



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VLIV OBSAHU ORGANICKÉ HMOTY A VÁPNIKU NA IMOBILIZACI LÉČIV V PŮDĚ

INFLUENCE OF CONTENT OF ORGANIC MATTER AND CALCIUM ON IMMOBILIZATION OF
PHARMACEUTICALS IN SOIL

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Viktória Kotradyová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková,
Ph.D.

BRNO 2024

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1945/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Viktória Kotradyová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Procesy a materiály medicínských aplikací
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv obsahu organické hmoty a vápníku na imobilizaci léčiv v půdě

Zadání diplomové práce:

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

Termín odevzdání diplomové práce: 29.4.2024:

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

Bc. Viktória Kotradyová
studentka

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

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Zámerom tejto diplomovej práce bolo poukázať na problematiku výskytu antibiotík v prírode, predovšetkým tetracyklínu. Vysoká celosvetová spotreba, limitovaná metabolizácia v organizme a neúplná degradácia v ČOV sú príčiny, prečo sú farmaceutiká nachádzané v životnom prostredí. Ich prítomnosť môže negatívne vplývať na prírodný ekosystém, vrátane ľudí. Je preto dôležité zaoberať sa ich správaním a hľadať riešenia, ako ich z prírody odstrániť. Samotná pôda má samočistiacu schopnosť, dokáže tieto polutanty imobilizovať do štruktúr organických látok a zabrániť tak ich následnej migrácii. Prítomnosť anorganických katiónov v pôde zohráva podstatnú úlohu pri sorpčnom procese antibiotík. Konkrétne pri tetracyklíne je nutné brať v úvahu aj ióny vápnika z pôdy, s ktorými tvorí chelatačné komplexy.

V praktickej časti boli sorpčnými a desorpčnými experimentami sledované interakcie tetracyklínu s pôdnymi systémami. Boli skúmané štyri pôdy s rôznym obsahom organickej hmoty a vápnika. Tetracyklín sa s vysokou účinnosťou adsorboval do všetkých štyroch pôd. Desorpčné procesy vykazovali nízku účinnosť a poukázali na stabilnú adsorpciu v pôde. Experimentálne dáta boli preložené Langmuirovou a Freundlichovou izotermou, kde druhá spomínaná je vhodná pre tri zo štyroch pôd. Následne boli prevedené sorpčné a desorpčné experimenty v pufoch so štyrmi rôznymi pH hodnotami (3, 5, 7 a 10). Vplyv pH na sorpcie nebol markantný, pri desorpciách boli sledované vyššie desorbované množstvá tetracyklínu pri nižších pH. Pre zistenie rýchlosti degradácie tetracyklínu na svetle bola sledovaná jeho fotodegradácia v roztoku. Výsledky ukazujú, že po 29. dňoch jeho koncentrácia klesla o 22 % z pôvodnej koncentrácie. Kvantitatívna analýza prebiehala pomocou UV-VIS spektroskopie a kvapalinovej chromatografie. Pre získanie informácií o sorpčnom mechanizme boli zmerané FTIR spektrá pôd.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Tetracyklín, sorpcie, desorpcie, pH, fotodegradácia

ABSTRACT

This thesis aimed to highlight the problem of antibiotics and their presence in nature, particularly tetracycline. High global consumption, limited metabolism in the body and incomplete degradation in wastewater treatment plants represent the reasons why pharmaceuticals have been found in the environment. Their presence might have a negative impact on the natural ecosystem, including humans. Therefore, addressing their behaviour and finding solutions for their removal from nature seems important. The soil itself has a self-cleaning capacity, which may immobilise these pollutants into organic structures to prevent their subsequent migration. The presence of inorganic cations in soil plays an essential role in the sorption process of antibiotics. Calcium ions from the soil with whom the tetracycline forms chelate complexes, should be also taken into account.

Regarding the practical part, tetracycline interactions with soil systems were studied in both sorption and desorption experiments. Four soils with different amounts of organic matter and calcium have been examined. Tetracycline was extensively adsorbed to all four soils. Desorption processes showed low efficiency and refer to stable adsorption onto soil. The experimental data were fitted by Freundlich and Langmuir isotherms, where the second mentioned is suitable for three of the four soils. Subsequently, sorption and desorption experiments were conducted in four different pH buffers (3, 5, 7 and 10). The effect of pH on sorption was not significant, however during desorption at lower pH higher desorbed levels of tetracycline were observed. Photodegradation of tetracycline in solution was investigated to determine the rate of degradation of tetracycline on light, where the results indicated that the concentration decreased by 22 % after 29 days compared to the applied concentration. Quantitative analysis was carried out using UV-VIS spectroscopy and liquid chromatography. In addition, the soil spectra of the FTIR were measured to obtain information on the sorption mechanism.

KEYWORDS

Tetracycline, sorption, desorption, pH, photodegradation

KOTRADYOVÁ, Viktória. *Vliv obsahu organické hmoty a vápníku na imobilizaci léčiv v půdě* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-03-26]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156508>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Martina Klučáková.

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som túto diplomovú prácu vypracovala samostatne a všetky použité literárne zdroje som správne a úplne odcitovala. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....
podpis študenta

POĎAKOVANIE

Touto cestou by som rada poďakovala vedúcej diplomovej práce pani prof. Ing. Martine Klučákovej, Ph.D. za poskytnuté odborné znalosti, usmernenia a konzultácie pri riešení problematiky práce. Veľké poďakovanie patrí tiež Ing. Petre Závodskej za jej ochotu, čas, cenné rady a pomoc pri vypracovávaní experimentálnej časti práce. Na záver by som sa chcela poďakovať svojej rodine a priateľom za podporu počas celého štúdia.

Obsah

ÚVOD	8
1 TEORETICKÁ ČASŤ	9
1.1 Antibiotiká	9
1.1.1 Tetracyklín	9
1.1.2 Vápnik a tetracyklín	11
1.1.3 Fotodegradácia	11
1.2 Pôda	12
1.2.1 Vlastnosti pôdy	12
1.2.2 Organická zložka pôdy	14
1.2.3 Interakcie pôdných minerálov	16
1.3 Antibiotiká v prírode	17
1.3.1 Zdroje kontaminácie	17
1.3.2 Mobilita v prírode	18
1.3.3 Výskyt v životnom prostredí	19
1.4 Eliminácia tetracyklínu	21
1.5 Sorpcia a desorpcia v pôde	22
1.5.1 Vplyv organickej zložky a minerálov	23
1.5.2 Vplyv pH	24
1.5.3 Matematický aparát	24
2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	26
3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	31
3.1 Laboratorné vybavenie a chemikálie	31
3.1.1 Použité chemikálie	31
3.1.2 Použité prístroje	31
3.2 Charakterizácia pôd	31
3.3 Prípravy a postupy	31
3.3.1 Príprava roztokov TC	31
3.3.2 Postup sorpčných experimentov	32
3.3.3 Postup desorpčných experimentov	32
3.3.4 Vplyv pH prostredia	33
3.3.5 Fotodegradácia	35
3.4 Využité analytické metódy	35
3.4.1 UV-VIS spektroskopia	35
3.4.2 HPLC	36
3.4.3 FTIR	36
4 VÝSLEDKY A DISKUSIA	37
4.1 Porovnanie sorpčných experimentov	37
4.1.1 Hodnoty pH a vodivosti	40
4.1.2 Adsorpčné izotermy	42
4.1.3 Stanovenie interakcií metódou FTIR	44
4.2 Porovnanie desorpčných experimentov	46
4.2.1 Hodnoty pH a vodivosti	48
4.3 Vplyv pH prostredia na sorpcie	50
4.4 Vplyv pH prostredia na desorpcie	53
4.5 Fotodegradácia tetracyklínu	56

ZÁVER	59
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	61
ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV	66
PRÍLOHY	67

ÚVOD

Neustály nárast populácie vedie k zvýšenému výskytu ochorení a k produkcii nových foriem liečiv. Cielové organizmy nemajú schopnosť ich úplnej metabolizácie, z odpadových vôd sú často nedokonale odstránené, a tak končia v životnom prostredí. Zdrojmi ich vstupu do prírody sú aj farmaceutické spoločnosti, nesprávna likvidácia a odpadný materiál pochádzajúci z veterinárnej a humánnej medicíny. Osud závisí od ich chemickej povahy a od charakteru prostredia. Samotné antibiotiká boli nájdené v povrchových a podzemných vodách, pôdach ale aj v ovzduší. Ich pôsobenie na neželanom mieste môže vyvolať množstvo zdravotných a ekologických problémov keďže sa voči nim vytvorí bakteriálna rezistencia. Antibiotický účinok môže byť eliminovaný a rezistentné mikroorganizmy sa môžu transportovať skrz potravinový reťazec. Pre odstránenie antibiotík z odpadných vôd sú využívané rôzne mechanizmy, napríklad zachytávanie filtrami, degradácia ozónom alebo novšie technológie s využitím nanočastíc. V prírode poskytuje riešenie samotná pôda. Komplexnosť a dostupnosť rôznorodých zlúčenín, najmä organickej časti jej dáva samočistiacu schopnosť. Môže antibiotiká naviazať do svojich objemných štruktúr a udržať ich. Obmedzí sa ich následná mobilita do vody a pôsobenie na ďalšie organizmy. Vo vedeckej sfére rastie záujem problematiky, ktorá sa zaoberá týmito organickými polutantami v životnom prostredí. Mnoho vedeckých štúdií skúma ich koncentrácie vo vodných a pôdných systémoch, iné sa sústreďujú na štúdium interakcií medzi organickou zložkou, kationmi kovov alebo aj rôznymi antibiotikami medzi sebou. Niektoré sledujú ich správanie, konkrétny škodlivý dopad na organizmy alebo ich degradačné produkty.

V náväznosti na teoretické zistenia a početný výskyt antibiotík v prírode bol vybraný tetracyklín ako ich zástupca pre experimentálnu časť práce. Pre získanie informácií o možných procesoch pri jeho vypustení do prírody boli prevedené vsádzkové experimenty so sledovaním sorpcie na pôdu. Pre určenie vplyvu organickej hmoty a vápnika na sorpčné a desorpčné experimenty boli sledované rozdiely v štyroch pôdach s rôznym zložením. Tetracyklín tvorí komplexy s vápenatými iónmi a organická hmota vplýva na ich naviazanie do pôdy. Získané dáta boli preložené Langmuirovou a Freundlichovou izotermou. V ďalšej časti práce bol skúmaný vplyv pH na tieto deje. Na základe informácie o jeho degradácii na svetle bolo skúmané v akom časovom horizonte sa jav uskutočňuje. Dôvodom bolo najmä zistiť, v akej miere je možné so vzorkami pracovať na svetle, aby sa obmedzila jeho eliminácia. Využívané analytické metódy boli UV-VIS spektroskopia, kvapalinová chromatografia a infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou. Využitie prírodného systému je jednoduchou, dostupnou a efektívnou metódou pre degradáciu a obmedzenie šírenia antibiotík v životnom prostredí.

1 TEORETICKÁ ČASŤ

1.1 Antibiotiká

Liečivá sú osobitnou kategóriou terapeutických látok, ktoré našli svoje využitie pri liečení a predchádzaní chorôb u ľudí a zvierat [1]. Antibiotiká sú chemické zlúčeniny schopné liečiť infekčné choroby narušením vývoja bakteriálnych patogénov bez ohrozenia ľudských buniek. Vznikajú ako sekundárne metabolity baktérií, aktinomycét a húb so schopnosťou bránenia rastu a šírenia ďalších mikroorganizmov [2, 1].

Podľa mechanizmu účinku môžeme mikrobiálnu aktivitu členiť do 5 skupín: inhibícia syntézy bunkovej steny (β -laktamy, glykopeptidy), inhibícia syntézy bielkovín (aminoglykosidy, tetracyklíny, makrolidy, oxazolidíny), inhibícia syntézy nukleových kyselín (fluorochinolóny), inhibícia metabolických ciest (sulfónamidy) a inhibícia funkcie bakteriálnej membrány (polymyxiny)[3].

Ako stáročia využívané látky nabrali v posledných rokoch na popularite a celosvetovo sú užívané vo vysokej miere. Podľa štatistických údajov, ročná spotreba antibiotík je na celom svete 10 000 až 20 000 ton [4]. Iný prieskum porovnával celosvetovú spotrebu antibiotík medzi rokmi 2000 a 2018. Výsledok ukázal zvýšenie o 46 % [5]. Podľa nedávneho prieskumu sú tretou najväčšou skupinou liekov na svete [6]. V humánnej a veterinárnej medicíne je celosvetovo zaregistrovaných viac ako 250 rôznych antibiotík [7]. Podľa údajov z roku 2015 sa za posledných 10 rokov zvýšil predaj a užívanie antibiotík o 30 % v 71 krajinách [8]. V roku 2010 bola vykonaná celosvetová štúdia, ktorá odhadla spotrebu antibiotík pre potravinárske zvieratá. Zverejnená hodnota sa rovnala 63 151 tonám, pričom najvyššia bola v Číne, Indii a v európskych poľnohospodárskych regiónoch (Španielsko 1 300 ton, Poľsko 779 ton, Taliansko 669 ton, Nemecko 602 ton). Údaj z roku 2015 hovorí, že každoročne sa v Číne sa užíva celkovo 150 až 200 tisíc ton antibiotík, z čoho 46 % vo veterinárnom sektore. Štatistika pre Európske krajiny ukázala, že konzumácia tetracyklínov vo veterinárnom zdravotníctve je takmer 2300 ton, čo zodpovedá 66 % celkovej spotreby antibiotík [7]. Podobne údaj z USA z roku 2015 ukázal, že najviac používanými antibiotikami pre veterinárnu medicínu boli tetracyklíny so 71 % (6 880 ton) [9]. Vďaka ich používaniu sa zvýšila kvalita života a znížila úmrtnosť [5]. Avšak stále nie sú podrobne preskúmané ich nežiadúce účinky v životnom prostredí a vplyv na ľudské zdravie. Človek alebo zvieratá nedokážu absorbovať aplikované množstvo antibiotika, pričom je absorbovaných iba 30–90 % a väčšia časť je vylúčená močom a výkalmi [10].

1.1.1 Tetracyklín

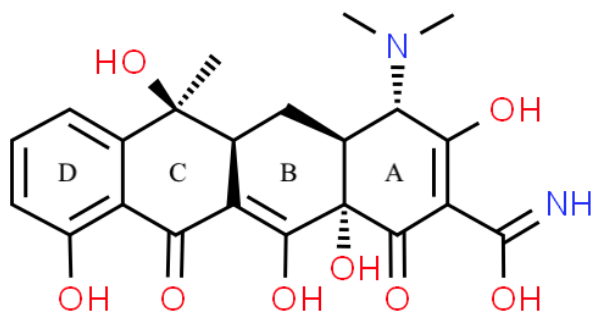
Tetracyklín (TC) je širokospektrálne polyketidové antibiotikum produkované baktériami s názvom *Streptomyces* [11]. Fyzikálne a chemické vlastnosti sú zobrazené v tabuľke 1.1.

Tab. 1.1: Fyzikálne a chemické vlastnosti tetracyklínu [7, 11, 12]

Teplota topenia ($^{\circ}\text{C}$)	172,5
Molekulová hmotnosť (g/mol)	444,4
Rozpustnosť vo vode (mg/dm^3)	231
pKa	3,26; 7,7; 9,4
Polčas rozpadu (h)	6–12
Toxicita LD50 (mg/kg)	808
Log k_{OW}	–1,37
Henryho konštanta (atm^3/mol)	$3,45 \cdot 10^{-24} - 3,91 \cdot 10^{-26}$

Žltá kryštalická štruktúra vychádza z prítomnosti stabilného tetracyklického jadra a funkčných skupín ako fenol-hydroxylovej skupiny (Ph–OH), dimetylamino skupiny ($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), acylaminovej skupiny ($-\text{CONH}_2$) a ketoenol konjugovaného systému dvojitéch väzieb (obrázok 1.1)

[10]. Tetracyklín je amfotérna zlúčenina s viacerými ionizovateľnými skupinami. Medzi hodnotami pH 3,3 (pK_{a1}) a pH 7,7 (pK_{a2}) sa vyskytuje vo forme zwitteriónu (kladný aj záporný náboj). Pri nižších pH je vo forme kationu a pri vyšších pH prevláda aniónová forma [13].



Obr. 1.1: Chemická štruktúra tetracyklínu [11]

Jeho bakteriostatický účinok na gram pozitívne aj negatívne bakteriálne patogény spočíva v tom, že sa viaže reverzibilne a špecificky na vysoko afinitné väzbové miesto A bakteriálnej podjednotky 30S ribozómu a blokuje prichádzajúcu aminoacylovú tRNA pred viazaním na tomto mieste ribozómu. Taktiež sa v určitej miere viaže na bakteriálnu ribozomálnu podjednotku 50S a môže meniť cytoplazmatickú membránu spôsobujúcu únik intracelulárnych zložiek (nukleotidov) z bakteriálnych buniek. Cieľom a výsledkom tejto väzby je blokácia syntézy bielkovín v baktériách, čo má za následok inhibíciu ich rastu a reprodukcie. Do vnútra bunky sa dostáva pasívnou difúziou cez porinové kanáliky v bakteriálnej membráne. Biologická dostupnosť je pri intramuskulárnom podaní nižšia ako 40 %, intravenózne 100% a 60–80 % perorálne. Potrava a mlieko znižujú gastrointestinálnu absorpciu o 50 % pri perorálnom podaní. Eliminácia začína v pečeni, prechádza do žlči a vylučuje sa močom a výkalmi v biologicky aktívnej forme [11, 14].

Tetracyklínové antibiotiká sú vyvíjané v troch generáciách: prvú tvoria prirodzené tetracyklíny ako oxytetracyklín (OTC), chlortetracyklín (CTC) a tetracyklín. Druhá generácia pozostáva zo zlúčenín s modifikovanými postrannými reťazcami ako sú doxycyklín (DX) a minocyklín (MC). Polosynteticky bola zostrojená aj tretia generácia, do ktorej je zaradený tigecyklín (TG). Zmena postranných reťazcov ukázala zlepšenie farmakologických vlastností a vyššiu antibakteriálnu aktivitu [14].

Prvé antibiotikum z triedy tetracyklínov bolo objavené v roku 1948 Benjaminom Duggarom [7]. Ako komerčný produkt sa v priebehu 68 rokov stal obľúbeným z dôvodu širokospektrálneho využitia, praktickým orálnym podávaním, absenciou vedľajších účinkov a nízkymi výrobnými nákladmi [6]. Využíva sa v humánnej a veterinárnej medicíne (hovädzí dobytok, ošípané, hydina, rybne hospodárstvo) vďaka vysokej účinnosti a relatívne nízkej cene [4, 15]. Príklady liečených bakteriálnych infekcií sú týfus, infekcie z kliešťov, Q horúčka, kiahne, horúčka Skalístých hôr a Brill-Zinsserova choroba. Vďaka jeho vplyvu na rastový faktor slúži aj ako doplnková látka v krmivách pre zvieratá. Taktiež sa používa na liečenie infekcií pôvodcom od Chlamýdií, ochorenie horných dýchacích ciest alebo pri liečbe akné. Jeho vlastnosti umožňujú jeho alternatívne využitie k penicilínu [2, 11].

1.1.2 Vápnik a tetracyklín

V posledných rokoch sa skúma súvislosť biologickej aktivity tetracyklínu spojená s vápnikom. Tento vo vysokej miere vyskytujúci sa minerál v ľudskom tele a v pôde vytvára s tetracyklínom komplexy, ktoré ovplyvňujú absorpciu a biologickú dostupnosť. Transport TC je v krvnej plazme realizovaný vápenatými komplexmi. Z tohto dôvodu nie je odporúčané konzumovať ho s mliekom a mliečnymi výrobkami, pretože tvorba komplexov zníži jeho absorpciu [16].

Účinok tetracyklínu môže byť dôsledkom jeho interakcie s vápnikom. Napríklad minocyklín a doxycyklín môžu inhibovať vstrebávanie mitochondriálneho Ca^{2+} , čím potláčajú vápnikom indukovaný mitochondriálny prestup. Apoptóza buniek vyvolaná tetracyklínmi môže byť tiež následkom ich interakcie s vápnikom podmienenými bielkovinami. Najznámejší mechanizmus, ktorým je vysvetlená bakteriálna rezistencia na tetracyklíny, je práve chelatácia kovovými iónmi. Membránový proteín v rezistentnej baktérii sprostredkúva antiport a spája tok monokatiónového kovového komplexu tetracyklínu z bunky a jedného protónu do bunky [6].

Naviazanie vápnika závisí na pH a ním závislej protonizácie elektrón donorových funkčných skupín TC (H_3TC , H_2TC^\pm , H_2TC^- , HTC^{2-} a TC^{3-}). Disociačné konštanty jednotlivých prechodov sú uvedené v tabuľke 1.1 [6]. Pri porovnávaní naviazania vápnika na TC, MC a TG vykazovali MC a TG v neutrálnom pH silnejšiu väzbu v dôsledku prítomnosti elektrón donorovej dimetylamínovej skupiny. Stechiometria komplexov je pri pH 6,8 a 7,5 pre tieto deriváty rovnaká ($1Ca^{2+}:3MC$ a $2Ca^{2+}:3TG$). TC tvorí komplexy pri pH 6,8 v pomere $1Ca^{2+}:3TC$, nad pH 7,5 sú komplexy typu $1Ca^{2+}:1TC$. Predpokladané koordinačné miesta je O11 – O12, pre TG aj dusík amino skupiny [16].

1.1.3 Fotodegradácia

Citlivosť na svetlo a fotodegradácia antibiotík môže viesť k tvorbe rozličných metabolitov [17].

