0,585	0,132
Pleurotus	0,112	0,638	0,175
Irpex	0,122	0,631	0,193

Tabulka 22: Biokoncentrační faktor (tramadol)

<b>Venlafaxin</b>	Koncentrace v kořeni ng/g	Koncentrace v půdě (ng/g)	Biokoncentrační faktor
Kontrolní	0,215	1,078	0,199
Phanerochaete	0,025	0,948	0,026
Pleurotus	0,054	0,960	0,056
Irpex	0,196	0,960	0,205

Tabulka 23: Biokoncentrační faktor (venlafaxin)

Poměrem koncentrací bylo zjištěno, že biokoncentrační faktor je u karbamazepinu podobný, významně se liší pouze kontrolní varianta, která má nejvyšší hodnotu biokoncentračního faktoru. Nejvyšší hodnotu má i u léčiva tramadol a venlafaxin. Tato hodnota znamená, v jaké míře přechází léčivo z půdy do kořene. U sulpiridu a fluoxetinu do kořene nepřechází vůbec. Celkově lze shrnout, že karbamazepin má ze sledovaných léčiv nejvyšší hodnoty biokoncentračního faktoru, naopak venlafaxin nejnižší.



<b>Karbamazepin</b>	Koncentrace v listu ng/g	Koncentrace v kořeni ng/g	Translokační faktor
Kontrolní	2,410	0,379	6,365
Phanerochaete	1,611	0,247	6,526
Pleurotus	1,458	0,289	5,044
Irpex	1,904	0,251	7,579

Tabulka 24: Translokační faktor (karbamazepin)

<b>Tramadol</b>	Koncentrace v listu ng/g	Koncentrace v kořeni ng/g	Translokační faktor
Kontrolní	1,255	0,180	6,951
Phanerochaete	0,819	0,077	10,633
Pleurotus	0,819	0,112	7,323
Irpex	0,789	0,122	6,485

Tabulka 25: Translokační faktor (tramadol)

<b>Venlafaxin</b>	Koncentrace v listu ng/g	Koncentrace v kořeni ng/g	Translokační faktor
Kontrolní	0,178	0,215	0,829
Phanerochaete	0,192	0,025	7,639
Pleurotus	0,157	0,054	2,910
Irpex	0,145	0,196	0,739

Tabulka 26: Translokační faktor (venlafaxin)

Translokační faktor udává, jak přechází léčivo z kořene rostliny do biomasy (listu) rostliny kukuřice. Výsledky ukazují, že nejvíce přechází do biomasy tramadol v houbové variantě *Phanerochaete* a nejméně, respektive vůbec u látek sulpirid a fluoxetin.

## 6 Diskuze

Cílem experimentu bylo zjistit, zda se sledované mikropolutanty (karbamazepin, tramadol, venlafaxin, sulpirid, fluoxetin) nacházející v půdě vlivem přidavku čistírenského kalu uvolňují do půdního roztoku. Dále také, zda rostliny kukuřice jednotlivé mikropolutanty přijímají a v jaké míře budou následně přítomné ve sklizni (kořen, stonek, list, zrno). Cílem bylo také potvrdit či vyvrátit, zda došlo k podpoře degradace mikropolutantů v případě přítomnosti rostliny kukuřice v nádobě či houbového substrátu.

Antiepileptické léčivo karbamazepin je v životním prostředí hojným kontaminantem a je poměrně těžko odbouratelný. Mejías et al., 2021 tvrdili, že v Číně se karbamazepin v kalech pohyboval kolem 0,9 ng/g a ve Španělsku přibližně 256 ng/g v sušině kalu. V České republice se hodnoty pohybovaly v rozmezí 40,9–59,17 ng/g. V této práci pak přibližně 26,7 ng/g sušiny. Naměřené koncentrace karbamazepinu v půdě ukázaly, že nejvyšší hodnoty byly u kontrolní varianty. To si lze vysvětlit tím, že v kontrolní variantě nebyla přítomna ani houba či rostlina, která degradaci mikropolutantů z nádoby urychluje. Degradace karbamazepinu houbou a rostlinou byla potvrzena i statistickou analýzou. U houby *Pleurotus* a *Irpex* měla vliv hlavně rostlina, u *Phanerochaete* i houba. Karbamazepin je známý tím, že ho lze hůře odstraňovat ze životního prostředí. To bylo potvrzeno studiemi jiných autorů, i výsledky této diplomové práce. Podíl odstraněných léčiv z půdy se pohyboval jen kolem 33 %. V půdním roztoku došlo ke snižování koncentrací karbamazepinu s postupem času. Výjimkou byla varianta s houbou *Phanerochaete* a rostlinou kukuřice po 97 dnech od založení pokusu. Tam se koncentrace náhle zvýšila, což mohlo znamenat to, že se karbamazepin začal více uvolňovat do půdy vlivem činnosti mikroorganismů a v půdním roztoku tak jeho koncentrace vzrostla. Toto tvrzení bylo potvrzeno i ve výpočtu dostupnosti látky v půdním roztoku, kdy se dostupnost karbamazepinu s časem zvýšila. Dostupnost léčiva pro příjem do rostlin a jeho rozpustnost potvrdili i Ravichandran & Philip (2021). Ti mimo jiné tvrdí, že na příjem karbamazepinu má vliv i celkové množství léčiva, které je přijaté rostlinou. Pro ostatní varianty platí, že dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku s časem klesá. Karbamazepin byl nejlépe dostupný v kontrolní variantě, kdy dokonce došlo ke zvýšení dostupnosti z 2,6 % na 2,8 %. V ostatních variantách byly hodnoty od 1,7 – 2,2 %, což bylo jen o trochu méně, než kolik % bylo dostupné na začátku. Vzhledem k tomu, že v půdě zůstalo 67 % přijatého karbamazepinu, tak se léčivo akumulovalo i do biomasy rostliny. Li et al. (2018) uvádí výskyt karbamazepinu ve všech jedlých částech mrkve a celeru. Ve výsledcích této diplomové práce byl potvrzen výskyt karbamazepinu v kořenu, stonku i listu. Naopak v jedlých částech kukuřice, tedy v zrnu, nebyly nalezeny žádné stopy látky. V takovém případě po konzumaci jedné části kukuřice zde není riziko, které by mělo mít na spotřebitele negativní vliv. V další části práce je zkoumán odběr karbamazepinu určitými částmi rostliny. U odběru kořenem a listem bylo vyzorováno, že je odběr karbamazepinu nejvyšší u kontrolní varianty. Tedy varianty bez přítomnosti houby či rostliny. To lze vysvětlit tím, že přítomnost houby a rostliny ovlivňuje koncentrace přítomného léčiva a v kontrolní variantě tedy zbude nejvíce karbamazepinu. Únik karbamazepinu do vodního prostředí představuje riziko pro vodní živočichy a organismy ve vodě žijící. Li (2014)