Rôzne štúdie ukazujú, že tetracyklín v roztoku je náchylný na zmenu štruktúry pri rôznych svetelných zdrojoch. Odlišuje sa najmä tým, že je schopný podľahnúť samoiniciovanej fotolýze. Po absorbovaní fotónov aromatickými kruhmi sa dostávajú do excitovaného stavu a prenášajú energiu na iné molekuly. Tie produkujú reaktívne molekuly kyslíka, ktoré nepriamo degradujú tetracyklín. Aké formy kyslíka vzniknú závisí na pôsobiacej vlnovej dĺžke. Avšak presný mechanizmus, ktorým tento proces prebieha v prírode nie je jasne vysvetlený. Dôležitú rolu zohráva rozpustená organická hmota. Wang et al.(2016) potvrdili jej dôležitosť pri nepriamej fotodegradácii. Ďalšia výskumná skupina zistila, že organická hmota má duálny účinok: pri nízkych koncentráciách podporuje fotodegradáciu a pri vysokých koncentráciách a zásaditejšom pH dochádza ku inhibícii [15, 18].

Pri sledovaní prídavku kovových iónov vykazoval Fe^{3+} v neutrálnom pH zintenzívnenie degradácie, pri zvýšení pH na 8 sa pozoroval inhibičný účinok. Komplexy, ktoré tvorí TC s Mn^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} sú reverzibilné a ovplyvňujú ich správanie na svetle [15, 18]. Fotodegradácia vzniknutého chelátu $TC - Ca^{2+}$ bola zintenzívnená v dôsledku väzby vápnika na pozície O1 a O10–O12, čím sú elektróny dusíka na C4 dostupné pre elektrofilný atak [6]. Pri tvorbe komplexov TC s kovmi sa pri pH 9 elektróny dusíka z dimethyl amínovej skupiny súťažia s BCD systémom¹ o naviazanie kovových iónov. To je dôvodom zanedbateľných rozdielov medzi fotodegradáciou komplexov s Ca^{2+} a Mg^{2+} pri pH>9 [6]. Pri skúmaní vplyvu pH bolo zistené, že z dôvodu rôznej disociácie pri rozličných hodnotách pH sa nepriama fotodegradácia oxytetracyklínu zvyšovala so zvyšujúcou sa hodnotou pH roztoku [15, 18].

V niektorých prípadoch je jav fotodegradácie neželaný, avšak pri odstraňovaní antibiotík z povrchových vôd zohráva dôležitú úlohu. Fotokatalýza je hromadne skúmaná a nádejná technológia na redukciu antibiotík, pretože nepotrebuje prídavné chemikálie a je možné ju vykonávať za bežných podmienok [10]. Nevratné štrukturálne zmeny indukované svetlom môžu byť spôsobené

¹prvé 3 cyklické jadrá

priamo alebo nepriamo. Ich cesta závisí od štruktúry a substituentov. Antibiotiká s chromoforickými prvkami (ako sú aromatické kruhy) priamo absorbujú fotóny a degradujú. Reaktívne produkty vznikajúce pri fotochemických reakciách vo vode, napríklad kyslík (O_2) a hydroxylový radikál ($\cdot OH$), môžu napomáhať nepriamej fotodegradácii antibiotík. Dôležitú rolu pri oboch typoch zohráva prírodná rozpustená organická hmota [18]. Je dôležité si uvedomiť, že pri sledovaní fotodegradácie v prírodných systémoch nedokáže samotná fotolýza eliminovať tetracyklín, z dôvodu obmedzeného prísunu svetla a prítomnosti vyššej koncentrácie TC [17]. Súhrne je nutné brať v úvahu vplyv nespočetne veľkého množstva faktorov.

1.2 Pôda

Pôda je najzákladnejším nenahraditeľným prírodným rezervoárom mnohých látok. Komplexnosť vychádza z prítomnosti minerálnych zložiek v podobe piesku a ílu; organických zbytkov pôvodom z rastlín a živých organizmov; vzduchu a vody. Dynamická a rôznorodá biodiverzita je tvorená od mikroskopických malých baktérií cez hlistovcov a roztoče až po dážďovky, krtovej a myši. Slúži ako najväčší aktívny pevninský zásobník v celosvetovom uhlíkovom cykle. Zabezpečuje fungovanie ekosystému, ktorý je kľúčový pre život ľudí a ochranu prírody. Z množstva aktivít je dôležitá cirkulácia vody a živín [19, 20].

Pôda vzniká procesom, nazývaným pedogenézia. Zahŕňa odnos rôznych látok z pôdnej hmoty a prínos nových, rozklad minerálnych a organických zlúčenín s tvorbou iných. Každý individuálny pôdotvorný proces závisí na klimatických podmienkach a vplyvujúcich faktoroch [21]. Na základe hlavných rysov ich vzniku sa v Českej republike používa roztriedenie pôd do referenčných tried. Radia sa sem leptosoly, regosoly, fluvisoly, vertisoly, černosoly, luvisoly, stagnosoly, antroposoly...[22].

Pôda sa skladá v priemere z 45 % minerálov (hlina, piesok, kamene), 25 % vody, 25 % vzduchu a 5 % organickej hmoty [23].

V posledných rokoch spôsobuje neustála ľudská činnosť obavy o stav životného prostredia. Zdroje uvádzajú, že antropogénna činnosť má vplyv na 70 % celosvetovej pôdy [19]. Hlavnými hrozbami pre degradáciu pôdy je vplyv kontaminantov, dôsledky zmeny klímy (suchá a povodne), rýchla expanzia a neudržateľné riadenie agroekosystémov [19, 20].

1.2.1 Vlastnosti pôdy

Pre definovanie a začlenenie jednotlivých pôd je potrebné brať v úvahu ich fyzikálne, chemické a geologické vlastnosti. V ďalších sekciách sú objasnené niektoré z nich.

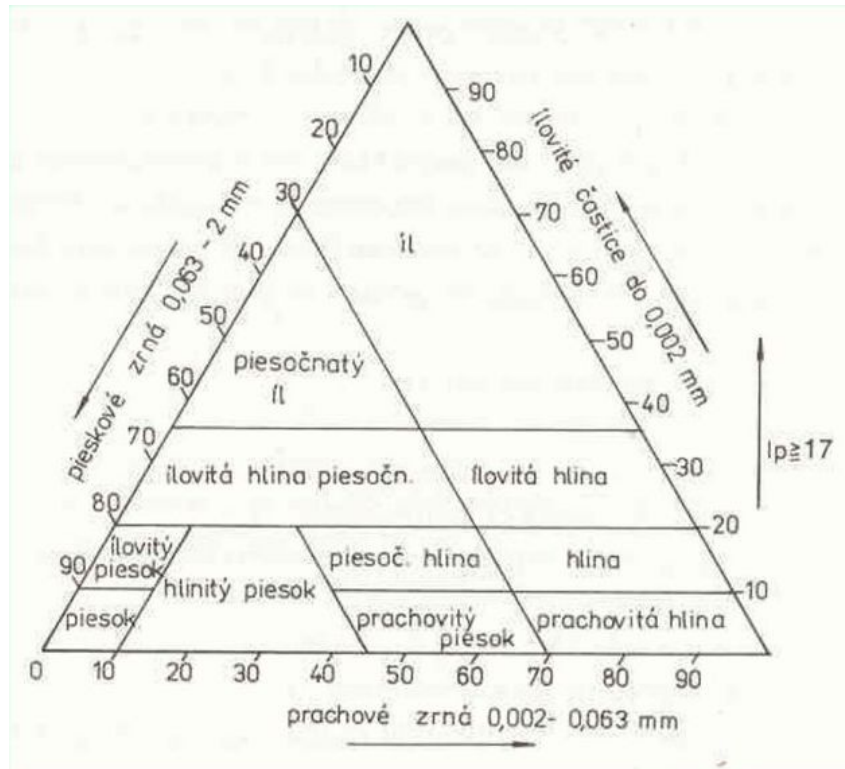
Výsledkom pedogenézie je vznik minerálneho podielu pôdy s časticami s rôznou veľkosťou. S klesajúcou veľkosťou častíc sa zväčšuje ich špecifická povrchová plocha a vzájomné príťažlivé sily medzi časticami [21]. Delenie častíc (zrín pôdy) prebieha podľa veľkosti na tie, ktoré sú väčšie ako 2 mm (skelet pôdy) a menšie od tejto hranice (jemnozeme). Podrobnejšia klasifikácia je charakterizovaná pôdnymi druhmi, ktoré udávajú percentuálne zastúpenie jednotlivých veľkostných frakcií zrín. Najmenšiu veľkosť a priestor medzi zrnami má íl, rozmerovo väčší je prach a najväčší je piesok. Zrinitosť ovplyvňuje konzistenciu, súdržnosť, prínavosť a spracovateľnosť pôdy. Pre jednoduché rozlíšenie druhu jemnozeme slúži trojuholníkový diagram zrinitosti pôdy znázornený na obrázku 1.2 [21, 24].

Ďalšou dôležitou vlastnosťou pôdy je pórovitosť, ktorá hovorí o priestorovom usporiadaní pevných, kvapalných a plyných zložiek. Medzi pevnými časticami sa nachádzajú pôdne póry, do ktorých vchádza voda so vzduchom a umožňujú realizácii rôznych pochodov [21].

Štruktúra pôdy rozlišuje vzájomné priestorové usporiadanie agregátov v pôde. Je následkom schopnosti spojovania tuhých častíc. Stabilita agregátov sa zvyšuje v prítomnosti organických látok, vápnika a vhodnej zrinitosti pôdy[21].

Farba je dôsledkom materského substrátu, minerálneho obsahu, organického materiálu a pôdnej vlhkosti [24].

Z chemických vlastností je najdôležitejšou pH. Rozoznávajú sa podľa neho na acidické, neutrálné a zásadité pôdy. Reguluje sa lúhovaním kationov (vápnik, horčík) zo zvetrávaných minerálov, rozpustením oxidu uhličitého v pôde, organickou hmotou a nitrifikáciou [25].



Obr. 1.2: Trojuholníkový diagram zrnitosti pôdy [26]

Pôdny profil

Primárna charakteristika pôdneho profilu (vertikálneho rezu pôdy) sa určuje na základe jednotlivých vrstiev (pôdnych horizontov). Tie vykazujú rovnaké fyzikálne, chemické a biologické vlastnosti. Hlavné horizonty sú klasifikované pomocou veľkých písmen O, A, E, B, C a R, viď obrázok 1.3[23].

O horizont je najvyššia vrstva, ktorá sa skladá z organickej hmoty, môže obsahovať listy a odumretú trávu.

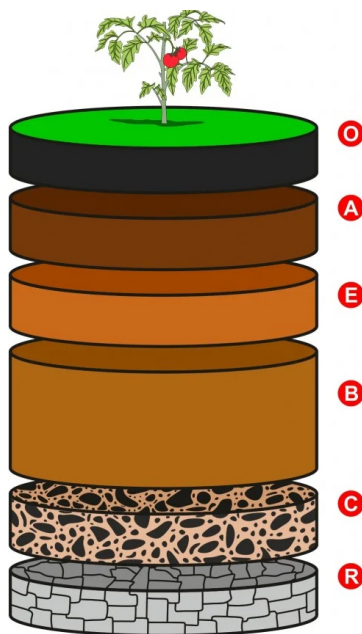
A horizont označuje minerálnu vrstvu umožňujúcu prácu koreňom a rozklad organickej hmoty. Považuje sa za najviac produktívnu vrstvu s vysokým zastúpením organizmov.

E horizont (vylúhovaný horizont) sa skladá najmä z piesku a ílovitých častíc. Vzhľad má svetlý, v dôsledku vylúhovania minerálov pri prechode vody.

B horizont (obohatený horizont) hromadí vylúčené nerasty a je zvyčajne hustý, svetlo-hnedý s malým obsahom organickej hmoty.

C horizont obsahuje pracujúci minerálny substrát bez biologickej aktivity, nižšie množstvo hliny a sedimentov.

R horizont je posledná, základná, najtvrdšia a najhlbšia vrstva. Tvorí ju napr. vápenec, pieskovec alebo žula [23, 21].



Obr. 1.3: Pôdne horizonty [23]

1.2.2 Organická zložka pôdy

Neživá organická časť pôdy pochádza z reziduí mŕtvych rastlín, živočíchov, mikroorganizmov a ich metabolitov. Aj napriek tomu, že tvoria len malý podiel z celkovej hmotnosti pôdy, vplyvajú na hromadu jej vlastností. Zohráva pufrácnú rolu, je zdrojom chelátov kovov, reguluje vlhkosť a udržiava celkové zdravie pôdy. Najpočetnejším prvkom je uhlík, ktorého množstvo sa odhaduje na 10^{16} ton. Značí vyšší počet atómov uhlíka ako v atmosfére a vo vegetácii spolu [27, 28].

Huminové látky

Vo veľkej miere pretransformovaná časť organickej hmoty, definovaná ako huminové látky (HL), predstavuje 70 % z pôdnej organickej hmoty (POH). Boli nájdené taktiež vo vodných systémoch a sedimentoch. Plnia v nej kľúčové funkcie ako napríklad regulácia uhlíkového a dusíkového cyklu, keď asimiláciou atmosferického C napomáhajú k zmierneniu skleníkového efektu. Podporujú rast rastlín a vývoj mikroorganizmov zvýšením absorpcie a dostupnosti živín. Zohrávajú úlohu biostimulantov a majú schopnosť akumulovať polutanty. Sú vysoko reaktívne a po dlhé tisícročia odolné voči biodegradácii [27].

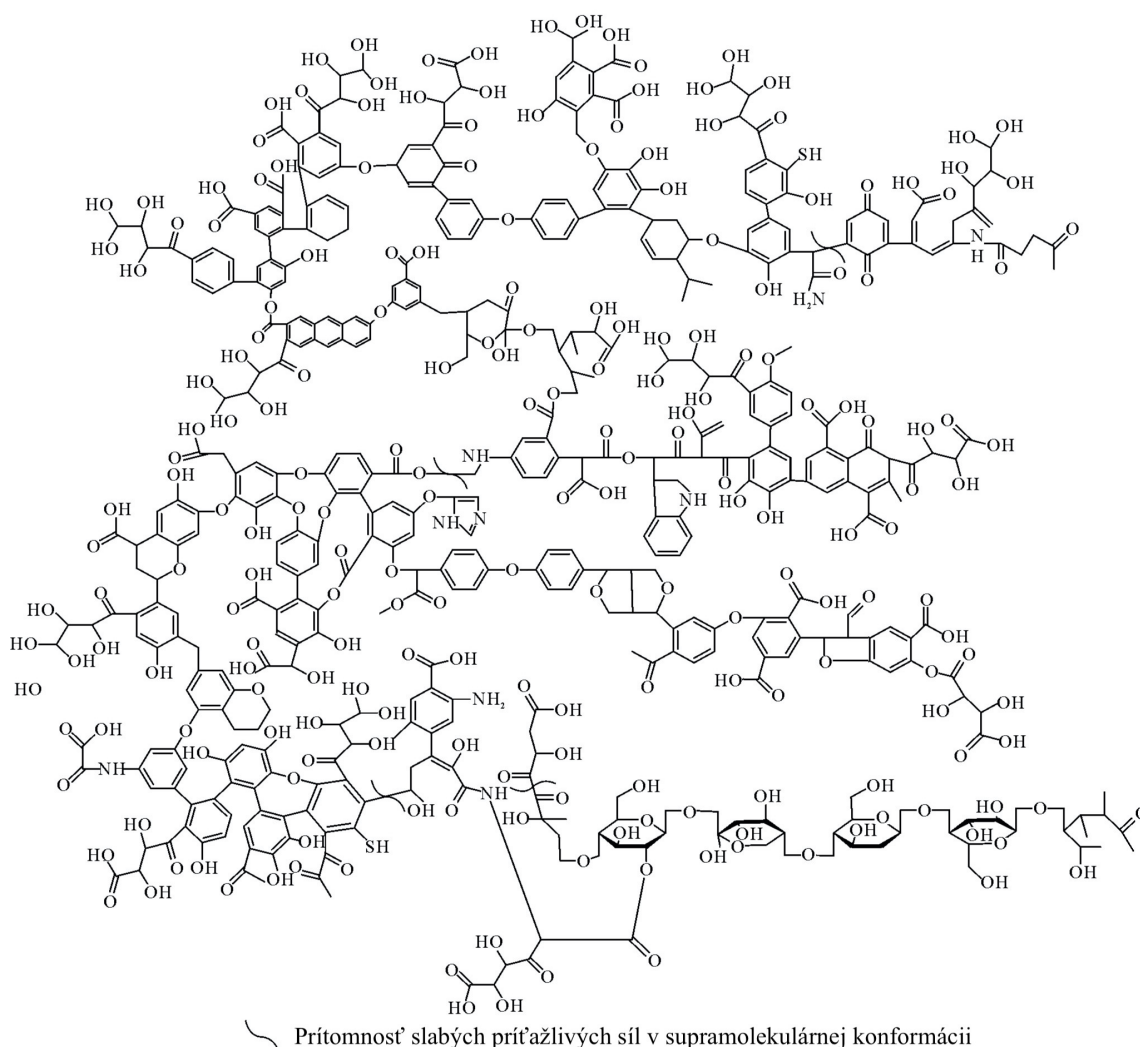
Faktom je, že HL sú polydisperzné zlúčeniny s rôznou distribúciou molekulovej hmotnosti. Alifatické a aromatické časti tvoria hydrofóbnu časť, zatiaľ čo fenolové a karboxylové skupiny sú primárne funkčné skupiny a na niektorých miestach sú doplnené o aminoskupiny. Základné prvky, ktoré sa v nich vyskytujú sú C, H, O, N, S a P. Vedecké skúmania ukázali, že môžu mať supramolekulárny aj makromolekulárny polymérny štruktúrny charakter a vyskytujú sa v pevnej aj rozpustenej forme. Väzba v štruktúrach je slabá a zahŕňa hydrofóbne interakcie (Van der Waals, $\pi - \pi$, a $CH - \pi$) a vodíkové mostíky [28, 29]. Klasifikácia HL pozostáva z troch zložiek:

- **Fulvinové kyseliny (FK)** – rozpustné vo vode v celej škále pH, žlté pri nízkom pH, vínovočervené pri vysokých pH;
- **Huminové kyseliny (HK)** – nerozpustné v kyslom prostredí ($pH < 2$), rozpustné v neutrálnom a v alkalickom prostredí; hnedá až tmavo hnedá farba
- **Humín (HM)** – nerozpustný vo vode; čierny [27, 28].

V štruktúre fulvinových kyselín bolo evidované väčšie množstvo alifatických a karboxylových skupín, čo je výsledkom vysokej kyslosti a vyššej iónovej výmennej kapacity. Vďaka využiteľným vlastnostiam sa stala zásadnou v modernom poľnohospodárstve, ekologickej obnove a medicíne [28].

Systém HK je zložený z väčšieho počtu aromatických skupín. Kvôli ich unikátnym ekologickým, biochemickým a terapeutickým vlastnostiam sú najviac skúmanými zo zložiek HL. Vedecká komunita zostrojila niekoľko modelov popisujúcich ich štruktúry. Erro a kol. (2016) vytvorili hypotetickú primárnu štruktúru HK získanú z formy leonarditu (oxidačný produkt lignitu). Na obrázku 1.4 je možné vidieť túto štruktúru. V supramolekulárnej konformácii sa objavujú slabé príťažlivé sily. Pre rastliny to vysvetľuje zvýšenú dostupnosť živín, ktorú sprostredkávajú HK [28].

Humín je náročný na skúmanie a označuje sa za hlavnú zložku organickej hmoty. Jedná sa o uhlíkový vedľajší produkt polymerizácie s molekulovou hmotnosťou vyššou ako FK a HK, vyšším stupňom polymerizácie a vyššou stabilitou. V štúdií z roku 2015 bol navrhnutý model prírodného HM s vysokým obsahom furanu spojeného alifatickými reťazcami. Zvýšený obsah HM v pôde má kľúčovú úlohu v toku uhlíka [28].

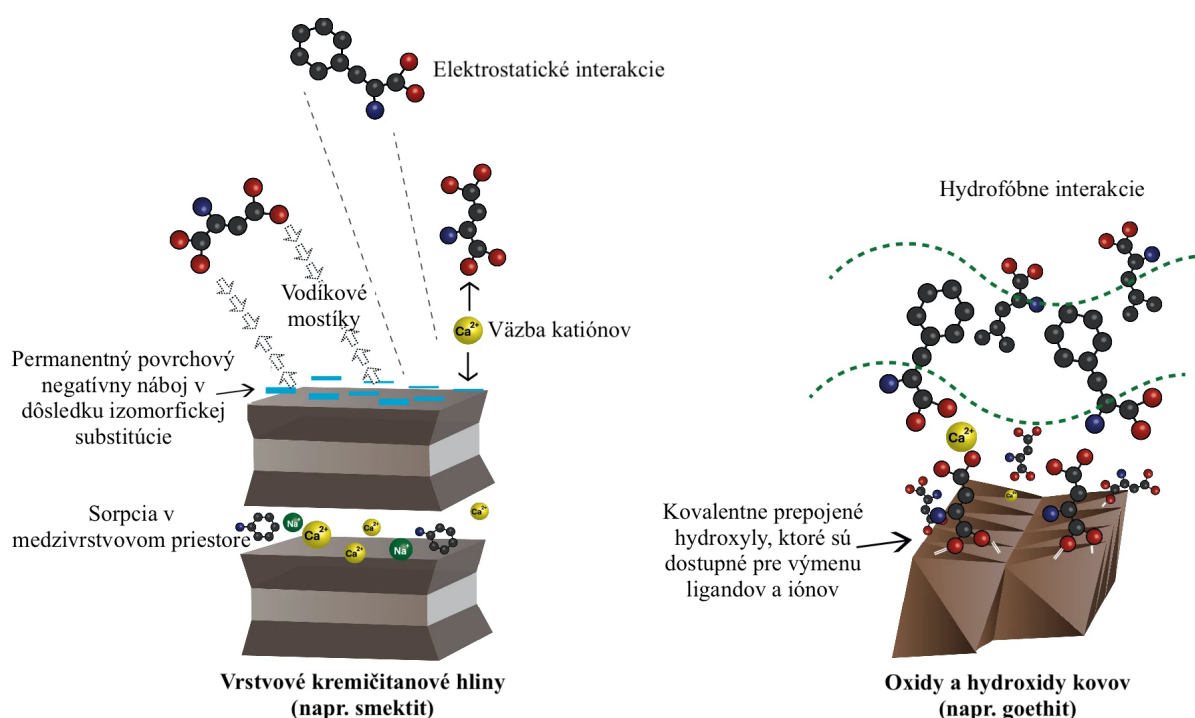


Obr. 1.4: Hypotetická primárna štruktúra HK získaná z leonarditu (Preložené z [28])

Napriek opísanej špecifikácii rozhranie medzi skupinami nie je presne stanovené. Podľa novších vedeckých štúdií sú HK a organická frakcia HM podobné a frakcie sa líšia skôr v supramolekulárnej konformácii ako v molekulárnom zložení [27, 28].