potvrdil, že karbamazepin inhibuje fotosyntézu řas tím, že působí na chloroplasty. Léčivo má nejenom špatný vliv na vodní prostředí, ale riziko je zde i v případě kontaminace půdy. Karbamazepin je obtížně odbouratelný ze životního prostředí, tak může velice snadno dojít k tomu, že se z půdy dostane až do potravního řetězce. To je možné například při zavlažování zemědělské půdy či aplikací čistírenského kalu do půdy, kde se následně pěstují plodiny. Samozřejmě při dodržování legislativy, která udává limity aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu, se dá zabránit významné kontaminaci půdy. Zamezit neboli snížit množství karbamazepinu v čistírenském kalu lze i metodou kompostování. Výzkumem, jehož autoři byli Dalahmeh et al. (2021) se podařilo karbamazepin eliminovat až z 50 %. V České republice byl výsledek kompostování karbamazepinu procentuálně nižší. Léčivo bylo sníženo o cca 42 % (Novák, 2022).

Tramadol je analgetikum, které se dostává z velké části do vodního prostředí jako metabolit. Pouze ze 30 % se do vody uvolňuje ve své nezměněné formě. V sušině kalu v České republice se průměrné koncentrace vyskytují od 49 do 101,18 ng/g (Kuntová, 2020). Ve vzorcích z německých řek se koncentrace pohybovaly v rozmezí 25–381 ng/l (Gomez & Püttman, 2012). Koncentrace tramadolu v půdě byly nejnižší u varianty *Pleurotus* bez přítomnosti rostliny kukuřice. V tomto případě lze z grafu 4 vyčíst, že houbové varianty v přítomnosti rostliny obsahují větší koncentrace léčiva v půdě než houbové varianty bez rostliny. Tramadol není jednoduché odstranit z půdního prostředí. To bylo potvrzené i v této práci, kde byl podíl odstraněného tramadolu pouhých 3 %, zbytek léčiva zůstal v půdě. Gomez & Püttman tvrdili, že se léčivo dobře rozpouští ve vodě, proto lze předpokládat, že se bude akumulovat spíše do vodního prostředí než do čistírenského kalu či půdy. To bylo potvrzeno i v této práci, kdy se tramadol v půdním roztoku nejdříve v prvních záznamových časech snížil a pak jeho koncentrace vzrostly. Pravděpodobně se začal více rozpouštět a stal se tak více dostupným v půdním roztoku. To lze potvrdit i grafem 19, kde je také vidět, že dostupnost tramadolu se na konci zvýšila. Ovšem toto platí pouze v přítomnosti s rostlinou kukuřice, bez rostliny dostupnost tramadolu s časem klesá. U tramadolu byla dostupnost léčiva v porovnání se začáteční hodnotou už horší. Například u varianty s houbou *Pleurotus* byla počáteční dostupnost 3,5 % a na konci před sklizní už jen 1,1 %. V této práci byla potvrzena slova Khalaf et. al. (2021), kteří uvádí, že tramadol vykazuje vysokou tendenci k translokaci do nadzemních částí rostlin. Tento výrok byl potvrzen. V obou studovaných variantách (varianta bez houby, s houbou) byly nalezeny koncentrace tramadolu ve stoncích a největší zastoupení látky bylo v listech rostlin kukuřice. Ve zrnu byly koncentrace pod mezí detekce. Odběr tramadolu biomasou byl většinou nejvyšší u variant bez přítomnosti houby. Pravděpodobně proto, že v kontrolní variantě se na degradaci/snížení tramadolu podílí pouze rostlina a mikroorganismy. Kdežto v přítomnosti houby je degradace léčiva rychlejší. Bylo potvrzeno, že houba i rostlina má prokazatelný vliv na přítomnost tramadolu ve vzorcích půdního roztoku a půdy. V případě biomasy vliv prokázán nebyl. U tramadolu je také problém s odbouratelností. V životním prostředí mohou být jeho koncentrace nebezpečné hlavně z dlouhodobého hlediska. Například Santos et al. (2021) potvrdili, že toto léčivo je

v dlouhodobém měřítku schopné narušit evoluční chování vodních živočichů. V biomase rostliny kukuřice se určité koncentrace tramadolu sice vyskytují, ale za jedlou část se považuje pouze zrno kukuřice, ze kterého se pak dále zpracovávají potraviny. Ve zrnu byly zjištěny koncentrace pod mezí detekce, tudíž i v tomto případě lze považovat zrno na konzumaci za bezpečné. U kořene, stonku a listu by teoreticky mohlo vzniknout riziko při konzumaci biomasy kukuřice hmyzem, ptáky či mikroorganismy. Toto tvrzení platí i u karbamazepinu. Ovšem je zapotřebí si uvědomit, že pro každý organismus je smrtelná jiná dávka. Záleží to na hmotnosti konzumenta, na jeho metabolismu a schopnosti se s toxickou látkou vypořádat.

Venlafaxin je užíván jako andidepresivum a taktéž se dostává do životního prostředí. Nejčastěji močí po požití léčiva, až z poloviny ve formě metabolitů. Pouhých 5 % látky se uvolňuje ve své původní formě. V čistírenském kalu byl obsah venlafaxinu nejvyšší ze všech sledovaných léčiv. Venlafaxin v půdě je mírně mobilní a nachází se výhradně ve formě kationů, což značí, že se v půdě silněji sorbuje (NCBI, 2021). V této práci pak byly jeho koncentrace v porovnání s ostatními variantami v podstatě stejné. Na degradaci léčiva z půdy se podílely primárně houby, rostliny měly v tomto případě zanedbatelný vliv. Z půdního prostředí došlo k odstranění asi 67 % venlafaxinu. V půdním roztoku se venlafaxin choval podobně jako výše zmíněné léčivo tramadol. Jeho dostupnost bez přítomnosti rostliny s časem klesá, s rostlinou naopak stoupá. To pak může znamenat, že se bude i dobře dostávat do nadzemních částí rostlin. Venlafaxin tak vstupuje do rostliny jako kation. Toto tvrzení potvrdili i Khalaf et al. (2021), kteří publikovali, že je venlafaxin snadno absorbován a následně transportován do kořenů a nadzemní biomasy včetně translokace do plodin rostlin. Dostupnost venlafaxinu vykazovala nižší hodnoty v porovnání s ostatními léčivy. Hodnoty se pohybovaly mezi 0,4 a 0,6 % a v posledním měřeném čase byla už dostupnost jen do 0,3 % maximálně. V diplomové práci byla potvrzena přítomnost koncentrace venlafaxinu v kořenu a listu. V případě kukuřice nebyly nalezeny žádné koncentrace léčiva ve stonku a zrnu. Což potvrzuje i tabulka 18, kdy byl odběr stonkem a zrnem nulový. Odběr kořenem byl nejvyšší u houby *Irpex*.