Navzdory dlhotrvajúceho výskumu HL, presný mechanizmus ich tvorby nie je popísaný a je predmetom mnohých štúdií a diskusií. Vznikajú v procese huminifikácie. V literatúre figurujú dve hlavné teórie opisujúce ich vznik. Prvá hovorí o biochemickej oxidácii organických biopolymérov ako sú lignin, polysacharidy a bielkoviny na humín a následnou oxidáciou na HK a fragmentáciou na FK. Druhá teória predpokladá ich vznik abiotickou kondenzáciou a polymerizáciou molekúl s nízkou hmotnosťou do väčších štruktúr. Tie vznikli biodegradáciou rastlinných zvyškov pôdnymi mikroorganizmami a sú to napríklad fenoly, fenypropenové jednotky, aminokyseliny, peptidy, aminocukry a cukry. Prvotná je tvorba FK, nasleduje HK a nakoniec humín. Celý proces je podmienený katalýzou pomocou enzýmov aj minerálov [27, 28].

1.2.3 Interakcie pôdných minerálov



Obr. 1.5: Príklady interakcie organickej hmoty s dvoma typmi minerálov. Modré kruhy znázorňujú dusík, červené kyslík (Preložené z [30])

Minerály zastúpené v pôde vznikajú geochemickým procesom. Najviac zastúpené prvky sú P, K, Ca, Mg, Fe, Al, S. Tieto anorganické častice zohrávajú rolu pri stabilite proti degradácii a v ochrane organickej hmoty s uchovávaným uhlíkom voči mikroorganizmom. Avšak, interakcie medzi minerálmi a organickou časťou závisia na mnohých faktoroch (pH, zloženie, iónová sila, biologická aktivita, klimatické podmienky) a ich presný mechanizmus doposiaľ nebol jasne vysvetlený [31, 32].

Medzi hlavné procesy patrí sorpcia, redoxné reakcie, zrážanie, rozpúšťanie, polymerizácia a katalýza. Redoxné reakcie sú zahrnuté v nenahraditeľných dejoch. Príkladom je priamy prenos elektrónov medzi organickým uhlíkom a minerálmi alebo nepriama formácia reaktívnych druhov kyslíka [31, 32].

Sorpcia je vnímaná ako kľúčový proces. Minerálne látky na báze hliníka (fyllosilikáty), oxidov kovov a hydroxidov kovov majú vyšší potenciál na sorpciu organického uhlíka na základe povrchových a elektrostatických vlastností. Mechanizmus závisí od výskytu permanentného alebo premenlivého náboja. V prípade, že minerál náboj nemá, interakcia je vedená pomocou vodíkových mostíkov a Van der Walsových síl. Minerály s permanentným nábojom obsahujú kovy s rôznymi nábojmi, ktoré vytvárajú spojku na sorpciu organického uhlíka. Príkladom minerálov sú illit a smektit, ktoré využívajú väzbu cez Ca, Mg a Fe. Pre nerasty s premenlivým nábojom platí, že ich náboj závisí od protonizácie povrchových hydroxylových skupín. Elektrostatická interakcia a výmena ligandov závisí od pH prostredia. V kyslom prostredí sorpcia prebieha jednoduchšie v dôsledku protonizovaného hydroxyly. V zásaditom prostredí prítomný záporný náboj potláča priamu sorpciu. Spojenie s kationmi (napr. vápnikom) by mohlo znížiť elektrostatickú odpudivú silu. Ďalším vplyvajúcim činiteľom je iónová sila, kde bolo pozorované, že s klesajúcou iónovou silou sa zvyšuje množstvo desorbovaného organického uhlíka na troch minerálnych pôdach [31, 32].

Veľkosť povrchu minerálu je ďalším faktorom, ktorým je ovplyvnená sorpcia. Vyššie spomínaný smektit má väčšiu povrchovú plochu a kationovú výmennú kapacitu ako kaolinitu, čo pri prevedenom experimente zodpovedalo aj vyššiemu množstvu naviazaného organického uhlíka. Nerasty s obsahom Fe/Al oxidov vykazujú ešte lepšie sorpčné schopnosti uhlíka ako uvedené dva minerály [32].

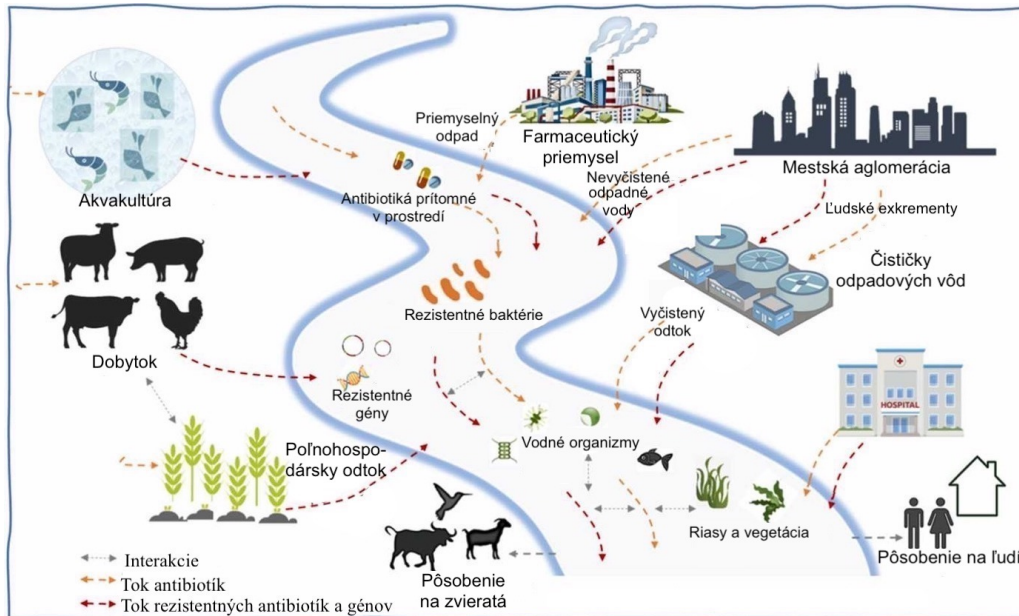
1.3 Antibiotiká v prírode

Rozšírená prítomnosť antibiotík v životnom prostredí vyvoláva obavy na ich škodlivé účinky [7]. Vďaka ich špecifickým vlastnostiam (optická aktivita, polarita) sú zaradované k pseudoperzistentným zlúčeninám [33]. Spolu s nesteroidnými protizápalovými liekmi, kozmetickými prípravkami, syntetickými vonnými látkami, povrchovo aktívnymi látkami a mikroplastmi patria do skupiny znečisťujúcich látok, ktoré nie sú regulované zákonom (údaj z roku 2019). Medzinárodné právne predpisy by mali obsahovať informácie, ako by s nimi farmaceutické spoločnosti a zainteresované inštitúty mali šetrnejšie zaobchádzať. Európska komisia vydáva v posledných rokoch nariadenia (najnovšia úprava z roku 2022) pre monitorovanie prítomnosti rizikových liekov [7]. Napriek množstvu získaných vedeckých poznatkov o udržateľnej manipulácii, zníženie znečistenia sa realizuje pomaly [33]. Nedôsledná informovanosť o ich vedľajších účinkoch a spôsobe používania vyúsťuje k ich výskytu v odpadových vodách, vo vodných systémoch, v pôde, v rastlinách a v živočíchoch. Hlavným negatívnym efektom je urýchlenie šírenia antimikrobiálnej rezistencie a zvýšená prítomnosť baktérií a génov rezistentných voči antibiotikám. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) vníma vznikajúcu vyzývavú situáciu, ktorá má vplyv na zdravie ľudí a zvierat, bezpečnosť potravín a na celkový rozvoj súčasnosti s perspektívnym zhoršením pri nezavedení účinných opatrení. Tento stav núti podrobne preskúmať ich výskyt, správanie, retenciu a mobilitu v pôde, vode a adsorbentoch [1, 7, 8, 34]. Sociálne, ekonomické a právne faktory sú primárnymi dôvodmi ich výskytu v prírode [33].

1.3.1 Zdroje kontaminácie

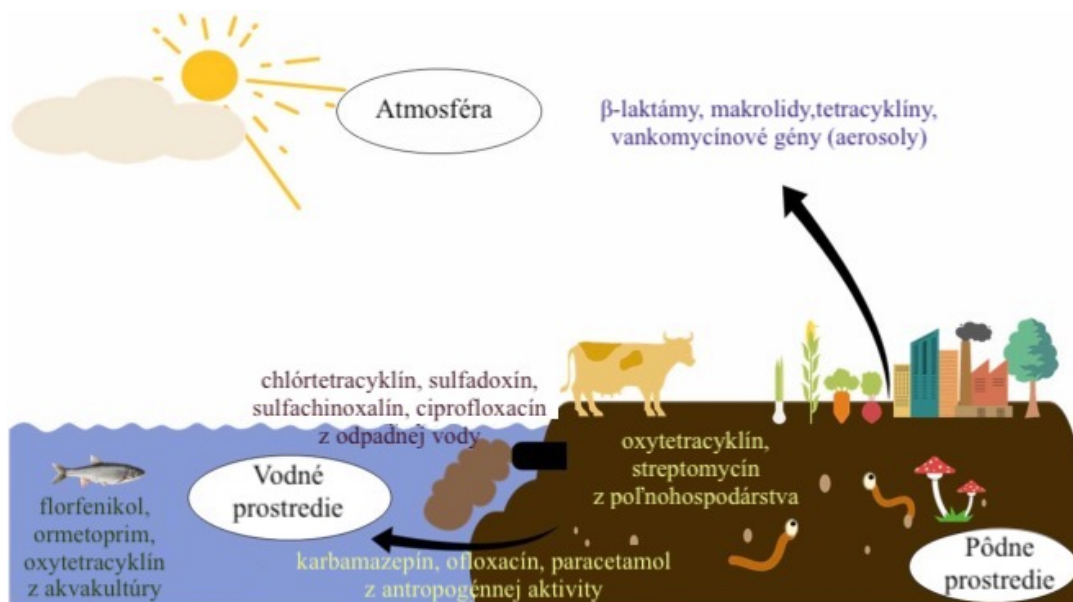
Hlavnými pôvodcami antibiotík v životnom prostredí, ako možno vidieť aj na obrázku 1.6, sú chovné farmy (ošetrovanie a chov zvierat), nemocnice, mestské obytné oblasti (nesprávna likvidácia) a priemyselné farmaceutické a výskumné inštitúcie. Časté využitie živočíšneho hnoja v roli prírodného fertilizéru pre poľnohospodárske polia mieri k distribúcií antibiotík do pôd a blízkych povrchových vôd. Eliminácia po užití antibiotika človekom nastáva v obličkách a skrz žľčovú sústavu vo forme materskej molekuly alebo v konjugátoch (kyselina glukurónová, kyselina sírová). Percento metabolizácie každého lieku je individuálne, v rozmedzí od 10 % do viac ako 90 %. Čističky odpadových vôd, ktoré sú hlavnými príjemcami týchto polutantov, nedokážu

eliminovať ich časť a tak končia v prírode. Legislatíva v Európskej únii a USA nestanovuje limity antibiotík výtokov z ČOV. Koncentrácie vo vodnom prostredí a sedimentoch sa uvádzajú na úrovni $[\text{ng}/\text{dm}^3]$, $[\mu\text{g}/\text{dm}^3]$, $[\text{ng}/\text{g}]$ a $[\mu\text{g}/\text{g}]$ v pôvodnej chemickej štruktúre alebo vo forme metabolitov [7, 8, 9]. Lokálne množstvo závisí od zdravia obyvateľstva a zvierat, druhu predpísaných liekov, rastu populácie, prítomnosti nemocníc, farmaceutického priemyslu a ČOV [33].



Obr. 1.6: Zdroje a transport antibiotík vo vodnom prostredí (Preložené z [35])

1.3.2 Mobilita v prírode



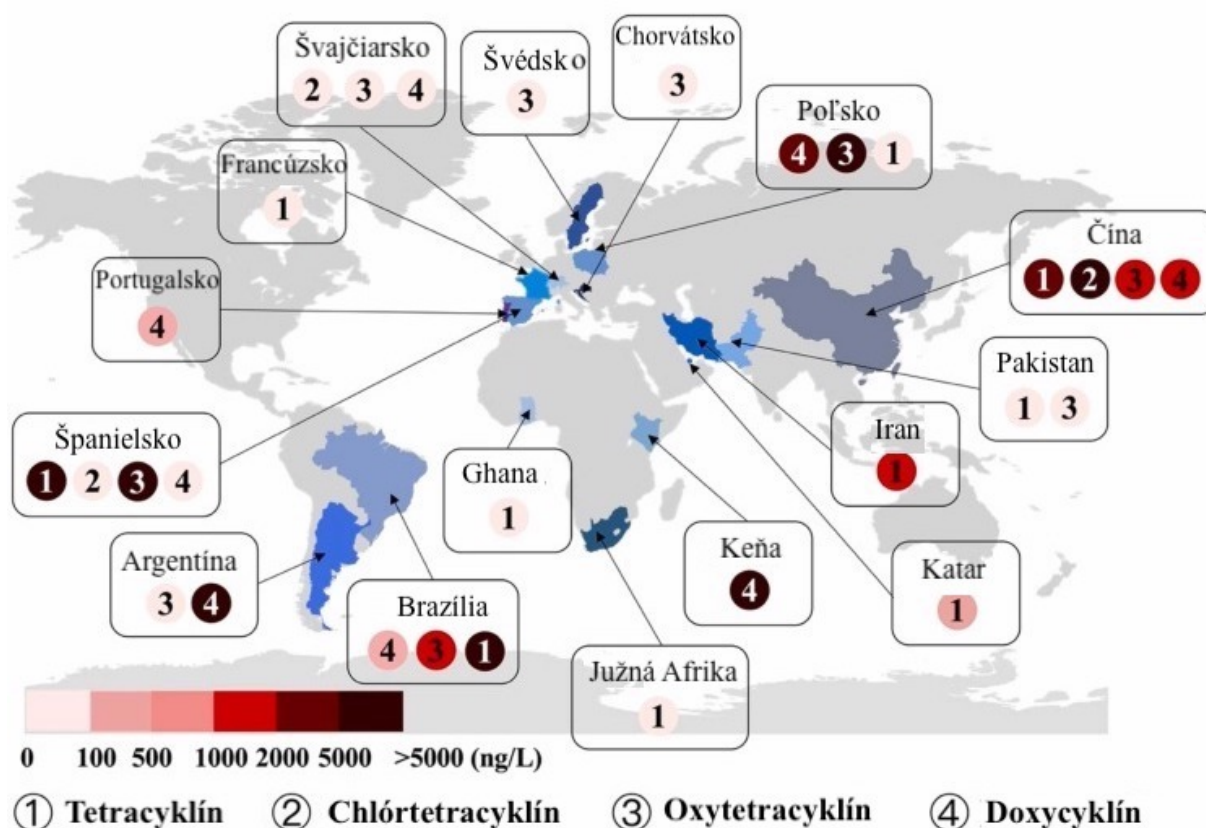
Obr. 1.7: Osud liečiv v prírode (Preložené z [36])

Antibiotiká v povrchovej vode majú tendenciu šíriť sa na veľké vzdialenosti, kde zasahujú do viacerých ekosystémov [2]. Môžu byť zadržané v pôde, akumulovať sa v tkanivách rastlín a vstúpiť do potravinového reťazca ľudí [34]. Zavlažovanie s použitím odpadových vôd vedie k transportu antibiotík do poľnohospodárskej pôdy, kde narušajú symbiózu baktérií a živočíchov (dážďoviek), čím znižujú kvalitu pôdy. Príkladom je veterinárny florfenikol, ktorý obmedzeným rozkladom močoviny zasahuje do dusíkového cyklu. V listoch a plodoch rastlín bola sledovaná absorpcia OTC a streptomycínu, čo môže viesť ku konzumácii ľuďmi a zvieratami a začleneniu do potravinového reťazca. Vo vzduchu boli detekované častice odolné voči antibiotikám, ktoré predstavujú potenciálnu hrozbu pre vdýchnutie [36].

1.3.3 Výskyt v životnom prostredí

TC je najčastejšie detekovaný v pôdach, sedimentoch, povrchovej a podzemnej vode. Najvyššia nájdená koncentrácia je zvyčajne v pôdach, a preto je sorpcia rozhodujúca pri jeho transporte v životnom prostredí [4]. Tetracyklíny patria k najčastejšie detekovaným antibiotikám v odpadových vodách. Mnoho článkov hlásilo rôzne koncentrácie z regenerovaných vôd ČOV, povrchových a podzemných vôd [2].

Globálny pohľad na zistené maximálne koncentrácie tetracyklínov na obrázku 1.8 ukazuje, že hodnota v niektorých oblastiach presahuje $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. V Keni a Argentíne prevažuje DX s koncentraciami v ČOV $32,2 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ a $28,43 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Čína ako najväčší svetový producent a konzument tetracyklínov, vykazuje vysokú hladinu ($10,02 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) CTC, pôvodom primárne z povrchových vôd. Vysoké množstvo TC v Iráne pramení z nemocničných odpadných vôd [12].



Obr. 1.8: Globálne maximálne detekované množstvá tetracyklínov v prírode (Preložené z [12])

Vodné prostredie

Niekoľko rôznych antibiotík bolo často detekovaných v riekach, morských a podzemných vodách, v zdrojoch pitnej vody a dokonca aj v kohútikovej vode. Najčastejšie nájdené antibiotiká vo vodách sú beta-laktamy, aminoglykozidy, sulfonamidy, tetracyklíny, makrolidy, antifoláty (trimetoprim) a fluorochinolóny. Dáta hovoria o súčasnej kontaminácii známych riek ako Tiber, Mekong, Seina, Temža a Dunaj. Jedna štúdia skúmala koncentrácie antibiotík z ČOV v 12 krajinách v povodí Dunaja. V Srbsku boli stanovené vysoké koncentrácie erytromycínu, sulfametoxazolu a ciprofloxacínu [1, 33].

Niekoľko štúdií sa sústredilo na merania koncentrácie tetracyklínov vo vodných prostrediach. Tabuľka 1.2 ukazuje niektoré hodnoty z Európskych krajín, avšak omnoho viac údajov je k dispozícii z Ázie alebo USA [7].

Tab. 1.2: Detekované množstvá TC vo vodných systémoch v Európe [7]

Krajina	Lokalita (rok)	Druh vodnej vzorky	c [ng/dm ³]
Belgicko	Brusel juh ČOV (2016)	Výtok z ČOV	220,0–1290,0
Česká rep.	Žermanice (2021)	Voda z ČOV	>96,0
Nórsko	Východné Nórsko (2015–16)	Výtok z ČOV	179,2
Poľsko	Rieka Białka (2019–20)	Vzorka vody	0-7,4
Portugalsko	Severné Portugalsko (2015–16)	Výtok z ČOV	147,5–231,2
Slovensko	Bratislava (2013)	Výtok z ČOV	1,8–8
Švédsko	Jazero Vättern	Vzorka vody	<5,7 (TC +DX)

V celkovom hodnotení sú koncentrácie v rozvojových krajinách Ázie vyššie ako v európskych a severoamerických. V porovnaní s EU a USA boli zistené extrémne vysoké hladiny ciprofloxacínu v priemyselnej oblasti Patancheru (India) pre výtoky z ČOV (do 14 mg/dm³) a jazera (2,5–6,5 mg/dm³). Zvýšené hodnoty boli aj v podzemných vodách (0,044–14 µg/dm³). Vysoké koncentrácie OTC boli objavené v povrchovej vode v severnej Číne (361,1 µg/dm³) a v Koloráde (56,1 µg/dm³) [9].

Koncentrácia TC v povrchových vodách bola zistená približne 1 ng/dm³ až 1 µg/dm³, v farmaceutických odpadových vodách dosahuje niekoľko stoviek ppm. V siedmich riekach v Pekingu bolo nájdených 39 – 54 000 ng/dm³ zlúčeniny TC, približne 69 – 234 ng/dm³ bolo detekovaných v oblasti delty Pearl River. Testy z najväčšieho sladkovodného jazera Victoria v Afrike ukázali hodnoty TC 3 – 70 ng/dm³ a približne 54 ng/dm³ v rieke Drweca v Poľsku [1].

Rodriguez-Mozaz a kol. v rokoch 2015–2016 vykonali štúdiu, ktorá monitorovala stav vody z ČOV na medzinárodnej úrovni a výsledky boli medzi sebou porovnateľné. Vo vzorkách vôd z 13 Európskych ČOV bolo sledovaných 53 antibiotík. Z tohto počtu bolo 17 nájdených aspoň v jednej ČOV. Najvyššie koncentrácie mal ciprofloxacín (1435,5 ng/dm³) v Portugalsku a ofloxacín (613,0 ng/dm³) na Cypre [8].

Birošová a kol. skúmali antibiotiká v ČOV v Bratislave, ktorá spracuje 10 % odpadnej vody z celého Slovenska. Počas chrípkovej sezóny vo februári bola v prítokovej vode najvyššia koncentrácia ciprofloxacínu (1,3 mg/dm³), clarithromycínu (2,52 mg/dm³), azithromycínu (1,36 mg/dm³) a sulfapyridínu (0,249 mg/dm³). Vykazujú násobne vyššie koncentrácie v porovnaní s hodnotami z augusta [37].

Pevná zložka prostredia

Nariadenia Európskej únie prísne zakazujú používanie antibiotík na urýchlenie rastu zvierat. Napriek tomu údaje skúmajúce výkaly zvierat hovoria o ich využívaní. Ich cesta tak končí v pevnej zložke prostredia.

Výskumná skupina v Holandsku sledovala v roku 2015 obsah antibiotík vo výkaloch dobytky a ošípaných. Výsledné množstvá boli pridružené konkrétnej farme a najčastejšie detekovanými boli doxycyklín a oxytetracyklín. Štúdia z roku 2020 hovorí o výskyte tetracyklínov v prasačích výkaloch v Španielsku a Poľsku. Podobný výskum objavil tetracyklín v prasačom hnoji v koncentráciách od 5,5 do 287 mg/kg. Doxycyklín sa vyskytoval na farmách ošípaných v rozsahu od 9,4 do 101 mg/kg [7]. V Galícii (Španielsko) boli vo výkaloch nájdené TC (0,9 mg/kg), CTC (4 mg/kg) a OTC (35 mg/kg). V poľnohospodárskych pôdach bol ich výskyt taktiež vysoký, pre TC vykazoval 0,6 mg/kg a CTC s kvantitou 0,2 mg/kg [34]. Tieto štúdie neodrážajú reálnu situáciu v Európe, označujú lokálny status [7].

1.4 Eliminácia tetracyklínu

Degradácia TC v životnom prostredí je minimálna, pretože jeho nízke Henryho konštanty 1.1 mu zabezpečujú odolnosť voči oxidácii a stabilitu [12]. Na odstránenie a degradáciu antibiotík bolo vyvinutých niekoľko technológií biologického, chemického, fyzikálneho a kombinovaného druhu. Výskumné skupiny vo veľkej miere skúmajú možnosti odstránenia TC z rôznych prírodných prostredí [6]. Nebiologické technológie vykazujú vyššiu efektívnosť a prevádzkovateľnosť. Pri biologických procesoch sú prevádzkové cykly dlhšie, majú prísne environmentálne požiadavky, nižšiu výťažnosť kvôli nebiologickej povahe liekov a vykazujú riziko vzniku rezistencie. Hlavnými používanými metódami sú adsorpcia, filtrácia, ultrasonikácia, membránové technológie, fotolýza, fotokatalýza, elektrochemické metódy, ultrafialové svetlo, Fentonová reakcia, ozonizácia, oxidy kovov, nanočastice a enzýmy. Je taktiež možné použiť zariadenia na sonikáciu kovov pre kovové komplexy TC. Fytosanácia využíva koreňový systém rastlín na oxidačné procesy degradácie. Katalytická degradácia je obmedzene použiteľná kvôli tvorbe sekundárneho znečistenia metabolitmi a vyžaduje vysoké náklady. Adsorpcia a filtrácia sú najrealizovanejšie metódy z dôvodu jednoduchosti, efektivity a nízkej spotreby energie. Proces pozostáva zo zachytenia alebo reakcie s inými materiálmi a následnej degradácie sekundárnymi prostriedkami [1, 6, 12].

Na odstránenie TC z vody sa používajú rôzne druhy adsorbentov. V tabuľke 1.3 sú zobrazené niektoré z nich aj s ich adsorpčnými kapacitami [1]. Ako možný adsorbent boli skúmané mikroplasty, avšak sú taktiež považované za znečisťujúce látky. Viacero z nich má vysokú afinitu k TC [12, 27].

Prírodne vyskytujúce sa huminové látky sú lacnou a zároveň dostupnou možnosťou pri čistení odpadových vôd a bioremediácie. Sú schopné stimulovať biologickú aktivitu odstraňovaním inhibítorov biologických procesov. HK reagujú s TC tak, že vytvárajú komplexy s karboxylovými funkčnými skupinami a vodíkovými mostíkmi, čím je adsorpcia zlahčená. Komplikáciou je ich rôznorodosť a nejednotná aktivita [12, 27].

Biouhlie je definované ako druh uhlia, ktoré sa získava z rôznych organických materiálov. Používa sa pre adsorpciu v pôde, vode aj v ovzduší [12, 27].

Tab. 1.3: Adsorbenty TC a ich adsorpčné kapacity [1, 12]

Adsorbent	Adsorpčná kapacita [mg/g]
Aktivovaný uhlík	84,54
grafén/grafénoxid	131,6
Apatit	33
Adsorbenty z poľnohospodárskej biomasy	8,23–14,5
Funkcionalizované magnetické nanočastice	168,24
Kovové organické rámy	420,6
Modifikované organické hliny	85,5
Polyetylén	44,77
Biouhlie	5–1163

Odpadové vody v ČOV sa spracúvajú aj pomocou pokročilých oxidačných procesov (POP). Využívajú sa pri nich vysoko reaktívne a oxidačné druhy (O_3 , $\cdot O_2$, O_2 , H_2O_2 , $\cdot OH$), ktoré rozkladajú zlúčeniny na oxid uhličitý a vodu. Pokročilá oxidácia môže priamo degradovať lokálne polutanty, avšak vyžaduje vysoké náklady, nadpriemernú spotrebu energie a spôsobuje sekundárne znečistenie. Oxidácia ozónom sa využíva na čistenie vody kvôli vysokej výťažnosti a malého sekundárneho znečistenia. POP vykazuje vysokú účinnosť, medián degradácie ozonizáciou bol 97,67 % a Fentonovým procesom 95,2 %. Medzi realizovateľné technológie s vysokou účinnosťou patrí oxidačný proces fotokatalýza. Keďže fotoabsorpcia antibiotík vo viditeľnom svetle nevyužíva energetický potenciál na ich degradáciu úplne, používajú sa fotokatalyzátory na báze polovodičov (TiO_2 , ZnS , $BiVO_4$ a CeO_2). Stimul svetelnej energie vyvoláva generovanie elektrónov a dier s vysokou oxidačnou silou. Fotodegradácia je značne ovplyvnená pH roztoku, keď v alkalickom pH je degradácia priaznivejšia v porovnaní s kyslým prostredím. V prítomnosti H_3TC^+ bola fotolýza TC inhibovaná, ale zvýšila sa v prítomnosti HTC^- alebo TC^{2-} [12, 17].

Pri čistení odpadovej vody sa využíva taktiež anaeróbna biologická technológia konverzie uhlíka na bioenergiu. Zo štúdií vyplýva, že detekované hladiny TC (mg/dm^3) môžu nepriaznivo ovplyvňovať výkonnosť procesu. Dáta z roku 2022 poukazujú na zníženie výroby metánu o 15,17 % po pridaní 1 mg/dm^3 TC. Iný článok vyzdvihuje biologickú rozložiteľnosť TC v metanogénnych podmienkach s percentuálnym rozložením 46 % [38].

Membránová technológia využíva rôzne typy membrán a hnaciu silu v podobe nízkeho tlaku (mikrofiltrácia, ultrafiltrácia a destilácia) alebo vysokého tlaku (nanofiltrácia a reverzná osmóza). Elektrochemická oxidácia sa prevádza s pomocou funkčnej elektródy, ktorá ako katalytický nosič rozkladá antibiotiká na molekulárne látky skrz prenos elektrónov. Je široko využívaná vďaka jej jednoduchosti, čistote a nízkym nákladom. Pri výbere technológie zvažuje zhrnutie celkových charakteristík, aby odstraňovanie malo čo najvyššiu účinnosť a vyhovovalo prostrediu [12].

Z biologického spektra sú zaujímavou kategóriou najčastejšie sa vyskytujúce bezstavovce, konkrétne dážďovky. Dokážu vypúšťať organické zlúčeniny, vylučovať a zničiť pôdne agregáty. Experimenty vykonávajúce degradáciu OXY a TC dážďovkami ukazujú urýchlenie procesu degradácie. Ich trávenie a synergický efekt s prítomnými mikroorganizmami umožňuje ich využitie aj v komunálnom kale. Pre získanie komplexných informácií o mechanizme a vznikajúcich metabolitoch je potrebné doplniť chýbajúci výskum [39]. Pri skúmaní správania antibiotík počas dlhšieho časového obdobia v samotnej pôde vykazovali efekt starnutia a znížila sa ich biologická dostupnosť. Tetracyklín pretrvával v pôde viac ako jeden rok. Na porovnanie β -laktamy boli zdegradované v priebehu hodín až dní a makrolidy v priebehu desiatok dní. Tetracyklín bol pravdepodobne začlenený do chránenej piesočnej zložky pôdy. Bolo zistené, že zvýšený obsah organickej hmoty a vody zvýšil polčas rozpadu a chránil ich pred degradáciou. Tá bola spôsobená mikroorganizmami, fotodegradácia sa vďaka tieniacemu efektu pôdy neuskutočňovala [40].

1.5 Sorpcia a desorpcia v pôde

Sorpčná schopnosť pôdy vykazuje jej vlastnosť pútať niektoré molekuly z disperzného prostredia [21]. Sorpcia a desorpcia určujú, či sa liečivá uchovávajú v hornej pôde alebo budú postupovať do spodných vrstiev. Pri dlhšom zotrvaní v spodných vrstvách je riziko uvoľnenia (desorpcie) do podzemnej vody [40].

Proces sorpcie a desorpcie polutantov určuje vo všeobecnosti ich pohyblivosť, absorpciu do rastlín, biotransformáciu, degradáciu a dostupnosť v pôde. Veľký vplyv zohrávajú ich fyzikálno-chemické vlastnosti a kľúčové vlastnosti danej pôdy ako pH, teplota, kationová výmenná kapacita, prítomnosť kationov a organická časť. Komplexácia liečiv v pôde ovplyvňuje ich aktivitu. Znižuje ich potencionálne riziko v prírode [4]. Organická časť reguluje sorpciu TC a výskum

uvádza, že pri odstránení organickej časti sa sorpcia znížila o 80 %. Z fyzikálnych vlastností zohráva rolu obsah ílu a veľkosť častíc [4, 34]. Hlavnými mechanizmami, ktorými adsorpcia prebieha sú elektrostatické sily, kation- π interakcie, Van der Waals sily, hydrofóbne interakcie, kationové mosty a povrchové komplexy. Výskumom bolo poukázané na existenciu primárneho kroku adsorpcie založeného na reverzibilnej rovnovážnej reakcii. Udáva sa, že následné uvoľnenie bude pomalé a v súlade s častou prítomnosťou hysterézie pri adsorpcii tetracyklínov. V praxi je potrebné zohľadniť výskyt viacerých druhov liečiv a mechanizmus sa môže líšiť [34].

Ako výmenníky katiónov slúžia OM, oxidy kovov alebo hliníková časť. V prípade, že antibiotikum má nabitú hydrofilnú hlavu a veľké hydrofóbne telo, neutrálna časť sa môže dostať do nepolárnej fázy a nabitá hlava môže reagovať s polárnou fázou. Ich negatívny, neutrálny, zwitteriónový alebo pozitívny charakter vplýva na ich interakciu s bazálnym kyslíkom, hydroxylovými rovinami hliníkových nerastov a OM. Sorpcie a desorpcie zwitteriónových antibiotík sa líšia v rôznych polohách pôdných profilov. Zásadité a amfoterické zlúčeniny sa vo vyššej miere viažu na smektit, illit a kaolinit, z ktorých sa silne zásadité takmer neuvoľňujú. Naopak kyslé a neutrálne antibiotiká sa na smektit viažu len v malom množstve [40].

Pri porovnávaní sorpcie medzi TC, OTC a CTC vykazoval CTC najvyššiu adsorpčnú afinitu kvôli vyššej strednej molekulárnej polarite. Ďalším v poradí bol TC a najnižšiu afinitu k pôde mal OTC [40]. Sorpcia polutantov je často charakterizovaná pomocou sorpčných koeficientov (k_d), ktoré určujú mieru rozdelenia látky medzi v pôdnu a vodnú zložku prostredia v rovnováhe. Tetracyklíny sú charakterizované vysokými hodnotami v rozpätí od 400 do 1620 dm^3/kg . V porovnaní s inými antibiotikami sú tieto hodnoty výrazne vyššie, napríklad sulfametoxazol má k_d rovné 0,22 dm^3/kg , trimetoprim od 6,7–9,21 dm^3/kg [7]. Výskum ukázal, že pri sorpcii TC a sulfonamidov sa uplatňuje synegetický účinok. Napríklad sulfadiazin bol viac adsorbovaný a vykazoval nižšiu desorpciu v prítomnosti TC. Zvyšujúca sorpcia sa pripisuje pravdepodobne kooperatívnej viacvrstvovej sorpcii zložiek pôdy. Pozitívne nabité antibiotiká sa viažu na negatívne nabitý povrch pôdy, keď dochádza k znižovaniu ich vzájomného odporu. Ionizácia liečiv iniciovaná dipólom medzi polárnymi a nepolárnymi molekulami môže zvyšovať sorpciu neutrálnych zložiek. V niektorých prípadoch môže výskyt viacerých druhov antibiotík pôsobiť negatívne. Príkladom je sorpcia clindamycinu a sulfametoxazolu v 3 rôznych pôdach [40].

1.5.1 Vplyv organickej zložky a minerálov

V závislosti od druhu ílu a organickej zložky pôdy sa sorpčné procesy riadia povrchovým zaťažením materiálu. Pri sledovaní vplyvu OM na sorpciu TC sa ukázalo, že pôda s najväčším obsahom OM vykazovala najvyššiu sorpčnú kapacitu a najnižšiu mieru desorpcie. Organická časť obsahuje najmä polárne funkčné skupiny (karboxylové a hydroxylové), ktoré vytvárajú stabilné komplexy s liečivami. Skupina vedcov za zhoduje aj na teórii, že vzniknuté komplexy majú zvýšenú pôdnu mobilitu v dôsledku samotnej vysokej mobility OM. Nepolárne skupiny OM (aromatické a alifatické) môžu rozpustiť hydrofóbne antibiotiká a uľahčiť ich absorpciu do podzemnej vody [40].

Hydrofóbne oblasti OM sú najdôležitejším sorbentom pre neiónové a málo polárne zlúčeniny. HK sa môže ionizovať pri rôznych pH podmienkach. Karboxylové skupiny sú negatívne a disociované pri vysokom pH a naopak neutrálne alebo slabó negatívne nabité pri nízkom pH. Vodíkové mostíky sú nevyhnutnou interakciou pri sorpciách s výskytom medzi aromatickými karboxylovými a hydroxylovými skupinami z OM a karboxylovej skupiny antibiotík [40].

Prítomnosť anorganických iónov môžu vplývať dvojako. Niektoré katióny (Ca^{2+} , Mg^{2+}) zvyšujú adsorpciu antibiotík do pôdy, naopak anióny (Cl^- , SO_4^{2-}) ju znižujú [41]. Pri náhlade na komplexnosť prírodného systému môžu pôdne OM a hliníkové minerály zoslabovať svoje adsorpčné kapacity zredukovaným množstvom reaktívnych lokalít v porovnaní s kapacitou každej zložky zvlášť. Deje sa to v dôsledku kombinácie medzi nábojmi a funkčnými skupinami OM a reaktívnymi miestami na povrchu minerálov. Ukážkou tohto fenoménu je sorpcia bez zmenenej

intenzity v čiernej pôde (prevládajú illitové minerály), z ktorej bola odstránená OM. Avšak, pri ďalšom pokuse na Ultizol pôde bez OM (červená pôda s kaolinitom) bola pozorovaná zvýšená sorpcia OTC [40].

1.5.2 Vplyv pH

Hodnota pH pôdy vo veľkej miere ovplyvňuje sorpčnú aktivitu antibiotík v pôde zmenou ich chemickej povahy. Platí ho najmä pre amfotérne zlúčeniny [40]. Hlavné faktory, ktoré ovplyvňujú rozdiely v sorpciách pri rôznych pH prostredia sú hodnoty pK_a tetracyklínu a pH_{PZC} pôdy. V dôsledku hodnôt pK_a sa TC vyskytuje pri $pH < 3,3$ v kationovej forme H_3TC^+ , pri $3,3 < pH < 7,7$ v zwitteriónovej forme H_2TC^\pm a pri $pH > 7,7$ v aniónovej forme HTC^- a TC^{2-} . Druhý faktor hovorí, že povrchový náboj sorbentu (pôdy) je pozitívny ak je pH_{PZC} sorbentu vyššia ako je pH roztoku. V opačnom prípade je povrchový náboj sorbentu negatívny. Vzhľadom na komplexnosť pôdy je náročné určiť presnú hodnotu pH_{PZC} . Sorpcia môže prebiehať rôznymi mechanizmami. Pri kyslom pH využitím interakcií medzi negatívne nabitými HL a protonizovanými molekulami TC. V prírode nie je tento jav často vídaný, pretože prevažuje zwitteriónová forma TC. Tá je schopná spolu s aniónovou formou interagovať s kladne nabitými kationmi [13].

V kyslej pôde je pozorovaná vyššia sorpcia a so zvyšujúcim sa pH klesá [4]. Vysvetľujúcim javom je ionizácia premenlivo nabitých miest na povrchu organických látok. Pri vyššom pH je zvýšený záporný náboj na povrchu pôdy, ktorý zvyšuje elektrostatické odpudzovanie s aniónovými formami liečiv a znižuje tak adsorpčnú kapacitu [6].

Výsledok účinku pH roztoku naznačuje, že dominantným mechanizmom sorpcie pre kyslé pôdy by mohli byť hydrofóbne interakcie medzi pôdou a H_2TC^0 a ako primárny mechanizmus sorpcie TC na alkalické pôdy bola navrhnutá výmena kationov [4].

1.5.3 Matematický aparát

Adsorpčná izoterma popisuje interakciu medzi látkou a pevnou fázou vo vodnom prostredí alebo v poréznom médiu. Po dostatočnom čase procesu je v systéme dosiahnutá rovnováha medzi adsorbátom a adsorbentom. Nastáva, ak koncentrácia adsorbátu v roztoku dosiahne koncentráciu na rozhraní. Vedecká komunita vytvorila niekoľko modelov adsorpčných izoteriem využívajúcich rôzne teoretické a empirické metódy [42]. Bilančná sorpčná kapacita a bola stanovená pomocou vzťahu [43]:

$$a[mg/g] = \frac{(C_i - C_r)V}{m}, \quad (1.1)$$

kde C_i je koncentrácia na počiatku a C_r je rovnovážna koncentrácia TC [mg/dm^3]. Hmotnosť sorbentu (pôdy) je m [g] a V je objem roztoku [dm^3]. Účinnosť eliminácie TC je zisťovaná pomocou rovnice [43, 44]:

$$Odstránenie[\%] = \frac{C_i - C_t}{C_i} 100. \quad (1.2)$$

Model Langmuir

Langmuirova rovnica predpokladá, že maximálna adsorpcia zodpovedá monosaturovanej vrstve molekúl adsorbátu na povrchu adsorbentu. Adsorpčná energia je konštantná a adsorbát sa na povrchu adsorbentu nepremiestňuje. Všetky adsorpčné miesta sú energeticky identické a medzimolekulárne sily sa znižujú s narastajúcou vzdialenosťou od adsorpčného povrchu. Rovnica bola odvodená z kinetiky povrchových reakcií a je popísaná tvarom [44]:

$$a_r = a_{max} \frac{K_L c_r}{1 + K_L c_r}, \quad (1.3)$$

kde a_{max} je maximálna adsorpčná kapacita [mg/g] a K_L je Langmuirova konštanta [dm^3/mg]. Tieto hodnoty sú určené zo sklonu a priesečníka priamky regresie a koordináty na ose y pre c_r (pre a_{max}) a koordináty pre c_r/a_r (pre K_L). Lineárna forma Langmuirovho modelu je vyjadrená touto rovnicou [44]:

$$\frac{1}{a_r} = \frac{1}{a_{max} K_L} \cdot \frac{1}{c_r} + \frac{1}{a_{max}}, \quad (1.4)$$

Model Freundlich

Freundlichov model predpokladá viacvrstvovú adsorpciu, zohľadňuje heterogénnosť povrchu adsorbentu a exponenciálne rozdelenie aktívnych miest vrátane ich energie. Popisuje ho táto empirická rovnica [44]:

$$a_r = K_F \cdot c_r^n, \quad (1.5)$$

kde K_F je Freundlichova konštanta [mg/g] a n je Freundlichov exponent súvisiaci s intenzitou adsorpcie (bezrozmerný). Hodnoty konštant sa určujú sklonom a priesečníkom lineárnej priamky regresie a koordináty na ose y pre $\ln c_r$ a a koordináty pre $\ln a_r$. Hodnota n je v rozmedzí od 0 do 1, čo ukazuje stupeň nelinearity medzi koncentráciou roztoku a adsorpciou. Ak je hodnota n rovná 1, adsorpcia je lineárna. Vysoké hodnoty n referujú na relatívne jednotný povrch, nízke hodnoty poukazujú na vysokú adsorpciu pri nízkych koncentráciách roztoku. Nízke hodnoty n tiež poznamenávajú na prítomnosť vysokého počtu aktívnych miest s vysokou energiou [44].