Antipsychotické léčivo sulpirid se využívá v nemocnicích k léčbě depresivních až psychotických poruch. Sulpirid se dostává do vodního prostředí takřka v nezměněné formě. Nevýhodou je, že je vysoce persistentní a může tak kontaminovat i podzemní vody. Persistenci léčiva v kalu potvrdili Bollmann et al. (2016). Což lze potvrdit i z grafů koncentrací, kdy nedošlo k významnému poklesu látky v půdním roztoku a v půdě. V posledním měřeném čase byly koncentrace sulpiridu v půdě za přítomnosti rostliny vyšší než bez její přítomnosti. Statistickou analýzou byl pak potvrzen vliv rostliny na koncentrace sulpiridu v půdě. Pouze u houby *Phanerochaete* došlo k ovlivnění koncentrací za přítomnosti kombinace, tedy houby a rostliny. Sulpirid má podle Bollmann et al. (2016) poměrně nízký podíl odstranění z odpadní vody (do 30 %). S odstraněním z půdy je to podobné. Což ukázal výpočet v tabulce 9, kdy byl podíl odstraněného sulpiridu 31 %. Koncentrace sulpiridu se dle grafů 14 a 15 nejdříve nejdříve razantně zvýšily, následně poklesly a v posledním měřeném čase došlo opět k vzrůstu. Dostupnost léčiva se v posledním čase zvýšila. Hodnoty byly ale tak nízké, že do biomasy

rostlin se už žádné koncentrace nedostaly. Sulpirid se v tomto případě ukázal jako relativně stabilní v rámci jeho dostupnosti. V kontrolní variantě bez houby byla dostupnost sulpiridu stejná jak na začátku, tak na konci. V houbových variantách došlo k poklesu o maximálně 0,3 %.

Fluoxetin spadá do léčiv, která se používají k léčbě depresí. S přibývajícím spotřebou fluoxetinu roste i kontaminace povrchových vod. Vasskog et al. (2009) tvrdí, že léčivo bylo přítomné v sušině kalu v koncentracích do 40 ng/g. Výsledky této diplomové práce ukázaly, že se fluoxetin nacházel čistírenském kalu cca 25,8 ng/g sušiny. Koncentrace léčiva v půdě byla ve všech variantách stejná. V posledním měřeném čase byly ale hodnoty koncentrací poměrně nízké, maximálně půl nanogramu na gram. Což může s počátečním obsahem kolem 25 ng/g sušiny v čistírenském kalu znamenat, že fluoxetin je špatně dostupný pro příjem rostlinami. Potvrzují to Wu et al. (2010), kteří toto léčivo zkoumali a zjistili, že když pěstovali sóju a zavlažovali ji vodou obsahující fluoxetin o koncentraci 10 ng/ml, tak neobjevili žádné koncentrace látky v rostlině po sklizni. Což mohlo být způsobenou sorpcí na půdní částice a poukazuje to na nízkou biologickou dostupnost léčiva v půdě. Na degradaci fluoxetinu v půdě měla vliv rostlina s houbou, ale pouze u varianty s houbou *Phanerochaete*. U ostatních hub nebyla míra ovlivnění znatelná. Spíše lze obecně říci, že veškeré koncentrace zůstávají v půdě. Látka fluoxetin je tedy v půdě detekovatelná, avšak v půdním roztoku ji nevidíme. To pak má za následek to, že je nedostupná pro příjem rostlinami. Je také možné, že se látka sorbuje na materiál rhizonu a nelze ji použitým způsobem stanovit, dále připadá v úvahu, že přechod fluoxetinu do půdního roztoku je minimální, jak již bylo zmíněno výše. Redshaw et al. (2008) potvrdili, že se fluoxetin nejprve kumuluje v kořenech a následně v listech a stoncích. Tento výrok se neshodoval s výsledky diplomové práce. V biomase rostliny kukuřice byly nalezeny koncentrace fluoxetinu pod mezí detekce ve stoncích, listech, zrnech i kořenech. Stejně výsledky byly i u sulpiridu. V případě těchto dvou léčiv nepředstavuje hromadění polutantu v biomase rostliny kukuřice environmentální riziko.

## 7 Závěr

Dnešní doba přinesla mnoho inovací a pokroku v rámci čištění odpadních vod od škodlivých mikropolutatů. Ty mohou mít z dlouhodobého hlediska negativní účinky na životní prostředí, ať už ve větší míře, či menší. S přibývajícím zájmem o tuto problematiku vzrůstá i kvalita současných technologií. Bohužel zatím není podchyceno vše. Ať už se to týká kompletního vyčištění odpadní vody od mikropolutantů, nebo regulace prvotní kontaminace.

V diplomové práci byl v rámci rešerše kladen důraz na proces čištění odpadních vod, fyto-remediační a mykoremediační techniky odbourávání mikropolutantů ze životního prostředí a následně charakteristiku pěti vybraných farmak, která se hojně vyskytují ve vodě a půdě. Cílem bylo zhodnotit, jak se mikropolutanty akumulují do rostliny kukuřice a jaký vliv mají na degradaci farmak v přítomnosti rostliny a ligninolytických hub.

Za účelem provedení experimentální části byl založen nádobový experiment. Ten obsahoval vždy 4 nádoby obsahující pouze půdu s kalem (tzv. kontrolní nádoby), dále kombinaci půda, kal, houbový substrát (*Pleurotus*, *Phanerochaete*, *Irpex*). Tyto kombinace ve variantě s rostlinou kukuřice a bez rostliny kukuřice. Po provedení extrakce vzorků bylo přítomno mnoho léčiv vlivem přídavku čistírenského kalu. Pro účely práce byly vybrány tato léčiva: karbamazepin, venlafaxin, tramadol, sulpirid a fluoxetin. Byly stanoveny tři hypotézy.