Ďalšie modely

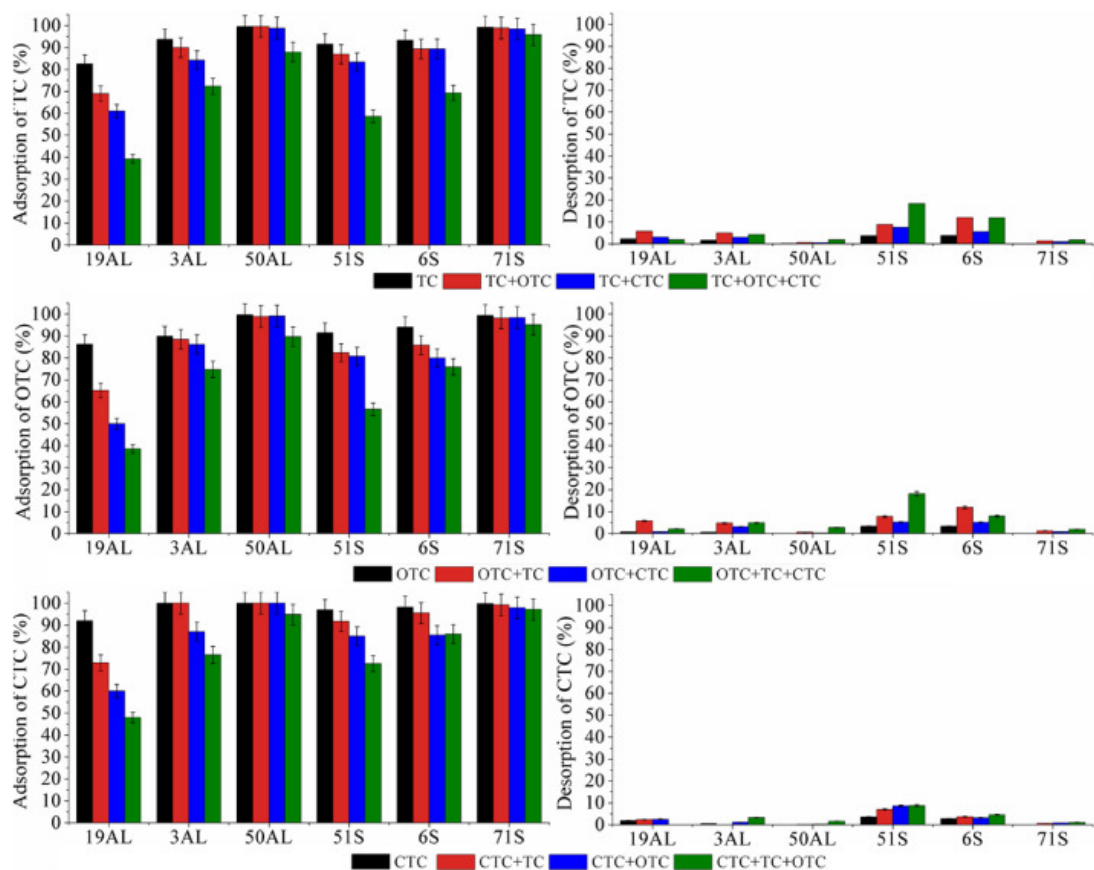
Na popis komplexných a rôznorodých dejov nestačia len spomínané 2 modely, a preto ich bolo vyvinuté veľké množstvo. Ako príklad uvádzam model Tempkin, ktorý obsahuje faktor pre špecifikáciu adsorpčných interakcií medzi druhmi a adsorbátmi, model Dubinin-Radushkevich nepredpokladá homogénny povrch ani konštantný adsorpčný potenciál, Flory-Huggins model predpokladá stupeň pokrytia adsorbátu adsorbentom a vyjadruje stupeň realizovateľnosti a sponzátanosti adsorpcie [44].

2 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Pôda ako adsorbent pre liečivá v prírodných systémoch je skúmanou témou vo viacerých štúdiách. Vedci pozorujú interakcie medzi rôznymi druhmi antibiotík a pôdou. Zameriavajú sa aký vplyv má organická hmota, pH, ióny kovov alebo skúšajú rôzne nastavenia a podmienky experimentov. Pomocou matematických modelov a simulácii sú predpokladané rôzne mechanizmy, afinity voči konkrétnym zložkám.

Štúdia[4] skúmala vplyv rôznych vlastností pôdy na sorpciu TC so špeciálnym zameraním na Cd^{2+} z dôvodu jeho hlásenej kontaminácie v Číne. Došlo ku charakterizácii šiestich rozličných pôd. Sorpčná kinetika bola sledovaná od 30 minút až po 96 hodín s ustanovením rovnováhy práve v 96 hodinách. Na sorpcie bolo k 25 ml roztoku pridané množstvo pôdy v rozmedzí od 10–200 mg, z dôvodu zabezpečenia absorpcie 30 %–70 % TC. Pre sledovanie vplyvu kadmia bolo do roztokov pridané $CdCl_2$. Analýza prebiehala FTIR meraním interakcií medzi pôdou a TC. Interpretácia prebiehala pomocou modelov Freundlich, Langmuir a Temkin. Majorita pôd bola lepšie opísaná Langmuirovým modelom, keďže vykazovali adsorpciu v jednej vrstve. Na druhej strane, niektoré pôdy sa viac prekrývali s Freundlichovým modelom a poukázali na možný priebeh viacvrstvovej adsorpcie. Prítomnosť Cd^{2+} by mohla zvýšiť sorpciu TC v kyslých pôdach a naopak znížiť ju v alkalicknej pôde. Z ďalších pozorovaní zistili, že katiónová výmenná kapacita a OM vplyvajú na sorpčnú kapacitu. Sorpčná rýchlosť, intenzita interakcie a rovnováha sorpcie sú odrazom pH, pH_{PZC} , obsahu anorganického uhlíka a vodíka v pôde[4].

Výskumná práca [34] sledovala konkurenčnú sorpciu troch tetracyklínových antibiotík (TC, OTC, CTC) v šiestich rôznych pôdach. Vzorky pôdy boli z dvoch poľnohospodárskych oblastí zo Španielska, ich pH bolo v rozmedzí 4,5–7,0 a obsah OM sa pohyboval od <2 % až po 10,9 %. Hlavným cieľom bolo vykonať binárne testy párov týchto troch antibiotík, ktoré boli porovnávané s jednoduchými a terciárnymi systémami. Adsorpcie a desorpcie boli realizované použitím vsádzkových experimentov. 1 g pôdy bol 24 hodín miešaný s 40 cm^3 roztoku liečiva s $CaCl^{2+}$. Vzorky boli potom odstredované pri 4000 otáčkach/min po dobu 15 minút. Bola určená koncentrácia každého atb v rovnovážnom stave a množstvo adsorbovaného antibiotika sa vypočítalo z rozdielu z pôvodnej a rovnovážnej koncentrácie. Desorpcia spočívala v pridaní 40 ml roztoku s $CaCl^{2+}$ do pôdy zo sorpčných testov. Následný postup bol rovnaký ako u sorpcií. Výsledky ukázali, že účinky prítomnosti OTC alebo CTC majú na adsorpciu TC rovnaký vplyv, so zvyšujúcou sa koncentráciou antibiotík adsorpcia TC klesá. Porovnanie jednoduchých, binárnych aj terciárnych systémov pri aplikácii 200 $\mu mol/dm^3$ z každého liečiva je zobrazené na obrázku 2.1. Trendy adsorpcie sú podobné pre všetky pôdy, CTC vykazuje vyššiu adsorpciu ako ostatné 2 antibiotiká. Pre podrobnejšie rozdiely boli prezentované detailnejšie grafy. Desorpcia závisela najmä od pH, kde so zvyšujúcim sa pH stúpala z dôvodu poklesu katiónovej a zwitteriónovej frakcie atb. Organická zložka mala hlavný vplyv na adsorpcie a desorpcie v pôde pri všetkých vzorkách. V pôdach s nižším obsahom OM sa konkurencia medzi atb znížila a tým nastala nižšia adsorpcia, avšak desorpcia sa odohrávala vo väčšej miere (najmä pri vysokom pH). Desorpcia bola vo väčšine pôd nízka, čo značí o silnom udržaní troch antibiotík. Pôdy s vyšším obsahom OM vykazovali nižšie riziko desorpcie antibiotík do vôd aj pri vysokých dávkach a súčasnej prítomnosti TC, OTC aj CTC. Pri pôdach s nižším obsahom OM, konkurencia medzi antibiotikami spôsobila zníženie adsorpcie a zvýšenie desorpcie (hlavne v zásaditom pH) [34].



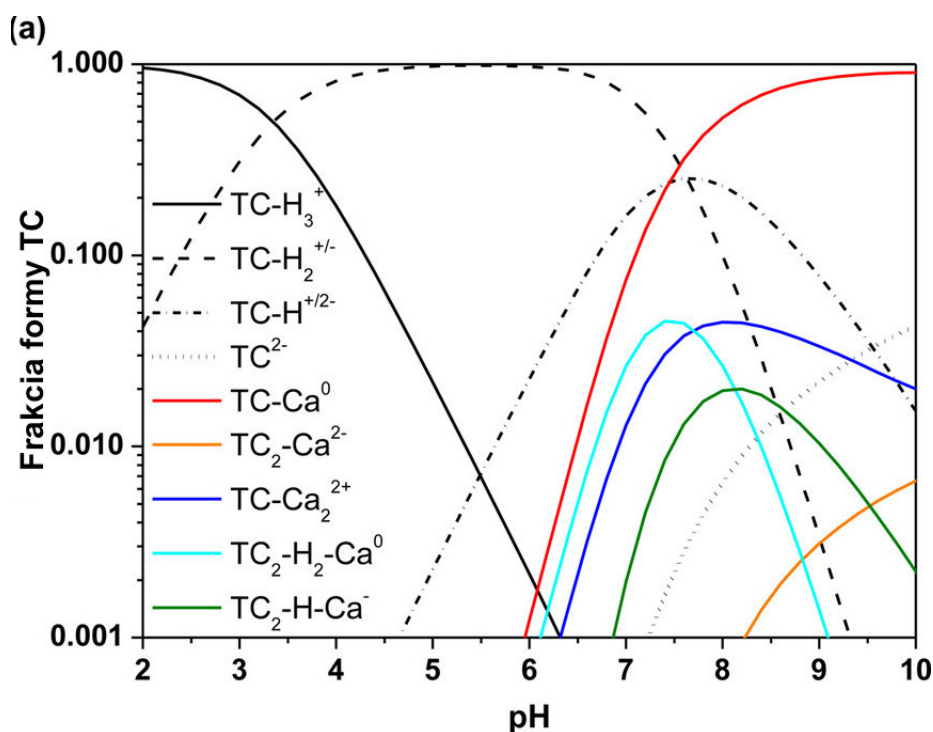
Obr. 2.1: Porovnanie adsorpcie a desorpcie pre TC, OTC a CTC v jednoduchých, binárnych a terciárnych systémoch [34]

Vedecká skupina z Tuniska uskutočnila výskum, kedy sledovali adsorpcie a desorpcie TC v ílovitých pôdných adsorbentoch s využitím vsádzkových experimentov. Obsah organickej hmoty bol vysoký (14 % až 20 %). Pre určenie vplyvu pH, boli adsorbenty povrchovo upravené pridaním zásaditej zložky (Na_2CO_3) alebo kyslej (HCl). Pri kationovej výmene boli v dvoch adsorbentoch kľúčovými iónmi Ca^{2+} a Na^{2+} , pri ďalšom zase Ca^{2+} a Mg^{2+} . Analýzou pomocou HPLC identifikovali vysoké účinnosti blízke 100 % a veľmi nízke desorpčné účinnosti <5 % v širokej škále pH (3,3–10) [13].

Pre štúdium sorpcie, kinetiky, termodynamiky a simulácií na odstraňovanie TC a CTC z vody vyvinuli vo výskume [43] nanokompozit z γ -cyclodextrin-grafén oxidu. Charakterizácia nanokompozitu prebiehala pomocou FTIR, SEM a TEM. Parametre sorpcie boli 30 minút, pH 8, koncentrácia 1 g/dm^3 a teplota $25\text{ }^\circ\text{C}$. Na vyhodnotenie a získanie molekulárneho mechanizmu sorpcie boli využité modely Langmuir, Temkin a Dubinin-Radushkevich. Molekulárnym modelovaním sa ukázalo, že sorpciou boli vytvorené komplexy spájané vodíkovými väzbami a $\pi - \pi$ interakciami. Maximálne odstránenie vykazovalo 91,25 % pre TC a 93,75 % pre CTC. Metóda predstavuje ekonomickú, ekologickú, efektívnu, rýchlu a realizovateľnú variantu odstraňovania týchto antibiotík [43].

Autori štúdie [45] sa zaoberali interakciou organických katiónov a zwitteriónov s rozpustenou prírodnou organickou látkou. Skúmané antibiotiká TC a klaritromycín sa viazali na rozpustené humínové kyseliny v absencii a v prítomnosti Ca^{2+} . Popis deja prebiehal pomocou NICA-Donnan modelu, ktorý zobrazuje HK ako gélovú fázu s rovnomerne rozdeleným negatívnym potenciálom deprotonovaných funkčných skupín. Prvotný predpoklad určil, že s HK reaguje iba H_3TC^+ . Av-

šak po uvážení reakcie aj s zwitteriónovou formou H_2TC^\pm sa napasovanie na model spresnilo. Jeho množstvo a afinita k HK výrazne prispieva k tetracyklínovej väzbe na HK pri neutrálnom a alkalickom pH najmä svojím záporným nábojom. Monoanión $HTC^{+/-}$ má pozitívne nabitú dimetylamino skupinu a zvyšná časť má negatívny náboj. Vykazuje nízku afinitu k HK, model ukazuje, že sa môže viazať pri silne alkalickom pH ale kvantitatívny príspevok je malý. Celková existencia komplexov TC s vápnikom pri rôznych pH je znázornená na obrázku 2.2. Zvyšovanie celkovej koncentrácie vápnika v roztoku podporovalo zvýšenie sorpcie. Výraznejší efekt nastal pri pH 9,0 ako pri pH 5,7. Z vytvorených komplexov TC s vápnikom bola vykonaná simulácia na väzbu $TC-Ca^{2+}$ s HK, kedy pozitívne nabitý komplex môže interagovať s negatívne nabitou HK. Z modelu vychádza aj tvrdenie, že väzba TC na humínové kyseliny sa zvýšila v prítomnosti Ca^{2+} , najmä v alkalických roztokoch. Je to následkom prevažne elektrostatickej interakcie pozitívne nabitých tetracyklínových komplexov s humínovou kyselinou namiesto predpokladaných trojzložkových (s výnimkou nízkych koncentrácií). Zo zistení v tejto štúdii vyplýva, že interakcie OM s pozitívne nabitými antibiotikami v prírode sú ovplyvňované všadeprítomnými kationmi [45].

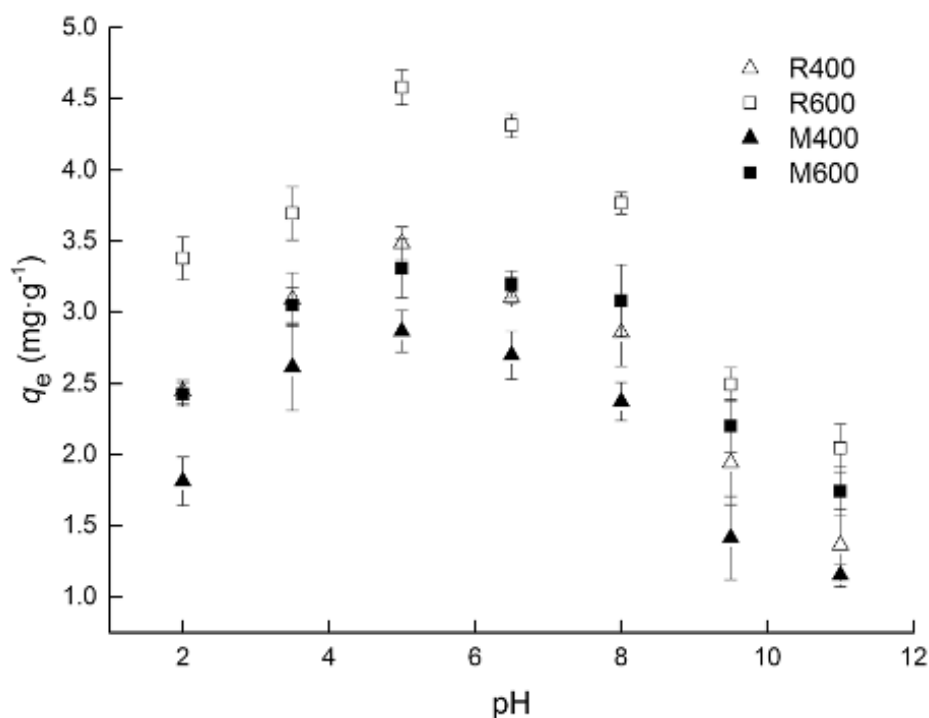


Obr. 2.2: Komplexy rozpusteného TC pri rôznych pH [45]

Publikácia [46] sa sústredila na správanie tetracyklínu v mineráloch, konkrétne smektitového typu. Meranie prebiehalo použitím FTIR, ktoré určovalo silnú afinitu medzi amidovými skupinami TC a hliníkovými plochami; a s použitím XRD. Zistilo sa, že kationová výmena bola dominantným mechanizmom adsorpcie na minerály (nie očakávaná komplexácia). Súčasná protonizácia s H^+ poskytovala TC pozitívny náboj na interakciu s negatívne nabitými povrchmi minerálov v neutrálnych aj mierne alkalických podmienkach. Konzistencia vo FTIR pásmach naznačila, že TC v smektitoch nespôsobil výrazne zmeny v pevnosti fylosilikátovej časti. Jediný rozdiel vo vibrácií $C=O$ vychádzal zo zvyšujúceho sa adsorbovaného množstva TC. XDR vzorky potvrdili, že TC sa v dôsledku štruktúry smektitu dostáva do medzivrstvového priestoru alebo iba na povrch smektitov. So zvyšujúcim množstvom adsorbovaného TC sa v molekulách TC vyskytuje prechod z voľného usporiadania na stlačené [46].

Vo vedeckej sfére sa vyskytli aj články sledujúce adsorpciu antibiotík na biouhlie, ktoré reprezentuje lacný a udržateľný adsorbent [47, 48]. Jedným z nich je aj výskum [47], v ktorom sledovali biouhlie vyrobené z poľnohospodárskeho odpadu citrusov. Uskutočnili vsádzkové experimenty a systémy kontinuálneho toku pre syntetické aj reálne odpadové vody z Gizy (Egypt). Vo vsádzkových pokusoch boli vzorky trepané na 200 otáčkach/min s následnou filtráciou a meraním. Kontinuálny tok mal prívod vo vyššej výške ako adsorpčná kolóna. Meranie koncentrácie TC pozostávalo z UV-VIS spektrofotometrie pri vlnovej dĺžke 360 nm, skutočné vzorky sa identifikovali aj pomocou HPLC a každá vzorka mala premerané pH. Biouhlie bolo identifikované pred a po adsorpcii využitím SEM a EDX. Z kinetických meraní sa preukázala viacstupňová adsorpcia, proces bol fyzikálny, exotermický a spontánny. Meraním SEM a FTIR sa potvrdil proces adsorpcie. Izotermy Langmuir a Temkin nevystihujú získané dáta, Dubinin–Radushkevich model ich opisoval výstižnejšie. Freundlichov model pasuje na dáta najlepšie, z čoho vyplýva, že povrch je heterogénny. Maximálna dosiahnutá adsorpčná kapacita bola 14,23 mg/g. Opakovaná využiteľnosť biouhlia bola vyskúšaná na desorpciách s desorpčným činidlom v podobe HCl. So zvyšujúcou sa koncentráciou kyseliny sa zdvíhalo aj percento desorpcie. Výstupom bolo úspešne odstránenie TC pri vsádzkových experimentoch dosahujúce 87 % a 95 % (reálne vzorky) v závislosti od podmienok a pri kontinuálnom toku bolo dosiahnutých 37 % po 2 hodinách [47].

Ďalší výskumný tím [48] skúmal biouhlie z ryžovej slamy (R) a prasačieho hnoja (M). Adsorpcia TC vykazovala rovnako spontánny a viacstupňový proces, ktorého kinetická rovnováha bola dosiahnutá pre R po 24 hodinách a pre M po 36 hodinách. Získané dáta vyhovovali modelom od Langmuira aj Freundlicha s koeficientami $R > 0,966$. Model Temkin mal nízky korelačný koeficient. Identicky prevedené vsádzkové experimenty skúmali aj vplyv pH (2–11), ktorý spôsobuje zmenu povrchových nábojov zlúčenín. S rastúcim pH sa adsorpčná kapacita na začiatku zvyšovala, dosiahla maximum pri pH 5 a následne klesala (znázornené na obrázku 2.3). V rozmedzí pH 3,5 do 7,5 môže zwitterión TC za viac ako 60 % adsorpcie. Adsorpčná kapacita bola vyššia pre biouhlie R a zvyšovala sa s rastúcou teplotou pyrolýzy [48].



Obr. 2.3: Adsorpčná kapacita (q_e) TC v závislosti na pH pre biouhlie [48]

Nové technológie

Riešenie kontaminácie životného prostredia tetracyklínmi vyžaduje moderné a efektívne technológie. Niekoľko vedeckých skupín sa zaoberalo vývojom systémov s integráciou novoobjavených mechanizmov a častíc, ktoré by mohli napomôcť problému.

Zaujímavým nálezom na efektívnu sorpciu, zároveň selektívnu a citlivú detekciu TC je netoxický fluorescenčný molekulárne vytlačený hydrogél (FMIH). Je tvorený celulóзовými nanokryštálmi, ktoré vytvárajú prirodzenú kostru štruktúrnej siete a uhlíkovými bodkami slúžiacimi ako fluorescenčná sonda s citlivou detekciou k TC. Po úspešnej príprave a charakterizácii 3D poréznej štruktúry FMIH boli prevádzané sorpčné experimenty. V sorpčných pokusoch bola testovaná účinnosť TC voči rôznym vplyvom a pH bolo od 2 do 9. Na účinok sorpcie mali dosah pH, dávka, teplota, čas, počiatočná koncentrácia a reprodukovateľnosť. Schopnosť adsorpcie si zachoval aj po šiestich regeneráciách. In vitro cytotoxické testy ukázali, že majorita buniek bola živá a FMIH môže byť používaný ako netoxický adsorbent. Využitá prístrojová technika zahŕňala SEM, FTIR (detekcia sorpcie a mechanizmov), F-7000 a UV-VIS spektrofotometre (detekčný mechanizmus). Z modelu Langmuira vychádza hodnota maximálnej sorpčnej kapacity ako 544,4 mg/g. Detekčný limit mal hodnotu 0,11 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Mechanizmus vychádza z špecifických molekulárnych rozpoznávacích miest vychádzajúcich z celulóзовých nanokryštálov a uhlíkových bodiek. Pri porovnaní ceny s komerčným aktívnym uhlím vykazoval FMIH tridsaťštyrikrát nižšie náklady. Predstavuje to nový spôsob výroby nízkonákladových účinných adsorbentov [10].