Byla potvrzena první hypotéza, že se sledované mikropolutanty v půdě uvolňují z čistírenského kalu a přecházejí do půdního roztoku. Toto tvrzení platí pro všechny sledované mikropolutanty vyjma fluoxetinu, který se vyskytoval v půdním roztoku pod mezí detekce. Vzorky byly odebírány a analyzovány poprvé po 8 dnech po založení pokusu a naposledy po 111 dnech. V průběhu času se koncentrace kontaminantů většinou nejdříve zvýšily, následně snížily. To si lze vysvětlit tím, že vlivem přítomnosti houby, rostliny a půdních mikroorganismů materiál, z něhož byly poté odebírány vzorky, neustále pracuje a rozkládá se a uvolňuje se tak více či méně do půdního roztoku. Na počátku experimentu se nachází v nádobě určité množství půdy a vlivem postupného rozkladu materiálu, kořenové exsudace, mikrobiální činnosti, teploty a pH dochází k výkyvům koncentrací, které jsou velmi dobře zřetelné z grafů.

Částečně byla potvrzena druhá hypotéza, že jsou mikropolutanty přijímány rostlinou kukuřice a jsou přítomné v její biomase i po sklizni. Akumulace mikropolutantů do biomasy rostlin kukuřice byla velice podobná v obou sledovaných variantách, tedy varianta s houbovým přídavkem a bez. Karbamazepin, tramadol a venlafaxin se nejvíce akumuloval v listech. Koncentrace pod mezí detekce u všech sledovaných mikropolutantů byly v zrnech kukuřice. U venlafaxinu byly koncentrace pod mezí detekce i v případě stonků. Sulpirid a fluoxetin po sklizni již přítomný není v žádných částech rostliny kukuřice.

Třetí hypotéza, že rostliny kukuřice a přídavek ligninolytických hub podpoří degradaci mikropolutantů v půdě, byla potvrzena. Pro přesnější zhodnocení výsledků je zapotřebí brát do úvahy faktor času, který má na degradaci farmak v půdě vliv. V případě karbamazepinu ve variantě s houbou *Pleurotus* a *Irpex* došlo k ovlivnění koncentrace léčiva pouze rostlinou. U varianty s houbou *Phanerochaete* došlo k ovlivnění jak rostlinou, tak kombinací houby s rostlinou. U tramadolu podpořila degradaci mikropolutatů kombinace rostliny s houbou

*Pleurotus* a *Phanerochaete*. V případě *Phanerochaete* měla vliv i samotná houba. U houby *Irpex* nebyl potvrzen vliv na snížení koncentrací v půdě. U venlafaxinu byl závěr takový, že samotná rostlina či kombinace s houbou neovlivnily koncentrace, kdežto přítomnost hub ano. U sulpiridu k podpoře degradace pomohla kombinace rostliny s houbou *Pleurotus*, dále pak samotná houba *Irpex* a *Phanerochaete*, jak v kombinaci s houbou, tak houba samotná. U posledního léčiva fluoxetinu neměla vliv na degradaci houba *Pleurotus* a *Irpex*, pouze houba *Phanerochaete* v kombinaci s rostlinou.

Při otázce, jaká část mikropolutantů je po aplikaci čistírenského kalu dostupná rostlinám to není tak jednoduché zobecnit. Například fluoxetin byl zcela nedostupný pro rostliny, neboť jeho koncentrace v půdním roztoku byly pod mezí detekce. Karbamazepin byl nejlépe dostupný v kontrolní variantě, kdy dokonce došlo ke zvýšení dostupnosti z 2,6 % na 2,8 %. V ostatních variantách byly hodnoty od 1,7 – 2,2 %, což bylo jen o trochu méně, než kolik % bylo dostupné na začátku. U tramadolu byla dostupnost léčiva v porovnání se začáteční hodnotou už horší. Například u varianty s houbou *Pleurotus* byla počáteční dostupnost 3,5 % a na konci před sklizní už jen 1,1 %. Dostupnost venlafaxinu byla ještě nižší, kdy se počáteční hodnoty pohybovaly mezi 0,4 a 0,6 % a v posledním měřeném čase byla už dostupnost jen do 0,3 % maximálně. Sulpirid se v tomto případě ukázal jako relativně stabilní v rámci jeho dostupnosti. V kontrolní variantě bez houby byla dostupnost sulpiridu stejná jak na začátku, tak na konci. V houbových variantách došlo k poklesu o maximálně 0,3 %.

## 8 Literatura

Alloway BJ, Jackson AP. 1991. The behaviour of heavy metals in sewage sludge –amended soils. *Science of The Total Environment*. 100: 151-176.

Andreozzi R, Marotta R, Pinto G, Pollio A. 2002. Carbamazepine in water: persistence in the environment ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity. *Water Research*. 36: 2869–2877.

Bialer M. 2012. Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). *Advanced Drug Delivery Reviews*. 64: 887–895

Bierkens J, Brits E, Verchaeve L. 2005. Environmental monitoring for genotoxic compounds. In: THOMPSON, K. C. et al. (eds.) *Environmental Toxicity Testing*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 229–256. ISBN 978-1-4051-1819-4.

Bindzar J. et al. 2009. *Základy úpravy a čištění vod*. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha.

Bogan BW, Lamar RT, Hammel KE. 1996. Fluorene oxidation in vivo by *Phanerochaete chrysosporium* and in vitro during manganese peroxidase – dependent lipid peroxidation. *Applied and Environmental Microbiology*. 62(5): 1788–1792

Boix C, Ibáñez M, Bagnati R, Zuccato E, Sancho VJ, Hernández F, Castiglioni S. 2016. High resolution mass spectrometry to investigate omeprazole and venlafaxine metabolites in wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 302: 332–340.

Bollmann AF, Seitz W, Prasse C, Lucke T, Schulz W, Ternes T. 2016. Occurrence and fate of amisulpride, sulpiride, and lamotrigine in municipal wastewater treatment plants with biological treatment and ozonation. *Journal of Hazardous Materials*. 320: 204–215.

Butkovskiy A, Ni G, Hernandez LL, Rijnaarts HHM, Zeeman G. 2016. Mitigation of micropollutants for black water application in agriculture via composing of anaerobic sludge. *Journal of hazardous materials*. 303: 41–47.

Briggs GG, Bromilow RH, Evans AA. 1982. Relationships Between Lipophilicity and Root Uptake and Translocation of Non – ionised Chemicals by Barley. *Pesticide Science* 13: 495–504

Brunhoferova H, Venditti S, Schlien M, Hansem J. 2021. Removal of 27 micropollutants by selected wetland macrophytes in hydroponic conditions. *Chemosphere*(el.130980).DOI:<https://doi.org/infozdroje.czu.cz/10.1016/j.chemosphere.2021.130980>



Butkovskiy A, Ni G, Hernandez Leal L. 2016. Mitigation of micropollutants for black water application in agriculture via composting of anaerobic sludge: What Are the Big Questions? *Journal of Hazardous Materials*. 303(9): 41–47. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.016. ISSN 03043894.

Cajthaml T, Möder M, Kačer P, Šašek V, Popp P. 2002. Study of fungal degradation products of polycyclic aromatic hydrocarbons using gas chromatography with ion trap mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*. 974(1-2): 213–222.

Calisto V, Esteves VI. 2012. Adsorption of the antiepileptic carbamazepine onto agricultural soils. *Journal of Environmental Monitoring*. 14: 1597–1603.

Carter LJ, Garman CD, Ryan J, Dowle A, Bergström E, Thomas – Oates J, Boxall BA. 2014. Fate and Uptake of Pharmaceuticals in Soil – Earthworm Systems. *Environmental Science & Technology* 48:5955-5963.

Cleuvers M. 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59: 309–315.

Cunningham DS, Berti WR, Huang WJ. 1995. *Tib Tech*. 13: 393.

Černý J, Balík J, Švehla P, Kulhánek M. 2009. Využití odpadů ČOV jako zdroje organických látek a živin. *Racionální použití hnojiv*. ČZU. Praha.

Černý J, Balík J, Kulhánek M, Sedlář O. 2019. Organická hmota v půdě, její obsah, složky a význam. *Agromanual.cz*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Available from: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/vyziva-stimulace/hnojeni/organicka-hmota-v-pude-jeji-obsah-slozky-a-vyznam>. Accessed (March 2022).

Čvančarová M, Křesinová Z, Filipová A, Covino S, Cajthaml T. 2012. Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products. *Chemosphere* 88: 1317–1323.

Čvančarová M, Möder M, Filipová A, Reemtsma T, Cajthaml T. 2013. Biotransformation of the antibiotic agent flumequine by ligninolytic fungi and residual antibacterial activity of the transformation mixtures. *Environmental Science and Technology*, 47: 14128–14136.

Dalahmeh SS, Thorsén G, Jonsson H. 2022. Open-air storage with and without composting as post-treatment methods to degrade pharmaceutical residues in anaerobically digested and dewatered sewage sludge. *Science of The Total Environment*. 806: 3.

Daughton CG, Ternes TA. 1999. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*. 107: 907–938.

Danso-Boateng, E (ed.) 2017. Sewage Sludge: Assessment, Treatment and Environmental Impact. Nova Science Publishers, Incorporated. New York.

Debnath S, Raju J, Chennapragada R. 2020. Carbamazepine and its Synthesis Related Impurities Profile Compilation and its Monograph Dispute for the Best Regulatory Practice: A Review. *Journal of Young Pharmacists*.12: 294–298.

De Brouwere K. 2006. Risks of sewage sludge amended soils. Relation to crop and soil microbial processes. Katholieke Universiteit Leuven. Belgium

Dohányos M. 2006. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom*. Available from <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu>>. (accessed October 2021).

Dohányos M, Koller J, Strnadová N. 2007. Čištění odpadních vod. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha.

Dolejš P. 1996. Příručka pro čištění a úpravu vody. KEMIFLOC . Přerov.

Du P, Zhou Z, Wang Z, Xu Z, Zheng Q, Li X, He J, Li X, Cheng H, Thai PK. 2021. Analysing wastewater to estimate fentanyl and tramadol use in major Chinese cities. *Science of The Total Environment* (e148838) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148838>

Eggen T, Majcherczyk A. 1998. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 41 (2): 111–117.

Feito R, Valcárcel Y, Catalá. 2013. Preliminary data suggest that venlafaxine environmental concentrations could be toxic to plants. *Chemosphere*. 90: 2065–2069.

Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 76: 122–159.

Fojtů M. 2012. Ani čistá voda není tak úplně čistá. Masarykova univerzita. Available from <<https://www.online.muni.cz/tema/3227-ani-cista-voda-neni-tak-uplne-cista>> (accessed August 2021).

Fong PP, Hoy CM. 2012. Antidepressants (venlafaxine and citalopram) cause foot detachment from the substrate in freshwater snails at environmentally relevant concentrations. *Marine and Freshwater Behaviour Physiology*. 45: 145–153.

Gabrielli R, Mattioni C, Vergnano O. 1991. *Journal of Plant Nutrition*. 14: 1067.

Ghazouani S, Boujelbane F, Ennigrou DJ, Van der Bruggen B, Mzoughi N. 2022. Removal of tramadol hydrochloride, an emerging pollutant, from aqueous solution using gamma

irradiation combined by nanofiltration. *Process Safety and Environmental Protection*. 159: 442–451.

Hanks J, Ritchie JT. 1991. *American Society of Agronomy*. 31: 231.

Heberer T, Reddersen K, Mechlinski A. 2002. From municipal sewage to drinking water: fate and removal of pharmaceuticals residues in the aquatic environment in urban areas. *Water Science and Technology*. 46: 81–88.

Henry TB, Black MC. 2008. Acute and Chronic Toxicity of Fluoxetine (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor) in Western Mosquitofish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 54 (2): 325–330. ISSN 0090–4341, 1432–0703.

Hestbjerg H, Brinch UC, Nielsen T. 2001. Potential of *Pleurotus ostreatus* for bioremediation: Temperature requirements and competitiveness. Abstracts. SETAC Organic Soil Contaminants. Copenhagen. Denmark.

Hong M, Wang Y, Lu G. 2020. UV – Fenton degradation of diclofenac, sulpiride, sulfamethoxazole and sulfisomidine: Degradation mechanisms, transformation products, toxicity evolution and effect of real water matrix. *Chemosphere*. 258. 127351.

Huttermann A, Loske D, Majcherczyk A, Zadrazil F, Waldinger P, Lorson H. 1989. Reclamation of PAH – contaminated soils with active fungus-straw-substrata. In: *Recycling International 3*, Thome – Kozmiensky, K. J. (ed.), Berlin. 2191–2199.

Inchem. 1999. Carbamazepine. Inchem. Available from <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/pim100.htm>(accessed November 2021).

Li WC. 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental pollution*. 187: 193-201

Löffler D, Römbke J, Meller M, Ternes T A. 2005. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. *Environmental Science & Technology*. 39: 5209–5218.

Khalaf DM, Cruzeiro C, Schroder P. 2021. Removal of tramadol from water using *Typha angustifolia* and *Hordeum vulgare* as biological models: Possible interaction with other pollutants in short-term uptake experiments. *Science of Total Environment*. 22. 151164.

Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams. A National Reconnaissance. *Environmental Science & Technology*. 36: 1202–1211.