V ďalšom výskume [49] bola navrhnutá a syntetizovaná dvojdimenzionálna fluorescentná kovalentná organická štruktúra nanosférickej častice (Etta-Nap-COF) pre detekciu a odstránenie TC. Selektívna a citlivá detekcia funguje na princípe účinného fotoindukovaného elektrónového prenosu medzi nosičom a TC, kedy bola pozorovaná zosilnená fluorescencia COF časti pri ultrafialovom osvetlení. Súčasná participácia $\pi - \pi$ pôsobenia a pórovitého charakteru siete nosiča s vyššou špecifickou povrchovou plochou podporujú efektívnu adsorpciu a odstraňovanie TC. Adsorpcia TC bola meraná v časových intervaloch pri 356 nm UV-VIS absorpčnou spektroskopiou. S rastúcou koncentráciou TC sa zvyšovala aj adsorpčná kapacita až sa dosiahla saturácia obsadením kanálikov nosiča. Pri tvorbe izoteriem boli použité Freundlich a Langmuir modely, kde druhý spomínaný viac vyhovoval dátam a indikoval jednovrstvovú adsorpciu. Účinok pH bol sledovaný v rozmedzí hodnôt 2–12 s využitím Britton–Robinsonovho pufru (BR). Adsorbované množstvo bolo najvyššie pri pH 6. Maximálna adsorpčná kapacita môže dosiahnuť 457,72 mg/g. Dvojfunkčný systém Etta-Nap-COF má v budúcnosti potenciál, pretože vykazuje dobrú recyklovateľnosť, funkčnosť v celej škále pH a vysokú štruktúrnu stabilitu [49].

3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Laboratorné vybavenie a chemikálie

3.1.1 Použité chemikálie

- Tetracyklín (99,999 % čistota), Sigma Aldrich
- Deionizovaná voda, PURELAB-flex
- Kyselina octová (99 % G.R.), Lach-Ner
- Kyselina orthofosforečná (85 % p.a.), Lach-Ner
- Kyselina boritá p.a., Penta
- Hydroxid sodný pecky p.a, Penta

3.1.2 Použité prístroje

- UV-VIS spektrofotometer Hitachi U-3900H
- Kvapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity
 - kolona: Luna® Omega Polar C18 Phenomenex, (100 x 2,1 mm; 1,6 μm)
 - hmotnostný spektrometer: BRUKER EVOQ LC-TQ
 - generátor dusíka a vzduchu: Peak Scientific – Genius 3045
- pH meter METTLER TOLEDO
- Konduktometr, METTLER TOLEDO, SevenMulti
- Analytické váhy SCALTEC
- Magnetická miešačka, Thermo Fisher TM
- Centrifuga, Hettich ROTINA 420R
- FTIR spektrometer, NICOLET iS50

3.2 Charakterizácia pôd

Vzorky pôdy použité na experimenty sú zo štyroch rôznych miest Českej republiky. Pôda z Choťeboři (A) a Karlových Varov (B) je prachovitá hlina; vzorky z Ostravy (C) a z Brna mesta (D) sú prachovité ílovité hliny. Všetky vzorky boli odobrané z prvej vrstvy pôdy, vo vzdialenosti 0 až 25 cm. Pre sledované pôdy boli externým zdrojom získané základné parametre, ktoré sú uvedené v tabuľke 3.1. Najvyšší obsah organickej hmoty má pôda A, nasleduje pôda B a zvyšné 2 pôdy obsahujú približne ekvivalentné množstvo. Pôda A má taktiež najviac vápnika, koncentrácie v pôdach C a D vykazujú hodnoty rovnakého radu. Pôda C má najnižšie pH, pôda A vykazuje najvyššie hodnoty pH.

3.3 Prípravy a postupy

3.3.1 Príprava roztokov TC

Pre prípravu zásobného roztoku tetracyklínu s koncentráciou 20 mg/dm^3 bolo 0,01 mg TC rozpustených v 500 cm^3 deionizovanej vody. Pre sorpcie bola rozpipetovaním zo zásobného roztoku pripravená sada roztokov s objemom 25 cm^3 a s koncentráciou 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10 a 20 mg/dm^3 . Každá koncentrácia bola pripravená v triplete. Aj napriek informácii, že sa antibiotiká nachádzajú v prírode v rádovo nižších koncentráciách [ng/dm^3], [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$] 1.3.1, v experimente boli využité vyššie koncentrácie z dôvodu schopnosti detekcie a kvantifikácie liečiva.

Tab. 3.1: Vlastnosti skúmaných pôd

	Pôda A	Pôda B	Pôda C	Pôda D
Miesto odberu	Chotěboř	Karlovy Vary	Ostrava	Brno mesto
Pôdny druh	antroposoly	stagnosoly	luvisoly	fluvisoly
Piesok %	22,7	19,0	8,3	11,8
Prach %	59,4	55,5	73,7	63,1
Íl %	17,9	25,5	18,0	25,1
pH (v H_2O)	7,65	6,15	5,83	6,63
Organická hmota %	11,04	5,99	2,37	2,36
Organický uhlík %	6,42	3,48	1,38	1,37
Celkový dusík %	3,48	5,62	3,28	4,46
Celkový vápnik [mg/kg]	460	138	66,1	140
Celkový horčík [mg/kg]	8,6	24,3	15,7	21,9

Pre zhotovenie kalibračných kriviek boli pripravené roztoky TC v deionizovanej vode aj v pH pufoch s koncentraciami 1–100 mg/dm^3 . Roztoky boli merané použitím UV-VIS spektrofotometrie. Získané grafy kalibračných závislostí pre roztoky v deionizovanej vode a v rôznych pH sú uvedené v Prílohách 1,2,3,4 a 5.

3.3.2 Postup sorpčných experimentov

Sledovanie sorpcie TC v 4 pôdach prebiehalo vykonávaním tzv. vsádkových experimentov v plastových skúmavkách s celkovým objemom 50 cm^3 . Z dôvodu náchylnosti TC na fotodegradáciu boli vzorky uchovávané po celú dobu v alobale. Zo vzoriek pôd A, B, C a D bolo do každej skúmavky obsahujúcej 25 cm^3 roztoku pridaných 0,5 g pôdy odvážených na predvážkach. Paralelne boli pre každú pôdu pripravené blanky, v ktorých sa nachádzala pôda s rovnakým objemom deionizovanej vody. Do všetkých skúmaviek bolo pridané miešadielko a vzorky boli umiestnené na magnetickú miešačku (obrázok 3.1). Z výsledkov sledovania kinetiky sorpcií antibiotík počas minulých experimentov kolegov bol zvolený čas miešania 48 hodín, počas ktorého nastala rovnováha reakcie. Proces prebiehal na 500 otáčkach za minútu.

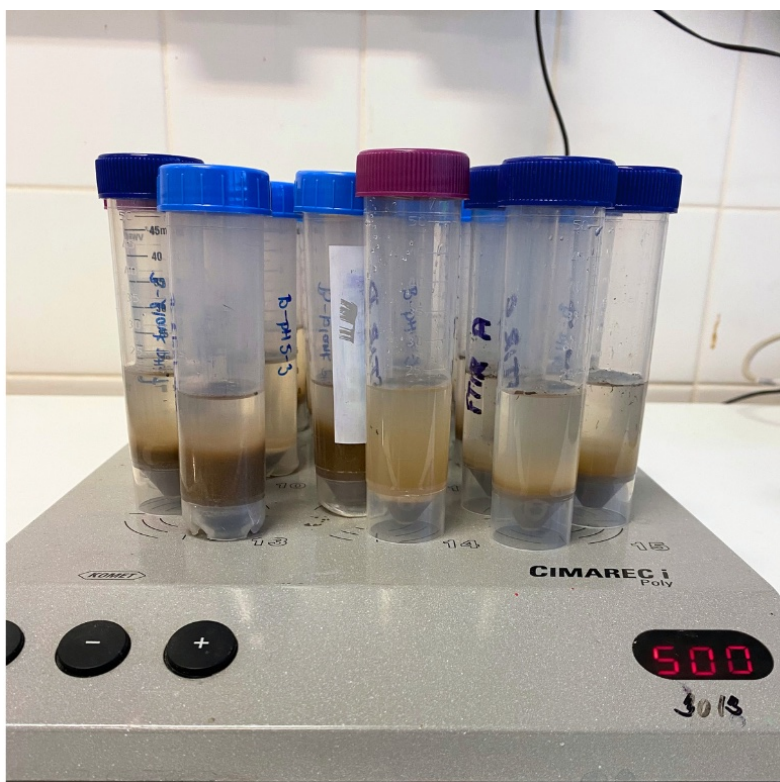
Po 48 hodinách bolo zo skúmaviek vybrané miešadielko a skúmavky boli centrifugované pri 4500 RPM po dobu 15 minút. Z dôvodu odstránenia zvyšných menších neusadených častí pôdy bol supernatant opatrne prefiltrovaný pomocou striekačkového filtra 0,45 μm . Sediment v skúmavkách bol kvantitatívne prevedený na Petriho misky, v ktorých bol sušený pri laboratórnej teplote.

U prefiltrovaných roztokov bolo merané pH a vodivosť. Pre stanovenie koncentrácie TC bola použitá UV-VIS spektroskopia a HPLC.

3.3.3 Postup desorpčných experimentov

Petriho misky so suchou pôdou boli vážené na analytických váhach. Maximálne kvantitatívne bola pôda prevedená do centrifugačných skúmaviek a Petriho misky boli pre určenie presnej navážky znova zvážené. Do jednotlivých skúmaviek vrátane blankov bolo pridaných 25 cm^3 deionizovanej vody a miešadielko. Skúmavky boli umiestnené na magnetickú miešačku na rovnakú dobu 48 hodín s nastavením 500 otáčok za minútu.

Po 48 hodinách proces prebiehal rovnako ako pri sorpciach. Po centrifugácii boli vzorky prefiltrované a bolo merané ich pH a vodivosť. Kvantifikácia obsahu TC prebiehala pomocou UV-VIS spektrofotometrie a HPLC.



Obr. 3.1: Vzorky sorpcií na magnetickej miešačke

3.3.4 Vplyv pH prostredia

Pre získanie informácie, aký vplyv má pH na sorpčné a desorpčné procesy, boli experimenty prevedené v roztokoch o štyroch rôznych pH. Ako je vysvetlené v teoretickej časti 1.5.2, hodnota pH má značný vplyv na správanie a formu antibiotík, čím reguluje priebeh sorpcií.

Roztoky TC boli pripravené v Brittonov – Robinsonovom pufrí s hodnotami pH 3, 5, 7 a 10. Navážka TC každého roztoku činila 0,01 g, do ktorého bolo pridaných 500 cm³ roztoku daného pufru pre získanie výslednej koncentrácie 20 mg/dm³.

Príprava Brittonov – Robinsonovho pufru

Pre udržanie stálej hodnoty pH v roztokoch bol vybraný univerzálny Britton – Robinsonov pufr. Využíva sa v rozsahu pH od 2 do 12. Obsahuje zmes kyseliny boritej, fosforečnej a octovej, ktoré znižujú pH a zvyšujú pK_a . Pre získanie požadovaného pH je do zmesi pridávaný hydroxid sodný, kedy zmena pH je úmerná jeho množstvu [50]. Príprava Brittonov – Robinsonovho pufru spočívala z prvotnej prípravy jeho kyslej a následne zásaditej zložky. Podľa daných pomerov zmiešavania týchto častí boli pripravené roztoky s pH 3, 5, 7 a 10.

Na začiatku bolo do celkového objemu 1 dm³ deionizovanej vody zmiešaných 2,73 cm³ kyseliny orthofosforečnej (0,04 mol/dm³), 2,31 cm³ kyseliny octovej (0,04 mol/dm³) a 2,473 g práškovej kyseliny boritej (0,04 mol/dm³). Ďalej bol pripravený roztok hydroxidu sodného s koncentráciou 0,2 mol/dm³, rozpustením pevných pecičiek v deionizovanej vode. Navážka činila 7,996 g NaOH a bola rozpustená v 1 dm³ deionizovanej vody. Po úplnom rozpustení pevných častíc v kyslých zložkách bol do jednotlivých zmesí pridávaný roztok hydroxidu sodného. Postupným pridávaním jeho malých objemov ku kyslej zmesi bolo docielené požadované pH. Po každom malom prídavku bolo zmerané pH roztoku. V tabuľke 3.2 sa nachádzajú presné prídavky hydroxidu sodného k 1 dm³ kyslých zložiek. Presné hodnoty pH roztokov boli 3,02; 5,05; 6,97 a 10,00.

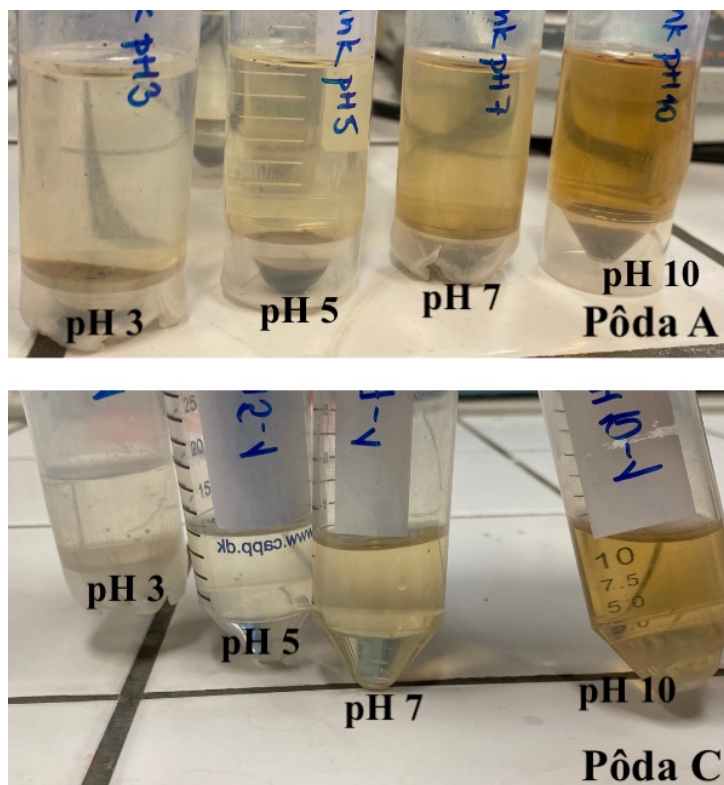
Tab. 3.2: Objemy zásaditej zložky pre prípravu Brittonov – Robinsonovho pufru

pH	Hydroxid sodný [cm^3]
pH 3	160
pH 5	350
pH 7	523
pH 10	769

Sorpcie a desorpcie vplyvu pH

Z pripravených zásobných roztokov TC s koncentráciou $20 \text{ mg}/dm^3$ v štyroch rôznych pH bolo do jednotlivých 50 cm^3 skúmaviek napipetovaných 20 cm^3 z roztokov pre proces sorpcí. Do každej skúmavky bolo pridaných 0,4 g pôdy A, B, C a D. Pre každé pH boli vzorky pripravené v tripletoch. Pre každú pôdu bol pripravený zrovnávací blank, ktorý pozostával z 20 cm^3 Brittonov – Robinsonovho pufru s pH 3, 5, 7 a 10 a rovnakej navážky danej pôdy. Ďalší postup sorpcí prebiehal rovnako ako je popísané v kapitole ???. Pre desorpčné procesy bolo k vysušenej pôde zo sorpcí pridaných 20 cm^3 deionizovanej vody. Postupovalo sa rovnako ako v predošlom prípade.

Ukážka vzoriek po centrifugácii a filtrácii je zobrazená na obrázku 3.2. Vo vrchnej časti obrázka sú vzorky pôdy A po centrifugácii, kedy je v spodných častiach skúmaviek vidieť usadenú pôdu. Vzorky pôdy C v dolnej časti obrázka sú už po filtrácii a v skúmavkách sa nachádza prefiltrovaný supernatant. Je pozorovateľný farebný rozdiel, kedy intenzita sfarbenia narastá so zvyšujúcim sa pH. Vzorka vpravo s pH 10 vykazuje najtmavšie sfarbenie, ktoré môže byť pripísané vyluhovaním väčšieho množstva organickej zložky pôdy, najmä huminových kyselín. Pri pH 3 je sfarbenie roztoku (najmä pri pôde C) už takmer priehľadné. Taktiež je viditeľné, že sfarbenie roztokov pôdy A je pri všetkých pH intenzívnejšie ako u pôdy C. Dôvodom je vyšší podiel organickej hmoty v pôde A. Rovnaký jav bol viditeľný aj pri desorpciách.



Obr. 3.2: Rozdiely roztokov TC v rôznych pH

3.3.5 Fotodegradácia

Po literárnej rešerši bol tetracyklín považovaný za rýchlo degradujúce liečivo na svetle [15, 18]. Mnohé štúdie využívajú fotokatalyzátory, ktoré spôsobujú degradáciu v jednotkách minút až hodín [51]. Príčinou skúmania degradácie roztoku TC na svetle bolo zistiť, v akom časovom intervale sa dej uskutočňuje pre zaistenie stability antibiotika počas experimentov.

Boli pripravené 2 roztoky tetracyklínu s koncentráciou 50 mg/dm^3 . Na analytických váhach bolo navážených $0,0125 \text{ g TC}$, ktoré bolo rozpustené v 250 cm^3 deionizovanej vody. Prvý vzorok bol zabalený do alobalu a uchovávaný pri laboratórnej teplote v tme. Druhý vzorok bol ponechaný na prirodzenom svetle na okennej parapete laboratória.

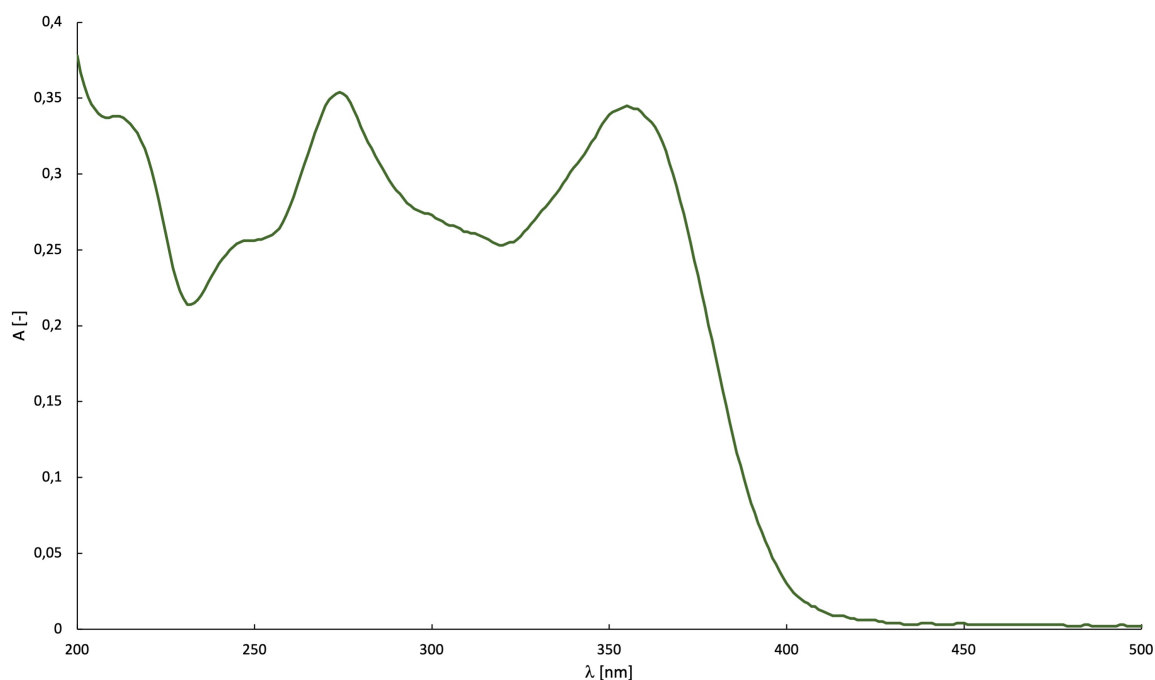
Pre získanie informácií o degradácii boli v časových intervaloch merané UV-VIS spektrá oboch vzoriek. Vyhodnotenie prebiehalo dosadením absorbancií do kalibračných kriviek dostupných v Prílohách. Prvé merania boli uskutočnené rádo vo v desiatkach minút po príprave roztokov. Keďže neboli viditeľné žiadne zmeny, interval sa zvýšil na hodiny, dni a mesiace (presné časové údaje uvedené v kapitole 4.5).

3.4 Využitie analytické metódy

3.4.1 UV-VIS spektroskopia

UV-VIS spektroskopia je analytická technika, ktorá meria svetlo absorbované molekulami roztoku v ultrafialovej a viditeľnej oblasti spektra. Výsledná hodnota absorbancie je závislá na zložení a koncentrácií vzorky [52].

Spektroskopické meranie pozostávalo z merania absorpčného spektra vo vlnových dĺžkach $600\text{--}200 \text{ nm}$ s krokom 1 nm . Na obrázku 3.3 je znázornené absorpčné spektrum roztoku tetracyklínu 10 mg/dm^3 . Pri sorpčných a desorpčných pokusoch bola ako baseline použitá deionizovaná voda, pri sledovaní pH bola baseline nastavená na daný pH pufr.