Košnář Z, Mercl F, Tlustoš P. 2018. Ability of natural attenuation and phytoremediation using maize (*Zea mays* L.) to decrease soil contents of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

derived from biomass fly ash in comparison with PAHs–spiked soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 153: 16–22.

Kotyza J, Soudek P, Kafka Z, Vaněk T. 2009. Léčiva – „Nový“ environmentální polutant. *Chemické listy*. 103: 540–547.

Kreníková V. 2014. a druhotné suroviny II. Univerzita J. E. Purkyně v Ústí n. Labem, Fakulta životního prostředí. Ústí nad Labem.

Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P. 2014. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express*. 4: 29. ISSN 2191-0855.

Kuntová K. 2020. Kontaminace kalů z čistíren odpadních vod farmaky [BSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.

Kuster A, Adler N. 2014. Pharmaceuticals in the environment: scientific evidence of risks and its regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 369 (1656): 20130587–20130587. ISSN 0962-8436, 1471–2970.

Kutil J, Dohányos M. 2005. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom*. Available from <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu-2> (accessed October 2021)

Lauren WJ, Barry M. 2017. Pryor, corresponding author. Degradation of aflatoxin B1 from naturally contaminated maize using the edible fungus *Pleurotus ostreatus*. *AMB Express*. 7: 110. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5457385/> (accessed April 2022).

Lee CR, McTavish D, Sorkin EM. 1993. Tramadol. *Drugs*. 46: 313–340.

Li M, Ding T, Wang H, Wang W, Li J, Ye Q. 2018. Uptake and translocation of <sup>14</sup>C Carbamazepine in soil – plant systems. *Environmental Pollution*. 243: 1352–1359.

Loos R, Carvalho R, Antonio DC, Comero S, Locoro G, Tavazzi S, Paracchini B, Ghiani M, Lettieri T, Blaha L, Jarosova B, Voorspoels S, Servaes K, Haglund P, Fick J, Lindberg RH, Schwesig D, Gawlik BM. 2013. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*. 17: 6475–648.

Lyčková B. 2009: Posouzení možnosti využití kalů z ČOV na povrchu terénu. *Biom*. (Available from <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/posouzeni-moznosti-vyuziti-kalu-z-cov-na-povrchu-terenu>

Maláčová K, Sehonová P, Svobodová Z. 2021. Kontaminace vod léčivými a produkty osobní péče a jejich vliv na vodní organismy. *Chemické listy*. 115: 305–311.

Malarvizhi A, Kavitha C, Saravanan M, Ramesh M. 2012. Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of King Saud University – Science* 24: 179–186.

Marco – Urrea E, Pérez – Trujillo M, Vicent T, Caminal G. 2009. Ability of white – rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere* 74: 765–772.

May R, Schröder P, Sandermann JrH. 1997. Ex – situ process for treating PAH – contaminated soil with *Phanerochaete chrysosporium*. *Environmental Science and Technology*. 31(9): 2626–2633.

Meagher RB. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology*. 3: 153–162.

Mejías C, Martín J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E. 2021. Occurrence of pharmaceuticals and their metabolites in sewage sludge and soil: A review on their distribution and environmental risk assessment (e00125) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2021.e00125>

Mercl F, Košnář Z, Najmanová J, Hazlíček T, Száková J, Tlustoš P. 2018. Hodnocení obsahu minerálních živin a rizikových prvků v anaerobně stabilizovaných kalech z ČOV. *Odpadové forum*. 1: 78.

Melvin SD. 2017. *Aquatic Toxicology*. 180: 20.

Ministerstvo životního prostředí. 2014. Plán odpadového hospodářství. Strategické cíle uvedené v POH ČR. Available from [https://www.mzp.cz/cz/plan\\_odpadoveho\\_hospodarstvi\\_cr](https://www.mzp.cz/cz/plan_odpadoveho_hospodarstvi_cr) (accessed November 2021).

Ministerstvo zdravotnictví. 2007. Zákon č. 378/2007 Sb. Zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech). Ustanovení § 88 odst. 1 zákona o léčivech. Česká republika.

Ministerstvo životního prostředí. 2020. Zákon č. 541/2020 Sb., Zákon o odpadech. § 67 Kaly (1) b). Sbíрка zákonů České republiky.

Ministerstvo životního prostředí. 2020. Zákon č. 541/2020 Sb. Zákon o odpadech. Ustanovení § 16odst. 1 písm. c) zákona o odpadech. Česká republika.

Míchal P, Hanč A, Švehla P. 2019. Vermikompostování čistírenského kalu za účelem eliminace mikropolutantů. Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze. Available from <http://www.odpadoveforum.cz/TVIP2019/prispevky/117.pdf> (Accessed March 2022).

Moeder M, Cajthaml T, Koeller G, Erbanová P, Šašek V. 2005. Structure selectivity in degradation and translocation of polychlorinated biphenyls (delor 103) with a *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) culture. *Chemosphere*. 61(9): 1370–1378.

Mompelat S, Le Bot B, Thomas O. 2009. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by – products, from resource to drinking water. *Environment international*. 35: 803–814.

Mudgal S, De toni A, Lockwood S, Sales K, Backhaus T, Halling Sorensen B. 2003. Study on the environmental risks of medicinal products. Final Report. Bio Intelligence Service. 93

National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 2554. Carbamazepine. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2554>. (accessed November 2021).

National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 3386. Fluoxetine. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3386>. (accessed November 2021).

National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 5355. Sulpiride. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5355>. (accessed November 2021).

National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 33741. Tramadol. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33741>. (accessed November 2021).

National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 5656. Venlafaxine. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Venlafaxine>. (accessed August 2021).

Novák P. Osud vybraných mikropolutantů během kompostování [MSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.

Nyer KE, Gatliff GE. 1996. Phytoremediation. *Treatment Technology*. 58.

Ortega – Calvo JJ, Tejada – Agredano MC, Jimenez – Sanchez C, Congiu E, Sungthong, R, NiquiArroyo JL, Cantos M. 2013. Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? *Journal of Hazardous Materials*. 261: 733–745.

Paxéus N. 2004. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Science and Technology*. 50: 253–260.

Perkins MW, Frederick S DE L, Dutta SK. 2005. Ligninolytic and nonligninolytic mineralization of trinitrotoluene by several white rot Basidiomycetes. *Bioremediation Journal*. 9 (2): 77–85. ISSN 1040 – 8371.

Perlík F. 2005. *Základy farmakologie*. Galén. Praha.

Perreault H, Semsar K, Godwin J. 2003. Fluoxetine treatment decreases territorial aggression in a coral reef fish. *Physiology & Behavior*. 79 (4 – )5: 719–724. ISSN 00319384.

Pitter P. 1999. *Hydrochemie*. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha.

Pointing SB. 2001. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1-2): 20–33.

Pospíšil V. 2022. Vliv žízála na chování mikropolutantů v čistírenských kalech. [MSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.

Pošta J et al. 2005. Čistírny odpadních vod. Česká zemědělská univerzita v Praze, Technická fakulta. Praha.

Randak T, Li ZH. 2009. Residual pharmaceutically active compounds (PhACs) in aquatic environment – status, toxicity and kinetics: a review. *Veterinarni Medicina*. 52: 295–314.

Ravichandran MK, Philip L. 2021. Insight into the uptake, fate and toxic effects of pharmaceutical compounds in two wetland plant species through hydroponics studies. *Chemical Engineering Journal*. 426:15.

Redshaw CH, Wootton VG, Rowland SJ. 2008. Uptake of the pharmaceutical Fluoxetine Hydrochloride from growth medium by *Brassicaceae*. *Phytochemistry*. 69. 13: 2510–2516.

Rhodes CJ. 2015. Mycoremediation (bioremediation with fungi) – growing mushrooms to clean the earth. *Chemical Speciation & Bioavailability*. roč. 26. 3: 196–198. ISSN 0954-2299.

Rúa – Gomez PC, Püttmann W. 2012. Impact of wastewater treatment plant discharge of lidocaine, tramadol, venlafaxine and their metabolites on the quality of surface waters and groundwater. *Journal of Environmental Monitoring*. 14: 1391–1399.

Santos MES, Horký P, Grabicová K, Hubená P, Slavík O, Grabic R, Douda K, Randák T. 2021. Traces of tramadol in water impact behaviour in a native European fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (e111999) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111999>

Shao Y, Yang K, Jia R, Tian C, Zhu Y. 2018. Degradation of Triclosan and Carbamazepine in two agricultural and garden soils with different textures amended with composted sewage sludge. *International Journal Environment Research Public Health*.

Schnoor JL, Licht LA, McCutcheon CS, Wolfe NL, Carreira LH. 1995. Environmental Science and Technology. 29: 318.

Silva LJG, Lino CM, Meisel LM, Pena A. 2012. Selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) in the aquatic environment: an ecopharmacovigilance approach. Science Total Environment. 437: 185–195.

*Singh SK, Khajuria R, Kaur L. 2017. Biodegradation of ciprofloxacin by white rot fungus Pleurotus ostreatus. Biotechnology. 7: 69.*

Singh H. 2006. Mycoremediation: fungal bioremediation. Hoboken, N. J.: WileyInterscienc – 0–471 – 75501 – 2.

Sociálně odpovědné veřejné zadávání. 2016. Nakládání s odpady. Přednostní využití odpadů. Available from <https://www.sovz.cz/predmety/nakladani-s-odpady/> (accessed November 2021).

Sossalla NA, Nivala J, Reemtsma T, Schlichting R, König M, Forquet N, Manfred van Afferden, Müller RA, Escher BI. 2021. Removal of micropollutants and biological effects by conventional and intensified constructed wetlands treating municipal wastewater. Water Research (e117349). DOI: <https://doi-org.infozdroje.czu.cz/10.1016/j.watres.2021.117349>

Soudek P, Petrová Š, Benešová D, Kotyza J, Vaněk T. 2008. Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. Chemické Listy. 102: 346–352.

Slíva J, Votava M. 2010. Farmakologie. Lékařské Repetorium. Praha

Smrček S. 2014. Cesty k odmoření vod. Vesmír. Available from <https://vesmir.cz/2014/07/16/cesty-odmoreni-vod/> (accessed November 2021)

Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2009. Příloha č. 2 k rozhodnutí o změně registrace sp.zn.sukls245883/2009. Souhrnné údaje o přípravku. Státní ústav pro kontrolu léčiv. Praha.

Stephens A, Fuller M. 2009. Sewage Treatment: Uses, Processes and Impact, Nova Science Publishers, Incorporated, New York.

Strerath F. 2020. Uni – Projekt – Recycling von alten Medikamenten. Available from <https://www.br.de/nachrichten/bayern/uni-projekt-recycling-von-alten-medikamenten,RnL4iiM>. (Accessed November 2021).

Sun W, Zaman WQ, Cao LM, Yang J. 2017. Tunnel Structure  $K_{x=0.25}IrO_2$  Catalyst Anchored on Three-Dimensional Ti Foam as an Efficient Anode for Sulpiride Degradation. Electrochimica Acta. 247: 163–170.





Wang Z, Zhang X, Huang Y, Wang H. 2015. Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China. *Environmental Pollution*. 204: 223–232.

Wanner. 2019. Čištění odpadních vod v ČR, vývoj a současná situace. *Vodní hospodářství*. Available from <http://vodnihospodarstvi.cz/cistení-odpadních-vod-cr/> (accessed August 2021).

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

Xia SQ, Zhao HT, Wu YF, Han SW, Mi WH, Kanf YJ, Hu J, Feng K. 2020. Effect of feeding conditions on the degradation of tetracycline in sewage sludge by earthworm. *Biochemical Engineering Journal* 160:107608.

Xie H, Chen J, Huang Y, Zhang R, Chen CH, Li X, Kadokami K. 2020. Screening of 484 trace organic contaminants in coastal waters around the Liaodong Peninsula, China: Occurrence, distribution, and ecological risk. *Environmental Pollution* (e115436). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115436>

Zhang L, Carvalho PN, Bollmann UE, El – taliawy H, Brix H, Bester K. 2019. Enhanced removal of pharmaceuticals in a biofilter: Effects of manipulating co-degradation by carbon feeding. *Chemosphere*. 236.124303. Dalahmeh SS, Thorsén G, Jonsson H. 2021. Open-air storage with and without composting as post-treatment methods to degrade pharmaceutical residues in anaerobically digested and dewatered sewage sludge. *Science of Total Environment*. 806. 151271.

Zhang T, Cai L, Xu B, Li, X, Qiu W, Fu C, Zheng C. 2019. Sulfadiazine biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*: Mechanism and degradation product identification. *Chemosphere* (e124418). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124418>

Zhang Y, Geissen SU, Gal C. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*. 73: 1151–1161.

Zhang Z, Wang B, Yuan H, Ma R, Huang J, Deng S, Wang Y, Yu G. 2016. Discharge inventory of pharmaceuticals and personal care products in Beijing, China. *Emerging Contaminants*. 2.3: 148–156.