Obr. 3.3: Absorpčné spektrum tetracyklínu 10 mg/dm^3

Z nameraných spektrier boli ďalej spracovávané hodnoty absorbancií pri vlnových dĺžkach 275 a 358 nm, v ktorých má TC maximá (viď obrázok 3.3). Zo série troch hodnôt absorbancie jednej pôvodnej koncentrácie bola vypočítaná priemerná hodnota absorbancie. Od nej bola odčítaná hodnota absorbancie referenčného vzorku blanku, čím sa odčítala vylúhovaná tieniaca zložka pôdy. Dosadením do rovníc kalibračných kriviek boli získané rovnovážne koncentrácie TC odpovedajúce nenasorbovanému množstvu liečiva prítomného v roztokoch. Pri sorpcii bola následným rozdielom medzi pôvodnou koncentráciou a koncentráciou zostávajúcou v rovnovážnom roztoku získané adsorbované množstvo tetracyklínu vzťahované na presnú navážku pôdy (adsorpčná kapacita). Pri hodnotení adsorbovaného množstva TC je vnímaný vplyv zložiek v danej vzorke pôdy, ktorý bol získaný meraním pH a vodivosti roztokov po sorpcii a desorpcii.

Vzorky z merania vplyvu pH boli vyhodnocované rovnako, avšak z ich kalibračných absorpčných spektier pre 4 rôzne pH boli získané rozličné hodnoty maxím 4.5.

3.4.2 HPLC

Vysoko účinná kvapalinová chromatografia je analytická metóda, ktorá sa používa na oddelenie, identifikáciu a kvantifikáciu každej zložky z roztoku. Zmes je oddeľovaná pod vysokým tlakom pomocou základného princípu chromatografie (interakcie medzi mobilnou a stacionárnou fázou). Kvantifikácia látok je uskutočnená pomocou spektroskopie [53].

Pred chromatografickým meraním boli vzorky sorpcii s pôvodnou koncentráciou 20 mg/dm^3 a vzorky v pufroch s pH 7 a 10 vhodne nariadené. Všetky vzorky boli prefiltrované cez chromatografický filter $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ do vialiek s objemom 2 cm^3 a podrobené analýze v chromatografe.

3.4.3 FTIR

Infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou je založená na vystavení vzorky infračervenému elektromagnetickému žiareniu. To má dlhšie vlnové dĺžky a nižšiu frekvenciu v porovnaní s viditeľným a UV svetlom. Merané spektrum hovorí o väzbách medzi atómami, ktoré absorbujú svetlo v rôznych frekvenciách, čím získame informáciu o molekulárnom zložení (jednotlivé funkčné skupiny) a štruktúre vzorku [54].

Použitá metóda je nenáročná na prípravu vzorku, kedy na samotné meranie je potrebné malé množstvo suchej pevnej pôdy podrobenej sorpcii. Pre zistenie interakcií medzi pôdou a tetracyklínom boli merané spektrá v rozsahu frekvencií $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$ s krokom 1 cm^{-1} pre koncentráciu TC 20 mg/dm^3 . V spektroskope bola využívaná ATR technika (zoslabený úplný odraz) s diamantovým kryštálom. Pracuje na princípe lúča odrazeného od kryštálu, ktorý vo vzorke zaznamenáva zmeny. Touto metódou je možné merať spektrá látok, ktoré neprepúšťajú žiarenie [54].

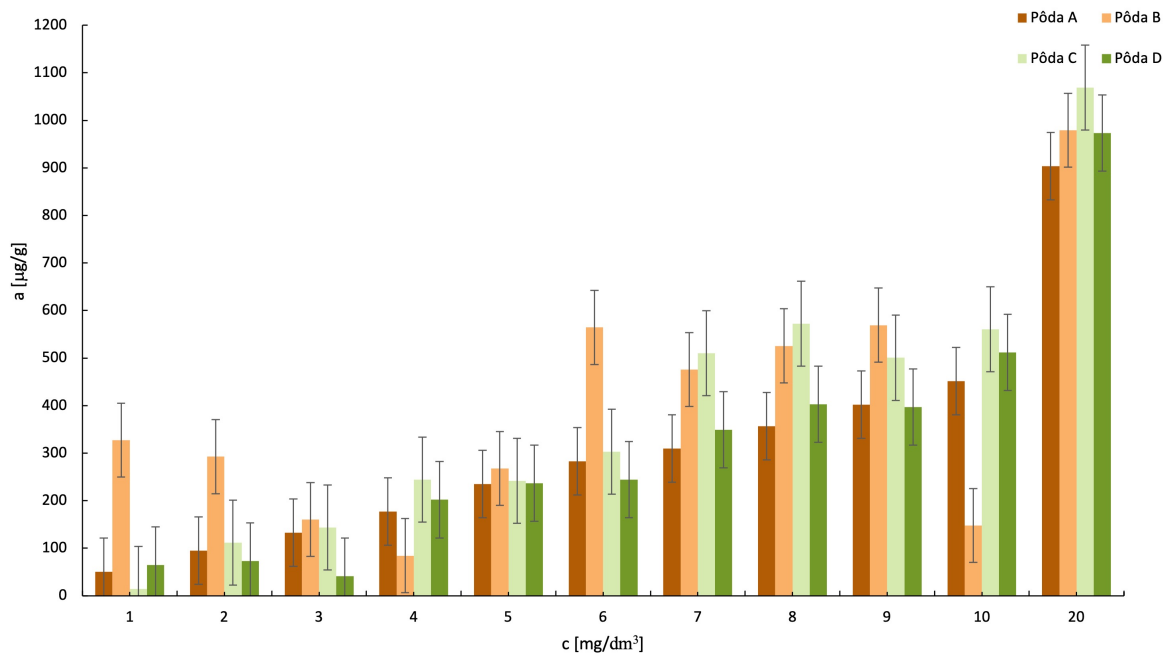
4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

4.1 Porovnanie sorpčných experimentov

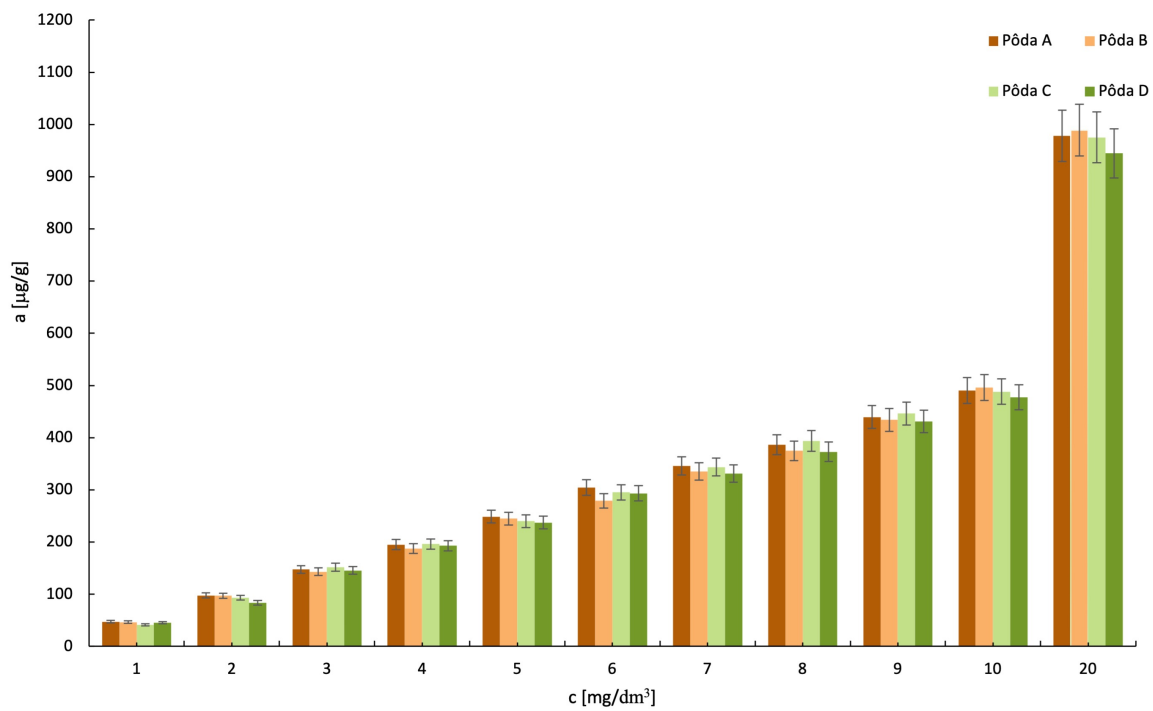
Hlavnými sorpčnými experimentami tetracyklínu v štyroch rôznych pôdach bolo ukázané, že sorpcie boli úspešné pre všetky koncentrácie. Spracovaním výsledkov z UV-VIS spektroskopického merania (obrázok 4.1) a HPLC merania (obrázok 4.2) boli pre porovnanie pôd vytvorené stĺpcové grafy závislosti pôvodnej koncentrácie na rovnovážnom adsorbovanom množstve TC. Výsledky stanovené pomocou UV-VIS spektroskopie boli, až na odchýlené hodnoty pri pôde B, v relatívne dobrej zhode s výsledkami z kvapalinovej chromatografie. V úvahu je nutné brať fakt, že pri prvej spomínanej metóde je nutné odčítať tieniaci faktor pôdy a preto sú výsledky menej presné. U všetkých pôd sa so zvyšujúcou pôvodnou koncentráciou roztoku zvyšovalo aj adsorbované množstvo. Pri výsledkoch z UV-VIS spektroskopie je v grafe vidno, že nasorbované množstvá dosahovali v pôdach značné rozdiely. V pôde B boli zaznamenané najväčšie výkyvy. Presnejšie výsledky boli získané z merania HPLC, z ktorých boli usudzované aj závery. Hodnoty sa líšili rádovo v jednotkách a desiatkách $\mu\text{g/g}$. Pri porovnaní adsorpcie pri koncentráciách 10 mg/dm^3 a 20 mg/dm^3 , je viditeľný dvojnásobný nárast adsorbovaného množstva pri všetkých pôdach. Hodnoty sa pri pôde A pohybovali od $47 \mu\text{g/g}$ pri najnižšej pôvodnej koncentrácii až po $978 \mu\text{g/g}$ pri pôvodnej koncentrácii roztoku 20 mg/dm^3 . Pri pôde B to bolo rozmedzie od $47\text{--}989 \mu\text{g/g}$, pri pôde C $41\text{--}977 \mu\text{g/g}$ a pri pôde D $45\text{--}945 \mu\text{g/g}$. Z hodnôt je možné usúdiť, že v pôdach A a B bola sorpcia najvyššia, mierne sa líšila v závislosti na koncentrácii. Pri vyššej koncentrácii pôvodných roztokov boli rozdiely v adsorbovaných množstvách vyššie. Pri najvyšších dvoch koncentráciách je viditeľné, že najvyššia adsorpcia bola v pôde B, pôda A a C vykazovala takmer identické množstvá a najnižšie hodnoty boli stanovené v pôde D.

Závislosť adsorbovaného množstva na rovnovážnej koncentrácii ukazuje obrázok 4.3. Pre znázornenie je uvedená závislosť pre pôdu A a dá sa v nej vidieť, že so zvyšujúcou pôvodnou koncentráciou sa zvyšovalo aj adsorbované množstvo TC a len malá časť ostala v roztoku. Všetky pôdy mali v grafoch rovnaký trend, hodnoty rovnovážnych koncentrácií boli odlišné.

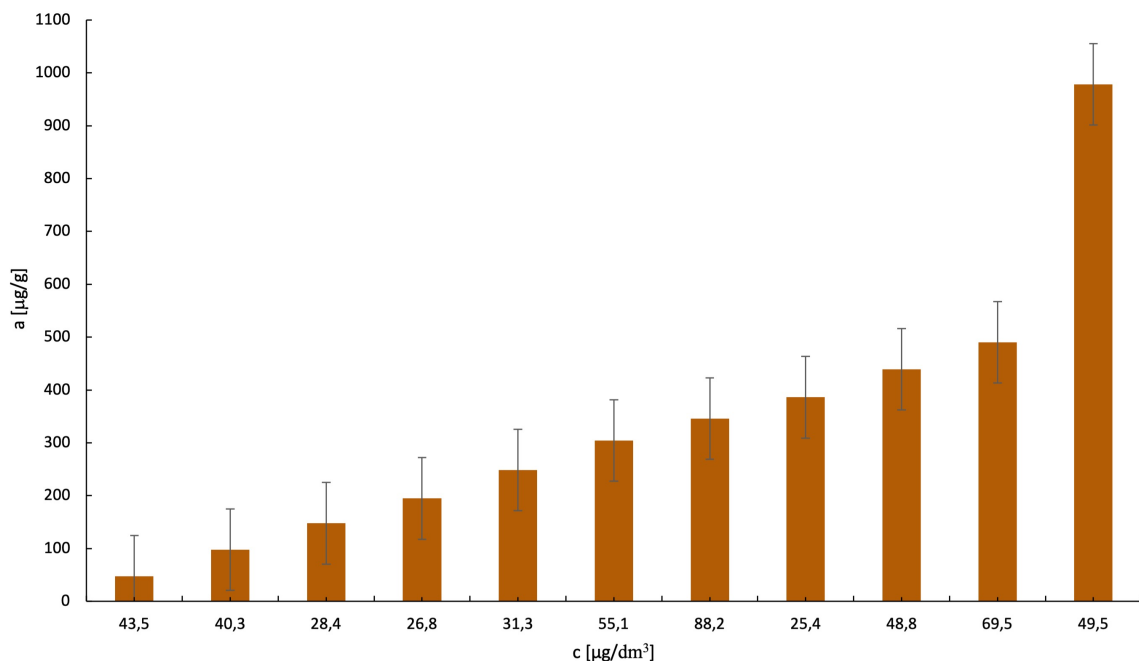
V grafe (obrázok 4.4) je vynesená závislosť účinnosti sorpcie jednotlivých pôd a pôvodných koncentrácií. Výpočet účinnosti pozostával z pomeru koncentrácie adsorbovaného liečiva k počiatočnej koncentrácii roztoku. Bolo potvrdené, že účinnosť adsorpcie sa v pôde A pohybovala od 95,7 % do 99,8 %, v pôde B od 93,8 % do 99,5 %, v pôde C od 98,0 % do 99,8 % a v pôde D bola pozorovaná najnižšia účinnosť s hodnotami od 84,7 % do 97,7 %. Celkovo vo všetkých pôdach boli adsorbované množstvá vzhľadom k maximálnemu dostupnému množstvu TC v roztoku vysoké. Je to odrazom faktu, že tetracyklíny majú vysoké sorpčné koeficienty, v pôde sú imobilizované a z väčšou pravdepodobnosťou pretrvávajú viac v pôde ako vo vodnej časti [7]. Aj literatúra 1.3.3 ukazuje, že najvyššie koncentrácie TC boli v prírode nachádzané v pôdach.



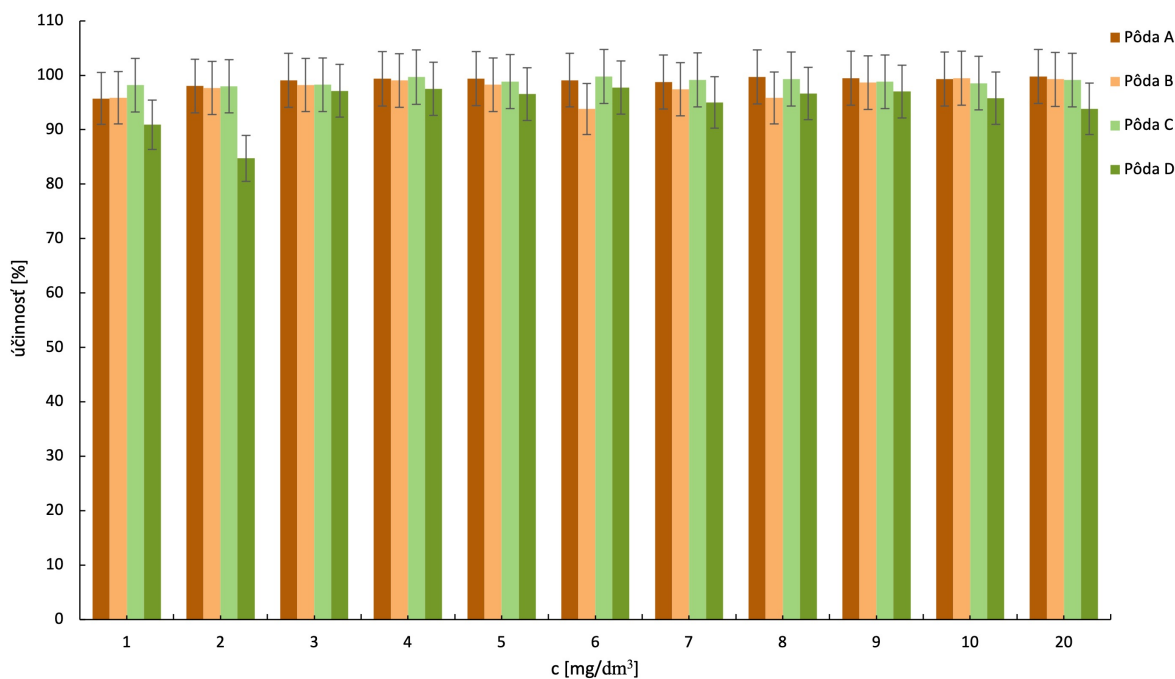
Obr. 4.1: Adsorbované množstvá TC v pôdach v závislosti na pôvodnej koncentrácii (UV-VIS)



Obr. 4.2: Adsorbované množstvá TC v pôdach v závislosti na pôvodnej koncentrácii (HPLC)



Obr. 4.3: Závislosť rovnovážnej koncentrácie na adsorbovanom množstve TC v pôde A



Obr. 4.4: Účinnosť sorpcie TC pre štyri pôdy v závislosti na pôvodnej koncentrácii

Podľa teoretického usúdenia vplyvu organickej zložky a vápnika by mala vykazovať pôda A najlepšie sorpčné vlastnosti a pôda C najnižšie. Táto hypotéza sa nepreukázala a pôda C jasne konkuruje pôde A. Pri zohľadnení pomeru organickej zložky k vápniku v pôdach, vyказuje najvyššie číslo pôda B a C, čo by mohlo vypovedať o získaných výsledkoch. Môže to byť tiež následkom prítomnosti iných zložiek (pravdepodobne anorganických), ktoré zadržávajú liečivo v pôdach.

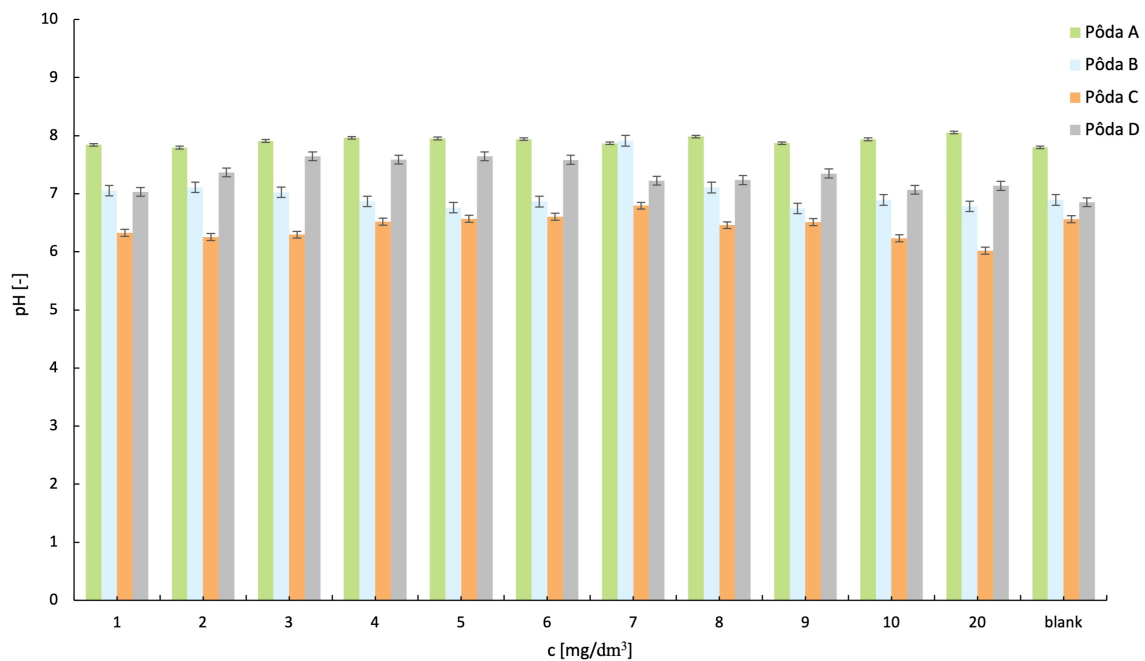
Zo zistení z literatúry je možné konštatovať, že dôležitými faktormi pre sorpčnú kapacitu sú obsah organickej hmoty a prítomnosť katiónov v pôde. Pravdepodobne je sorpcia spôsobená viacerými interakciami a mechanizmami medzi polárnymi, nabitými funkčnými skupinami TC (hlavne karboxylové) a funkčnými skupinami v organickej hmote a anorganickej zložke (pri tetracyklíne najmä spomínaný vápnik) [55]. Článok [46] poukazuje na zistenie, že mechanizmus sorpcie je založený hlavne na katiónovej výmene a vedľajšími dejmi sú povrchová komplexácia, protonácia a hydrofóbne interakcie. To sa mohlo prejavíť aj v našom experimente, kedy sa TC viazal najmä pôsobením anorganických iónov spomínanou katiónovou komplexáciou. Ako uvádza výskum [4], liečivá môžu tvoriť v pôde komplexy zložené z troch zložiek (TC–katión–OM) a zvýšiť tak ich naviazanie na pôdu. V článku [13] poukazujú na zistenie, že vyššia prítomnosť vápnika v pôdach zvyšuje sorpciu tetracyklínu, kedy Ca^{2+} môže pôsobiť ako katiónové spojenie medzi pôdou a TC. Tento fakt je v miernom rozpore so získanými dátami, keďže pôda C obsahovala najnižšie množstvo vápnika a nevykazovala znížené adsorbované množstvo, v porovnaní s ostatnými pôdami. Naopak pôda A obsahovala najvyššiu koncentráciu vápnika a taktiež organickej hmoty a adsorbované množstvá sa radikálne nelíšili. Opäť to môže byť vysvetlené synergickým účinkom pôdy a OM, kedy pôda B a C majú pomer týchto zložiek najvyšší. Dôvodom môže byť aj fakt, že vo všetkých pôdach bolo množstvo vápnika relatívne vysoké (od 66–460 mg/kg pôdy) a mal značný vplyv na sorpcie aj v pôde C a pôde D, ktoré nemali obsah organickej hmoty vysoký (viď. tabuľka 3.1).

4.1.1 Hodnoty pH a vodivosti

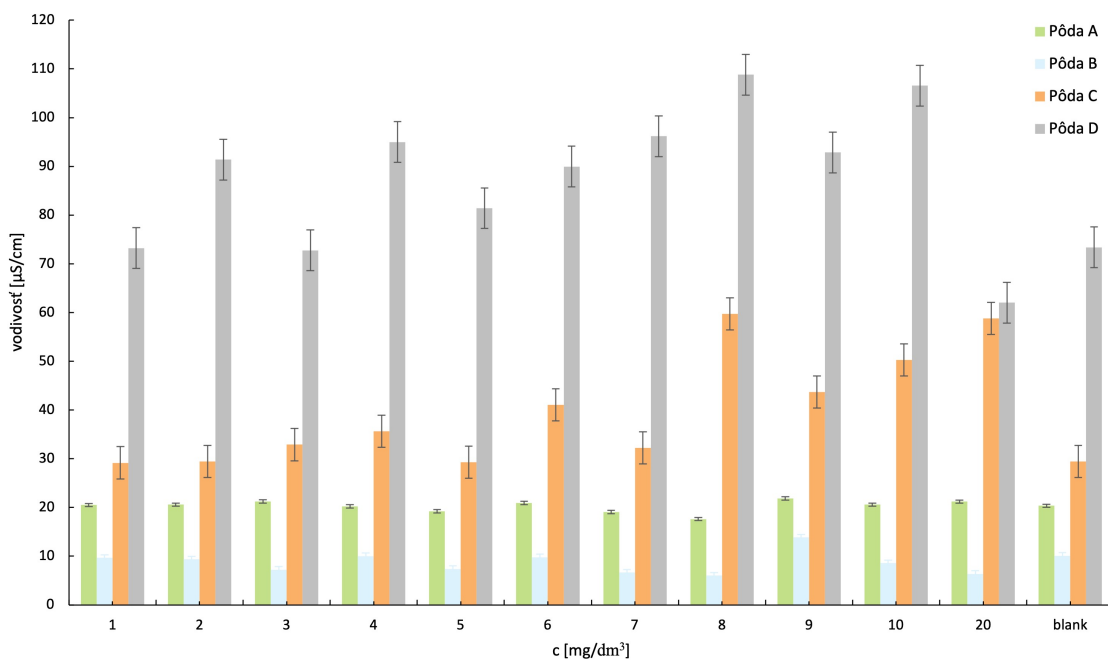
Počas stanovenia koncentrácie tetracyklínu vo vzorkách po sorpciách bolo súčasne merané pH a vodivosť roztokov. Pre získanie relevantných hodnôt pH, ktoré môžu byť porovnané, boli namerané hodnoty prepočítané na rovnakú navážku pôdy 0,5 g.

Hodnoty pH sa pohybovali v rozmedzí od 6 do 8. Výkyvy od neutrálneho pH sú spôsobené vylúhovaním časti z pôdy, ktoré majú kyslý alebo zásaditý charakter. Avšak, hodnoty pH sa nenachádzajú v kyslej oblasti a preto nie je predpokladaný vysoký výluh organickej časti pôdy. Najmä huminových kyselín a ich protónov, ktoré zodpovedajú za zmenu pH. Porovnanie hodnôt pH vo všetkých pôdach je znázornené v grafe (obrázok 4.5). Z uvedeného grafu je možné vidieť, že pôda A vykazovala najvyššie hodnoty pohybujúce sa od 7,8 až k 8, pôda B mala hodnoty o niečo nižšie 6,7–7,1 (1 koncentrácia 7,9). Najnižšie hodnoty pH 6,0–6,8 boli prítomné pri pôde C a v pôde D sa čísla pohybovali od 6,65–7,0. Hodnoty pH po sorpcii vykazovalo vo všetkých pôdach mierne zvýšenie od pH nameraného pre samotné pôdy (tabuľka 3.1), čo môže poukazovať na vysokú sorpciu TC. Z grafu je možné vypožorovať, že hodnota pH nie je závislá na prítomnej koncentrácii tetracyklínu. Taktiež pri porovnaní vzoriek s blankom neboli pozorované výrazné rozdiely. Priebeh sorpcie a množstvo naviazaného liečiva môže byť ovplyvnené hodnotou pH roztoku ale aj samotnou pôdou v danej vzorke.

Vodivosť po sorpcii bola nameraná vo všetkých roztokoch v jednotkách $\mu S/cm$. Vplyv na jej hodnotu majú všetky prítomné ióny, nachádzajúce sa v roztoku a ich interakcie. Pri experimentoch bola používaná deionizovaná voda, ktorá je zbavená iónov a tak neovplyvňuje na meranie. V meraných vzorkách by ju mali teda ovplyvňovať molekuly liečiva a vylúhované ióny organickej a anorganickej časti pôdy. Pri hodnotách vodivosti sú pozorované väčšie rozdiely medzi pôdami ako u hodnôt pH. Hodnoty sa pohybovali od 6 do 109 $\mu S/cm$. Najvyššie hodnoty boli sledované v pôde D v rozmedzí 62–109 $\mu S/cm$, potom v pôde C s hodnotami 29–60 $\mu S/cm$, následne pri vzorkách pôdy A s rozmedzím 17–22 $\mu S/cm$ a najnižšie hodnoty boli pri pôde B s číslami od 6–14 $\mu S/cm$. Z grafu je pozorovateľné (obrázok 4.6), že hodnoty vodivosti sú vyššie pri pôdach C a D, ktoré majú nižší obsah organickej hmoty. To môže byť spôsobené tým, že vyššie množstvo organickej hmoty v pôdach A a B zadržiava ióny v pôde a neluhoje sa z nej. Pri porovnaní vodivosti vzoriek s TC a blankom vidíme, že blanky pôd C a D vykazujú nižšiu vodivosť. Tetracyklín tak môže v týchto pôdach zadržiavať ióny.



Obr. 4.5: Hodnoty pH roztokov po sorpcii v závislosti na pôvodnej koncentrácii



Obr. 4.6: Hodnoty vodivosti pre roztoky po sorpcii v závislosti na pôvodnej koncentrácii

4.1.2 Adsorpčné izotermy

Dáta získané zo sorpčných experimentov boli vyhodnotené s použitím adsorpčných modelov Langmuira a Freundlicha, ktoré sú popísané v kapitole 1.5.3. Tieto dva modely sú najčastejšie využívané pri popise sorpcí polutantov na rôzne biosorbenty. Vyhodnotenie bolo prevedené pomocou rovníc uvedených v teórii práce, kedy boli získane parametry adsorpčných izoteriem.

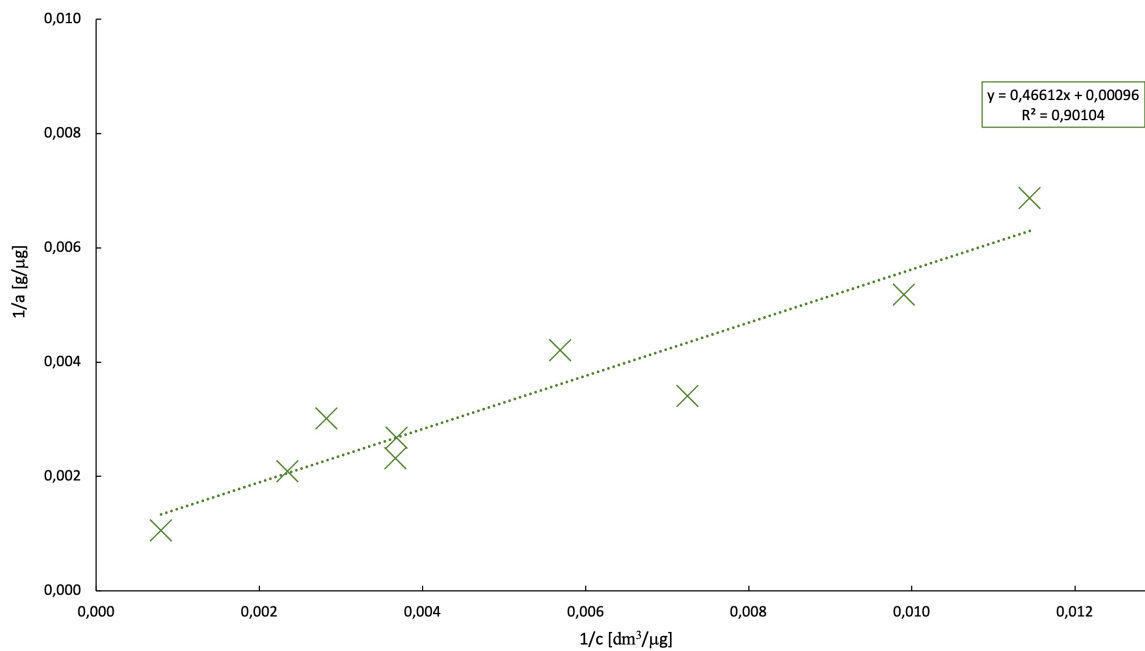
Tab. 4.1: Koeficienty adsorpčných izoteriem

	Langmuir			Freundlich		
	a(max) [$\mu\text{g/g}$]	K_L [$\text{dm}^3/\mu\text{g}$]	R^2	K_F [$\mu\text{g}\cdot\text{dm}^3/\text{g}$]	n [$\text{dm}^3/\mu\text{g}$]	R^2
A	1889,39 ± 94,47	$3,94 \cdot 10^{-3} \pm 1,97 \cdot 10^{-4}$	0,70	8,38 ± 0,42	0,85 ± 0,04	0,37
B	878,81 ± 43,89	$3,22 \cdot 10^{-3} \pm 1,61 \cdot 10^{-4}$	0,81	31,35 ± 1,57	0,43 ± 0,02	0,42
C	272,25 ± 13,61	$1,03 \cdot 10^{-1} \pm 5,16 \cdot 10^{-3}$	0,1	28,99 ± 1,45	0,56 ± 0,03	0,58
D	1040,23 ± 52,01	$2,06 \cdot 10^{-3} \pm 1,03 \cdot 10^{-4}$	0,90	9,87 ± 0,49	0,64 ± 0,03	0,96

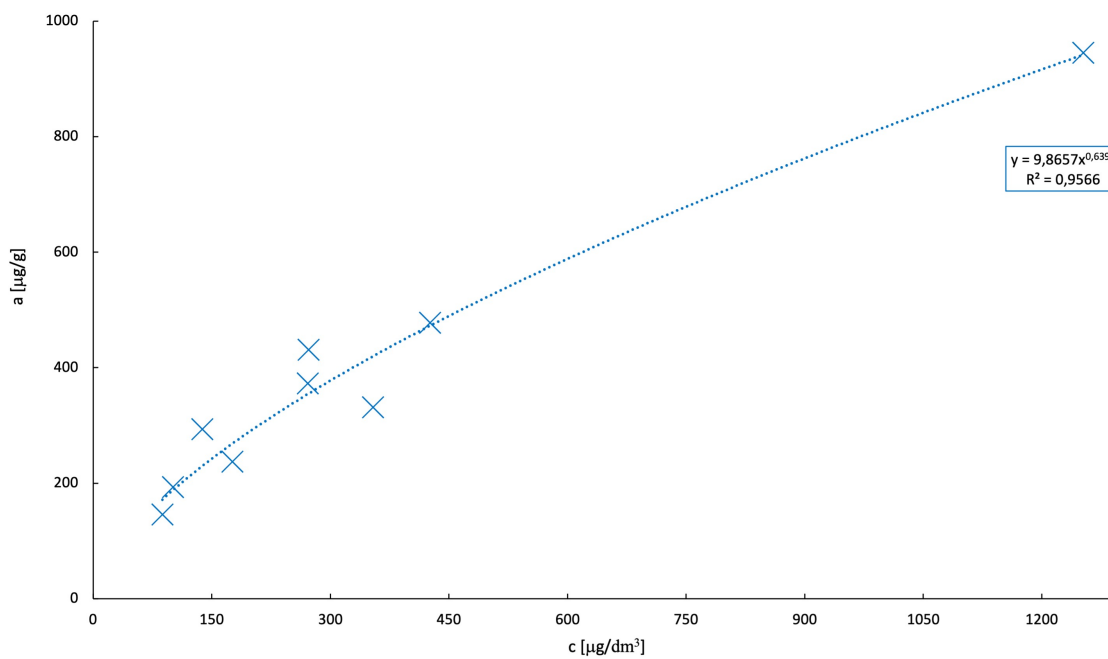
Na základe koeficientu spoľahlivosti viac vyhovuje získaným experimentálnym dátam pôdy A, B a D Langmuirov model. Ten popisuje chemickú adsorpciu so vznikom pevnejších väzieb a s obmedzenou adsorpčnou kapacitou. To by sa dalo vysvetliť vyšším obsahom organickej hmoty v pôde A a B, ktorá pevnejšie viaže liečivo a vyšším obsahom vápnika vo všetkých troch pôdach. Najvyššiu hodnotu maximálnej adsorpčnej kapacity a_{max} mala pôda A (1889 $\mu\text{g/g}$), následne pôda D 1040 ($\mu\text{g/g}$) a najnižšiu vykazovala pôda B (878 $\mu\text{g/g}$). Pre pôdu A je to značne vyššia hodnota, ako bola sorpciami dosiahnutá. Pri pôde D bola podľa tohto modelu hodnota maximálnej adsorpčnej kapacity takmer dosiahnutá pri najvyššej skúmanej koncentrácii (viz. 4.2). Pre pôdu B je hodnota relatívne nízka a pri experimente bola dosiahnutá. Dáta získané pre pôdu C nevyhovujú tomuto modelu, vykazujú nízky koeficient spoľahlivosti a Langmuirova konštanta (K_L) je o dva rady vyššia ako pri ostatných pôdach. Hodnoty K_L hovoria o väzbovej energii adsorpcie a vyjadrujú tak afinitu adsorpčných centier k adsorbátu. V grafe (obrázok 4.7) je zobrazená závislosť prevrátenej hodnoty adsorbovaného množstva k prevrátenej hodnote rovnovážnej koncentrácie v roztoku pôdy D. Experimentálne dáta vykazujú nízky rozptyl a je v nich pozorovateľný lineárny charakter. Konštanty Langmuirovej adsorpčnej izotermy boli získané po preložení regresnou priamkou lineárneho tvaru. Získaná rovnica je zobrazená v grafe a výpočet konštánt prebiehal pomocou vzťahu 1.4. Vypočítané hodnoty konštánt pre všetky pôdy sú zobrazené v tabuľke 4.1.

Získaným experimentálnym dátam pre pôdu D najviac vyhovuje Freundlichov empirický model, kedy preložené experimentálne dáta s vysokou mierou opisujú mocninový tvar krivky. Predpokladá neobmedzený počet sorpčných miest s viacvrstvovou fyzikálnou sorpciou. V tabuľke 4.1 sú viditeľné aj koeficienty spoľahlivosti, kedy adsorpcia na pôdu D s koeficientom 0,96 vykazovala najvyššiu mieru linearitu. Pre pôdu C je tento model vhodnejším ako model Langmuir, avšak koeficient spoľahlivosti je dosť nízky nato, aby model výstižne popisoval sorpciu. Pre pôdu A a B boli koeficienty spoľahlivosti pod úrovňou 0,5, čo značí o vysokom rozptyle hodnôt a nevhodnosti tohto modelu.

Graf Freundlichovej adsorpčnej izotermy pôdy D je zobrazený na obrázku 4.8. Využíva preloženie dát regresnou krivkou mocninového tvaru, kde boli z rovnice uvedenej v grafe získané pomocou rovnice 1.5 konštanty K_F a n. Adsorpcia použitím fyzikálnych síl, na ktorú vysvetľovala najvyššiu mieru desorpcie. Hodnota konštanty n je 0,64 a hovorí o intenzite adsorpcie. Nízke hodnoty n u pôd poukazujú na vysokú adsorpciu pri nízkych koncentráciách roztoku. Konštanta K_F má hodnotu 9,87 $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^3/\text{g}$ a popisuje afinitu TC k pôde a adsorpčnú kapacitu sorbentu. Hodnota pre pôdu D je nižšia ako u modelu Langmuir. Môže to byť spôsobené Tabuľka 4.1 ukazuje, že oba modely izoteriem sú vhodné pre popis sorpcie v pôde D.



Obr. 4.7: Langmuirova adsorpční izoterma pôdy D



Obr. 4.8: Freundlichova adsorpční izoterma pôdy D

Pre porovnanie získaných parametrov s inými štúdiami, kde je pozorované, že vypočítané maximálne adsorpčné kapacity boli v jednotkách [mg/g]. Odchýlka výsledkov tejto práce môže byť spôsobená použitím malých koncentrácií pri sorpciach. V článku [4] zistené, že väčšinu skúmaných pôd lepšie opisoval model Langmuir. Hodnoty a_{max} boli v rozmedzí od 58,82–7,81 mg/g, čo sú značne vyššie hodnoty ako v našich pôdach. Iný výskum uviedol, že sorpcie TC na biouhlie a ďalšie adsorbenty by mali uprednostňovať využitie Langmuirovho modelu. Odôvodnením, je vplyv rôznych mechanizmov ako sú elektrostatické interakcie, výmena kationov alebo hydrofóbne interakcie [4]. Posledný zmieneny argument by mohol vysvetliť aj výsledky z tejto práce, kedy v každej pôde prevládal iný mechanizmus a sú viditeľné patrné rozdiely v správaní tetracyklínu.

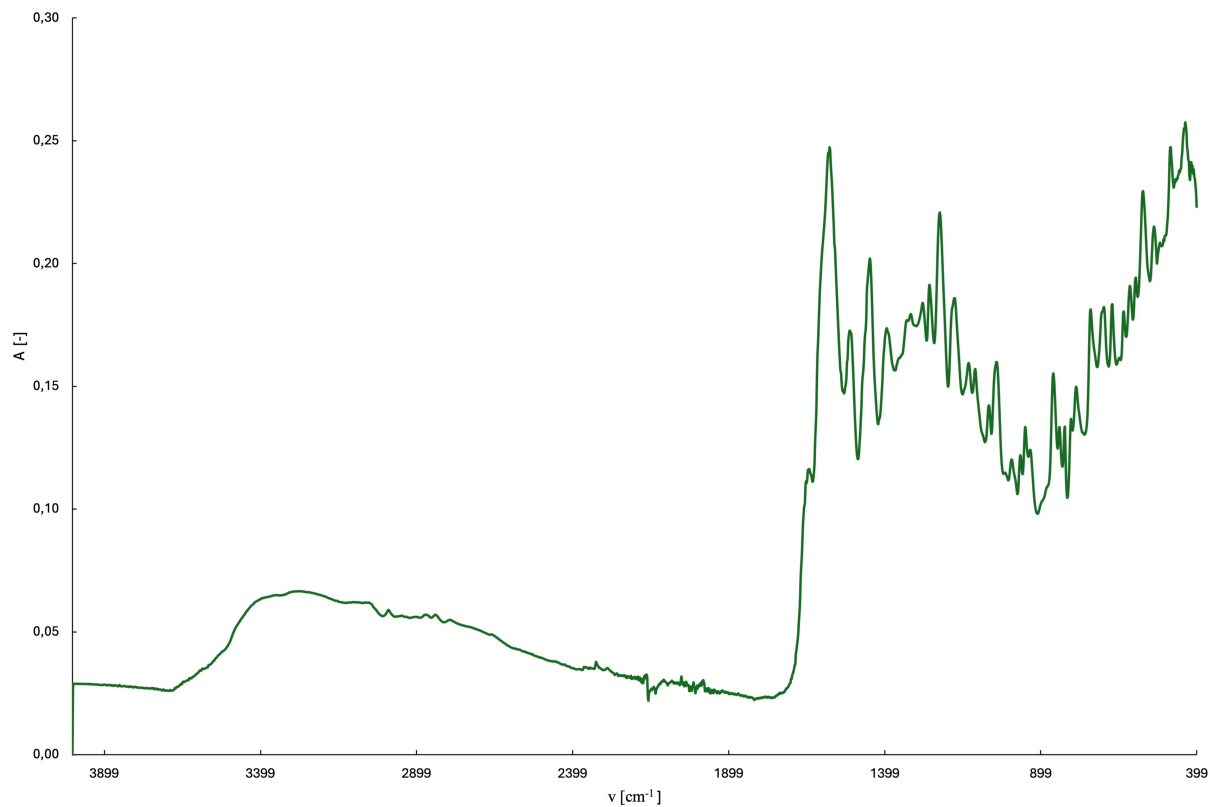
Naopak, v iných štúdiách pozorovali, že sorpcia TC do pôd je lepšie opísaná modelom Freundlich. Vedci Xu a Li v roku 2010 prehlásili, že pri sorpcii TC do morských sedimentov je vhodnejším modelom Freundlich, pretože sa tam uskutočňuje viacvrstvomá adsorpcia a sediment obsahuje veľké množstvo adsorpčných miest. Taktiež uvideli, že tento model je vhodnejším pri pôdach s prídavkom kompostu [4]. Toto tvrdenie sa v prevedenom experimente nepotvrdilo, keďže pôdam A a B s najvyšším obsahom OM model nevyhovoval. Štúdia [55] ukazuje nelineárny priebeh adsorpcie a lepšie preloženie experimentálnych dat modelom Freundlich. Nelinearita bola rovnako sledovaná aj v sorpciách tejto práce, keďže koeficienty spoľahlivosti boli pri pôdach A, B a C nízke.

4.1.3 Stanovenie interakcií metódou FTIR