Zheng G, Yu B, Wang Y, Ma Ch, Chen T. 2020. Removal of triclosan during wastewater treatment process and sewage sludge composting – A case study in the middle reaches of the Yellow River. *Environment International*. 134. (e105300). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105300>

## Obrázky:

Obrázek 1: Zkumavky v centrifuze (zdroj vlastní)

Obrázek 2: Zkumavky se supernanatem (zdroj vlastní)

Obrázek 3: Vialky k analýze (zdroj vlastní)

Obrázek 4: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Pleurotus*)

Obrázek 5: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Irpex*)

Obrázek 6: Statické zhodnocení dat půdy, karbamazepin (*Phanerochaete*)

Obrázek 7: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Pleurotus*)

Obrázek 8: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Irpex*)

Obrázek 9: Statické zhodnocení dat půdy, tramadol (*Phanerochaete*)

Obrázek 10: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Pleurotus*)

Obrázek 11: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Irpex*)

Obrázek 12: Statické zhodnocení dat půdy, Venlafaxin (*Phanerochaete*)

Obrázek 13: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Pleurotus*)

Obrázek 14: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Irpex*)

Obrázek 15: Statické zhodnocení dat půdy, sulpirid (*Phanerochaete*)

Obrázek 16: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Pleurotus*)

Obrázek 17: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Irpex*)

Obrázek 18: Statické zhodnocení dat půdy, fluoxetin (*Phanerochaete*)

## Grafy

Graf 1: Produkce čistírenských kalů na území ČR v období 2009 – 2021 (Český statistický úřad)

Graf 2: Počet balení vydaných léčiv v roce 2021 dle Súkl.cz

Graf 3: Obsah karbamazepinu v půdě v čase T3

Graf 4: Obsah tramadolu v půdě v čase T3

Graf 5: Obsah venlafaxinu v půdě v čase T3

Graf 6: Obsah sulpiridu v půdě v čase T3

Graf 7: Obsah fluoxetinu v půdě v čase T3

Graf 8: Koncentrace karbamazepinu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

Graf 9: Koncentrace karbamazepinu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Graf 10: Koncentrace tramadolu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

Graf 11: Koncentrace tramadolu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Graf 12: Koncentrace venlafaxinu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

Graf 13: Koncentrace venlafaxinu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Graf 14: Koncentrace sulpiridu v půdním roztoku bez rostliny kukuřice

Graf 15: Koncentrace sulpiridu v půdním roztoku s rostlinou kukuřice

Graf 16: Dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku (bez rostliny)

Graf 17: Dostupnost karbamazepinu v půdním roztoku (s rostlinou)

Graf 18: Dostupnost tramadolu v půdním roztoku (bez rostliny)  
Graf 19: Dostupnost tramadolu v půdním roztoku (s rostlinou)  
Graf 20: Dostupnost venlafaxinu v půdním roztoku (bez rostliny)  
Graf 21: Dostupnost venlafaxinu v půdním roztoku (s rostlinou)  
Graf 22: Dostupnost sulpiridu v půdním roztoku (bez rostliny)  
Graf 23: Dostupnost sulpiridu v půdním roztoku (s rostlinou)  
Graf 24: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro kontrolní variantu  
Graf 25: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Pleurotus*  
Graf 26: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*  
Graf 27: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Irpex*  
Graf 28: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro kontrolní variantu  
Graf 29: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Pleurotus*  
Graf 30: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*  
Graf 31: Rozložení obsahu tramadolu v rostlině pro variantu *Irpex*  
Graf 32: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro kontrolní variantu  
Graf 33: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Pleurotus*  
Graf 34: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Phanerochaete*  
Graf 35: Rozložení obsahu karbamazepinu v rostlině pro variantu *Irpex*

## Tabulky:

Tabulka 1: Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě (ukazatele pro hodnocení kalů) podle vyhlášky č. 273/2021 Sb.

Tabulka 2: Průměrné koncentrace léčiv v sušině kalů v České republice (Kuntová, 2020)

Tabulka 3: Úroveň 1 kódu ATC – hlavní skupiny léčiv dle WHO

Tabulka 4: Charakteristika použité půdy (Košnář et al., 2018)

Tabulka 5: Desing experimentu (varianta bez rostliny kukuřice)

Tabulka 6: Desing experimentu (varianta s rostlinou kukuřice)

Tabulka 7: Průměrné naměřené hodnoty pH půdního roztoku v různých časech

Tabulka 8: Obsahy léčiv v aplikovaném kalu

Tabulka 9: Průměrný souhrnný podíl odstraněných léčiv z půdy v %

Tabulka 10: Aplikovaná dávka léčiv na nádobu (ng)

Tabulka 11: Přehled hodnot přístupného podílu léčiv v procentech (průměr všech časů)

Tabulka 12: Průměrný výnos biomasy rostlin v g sušiny na nádobu se statistikou odlišnosti mezi variantami a sumy nadzemní a celkové biomasy pro jednotlivé varianty

Tabulka 13: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (kořen)

Tabulka 14: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (stonek)

Tabulka 15: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (list)

Tabulka 16: Průměrné koncentrace léčiv v biomase + směrodatná odchylka (zrno)

Tabulka 17: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru karbamazepinu biomasou v ng

Tabulka 18: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru tramadolu biomasou v ng

Tabulka 19: Průměrné hodnoty (+ směrodatná odchylka) odběru venlafaxinu biomasou v ng

Tabulka 20: Průměrné hodnoty odběru fluoxetinu biomasou v ng

Tabulka 21: Biokoncentrační faktor (karbamazepin)

Tabulka 22: Biokoncentrační faktor (tramadol)

Tabulka 23: Biokoncentrační faktor (venlafaxin)

Tabulka 24: Translokační faktor (karbamazepin)

Tabulka 25: Translokační faktor (tramadol)

Tabulka 26: Translokační faktor (venlafaxin)

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

ATC – Anatomicko – terapeuticko – chemická klasifikace

PAHs – Polycyklické aromatické uhlovodíky

PCP – Pharmaceutical and personal care product (léčiva a produkty osobní péče)

FA – Formic acid (kyselina mravenčí)

EDTA – Ethylenediaminetetraacetic acid (kyselina ethylendiamintetraoctová)

SSA – Sulfosalicylic acid (kyselina sulfosalicylová)

MeOH – Methanol

MilliQ – voda

RPM – revolution per minute (otáčky za minutu)

PCB – Polychlorované bifenyly

PAH – Polycyklické aromatické uhlovodíky

O<sub>2</sub> – Kyslík

C – Uhlík

UHPLC – QTOF – MS: The ultra – high performance liquid chromatography – quadrupole time – of – flight mass spektrometry (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí)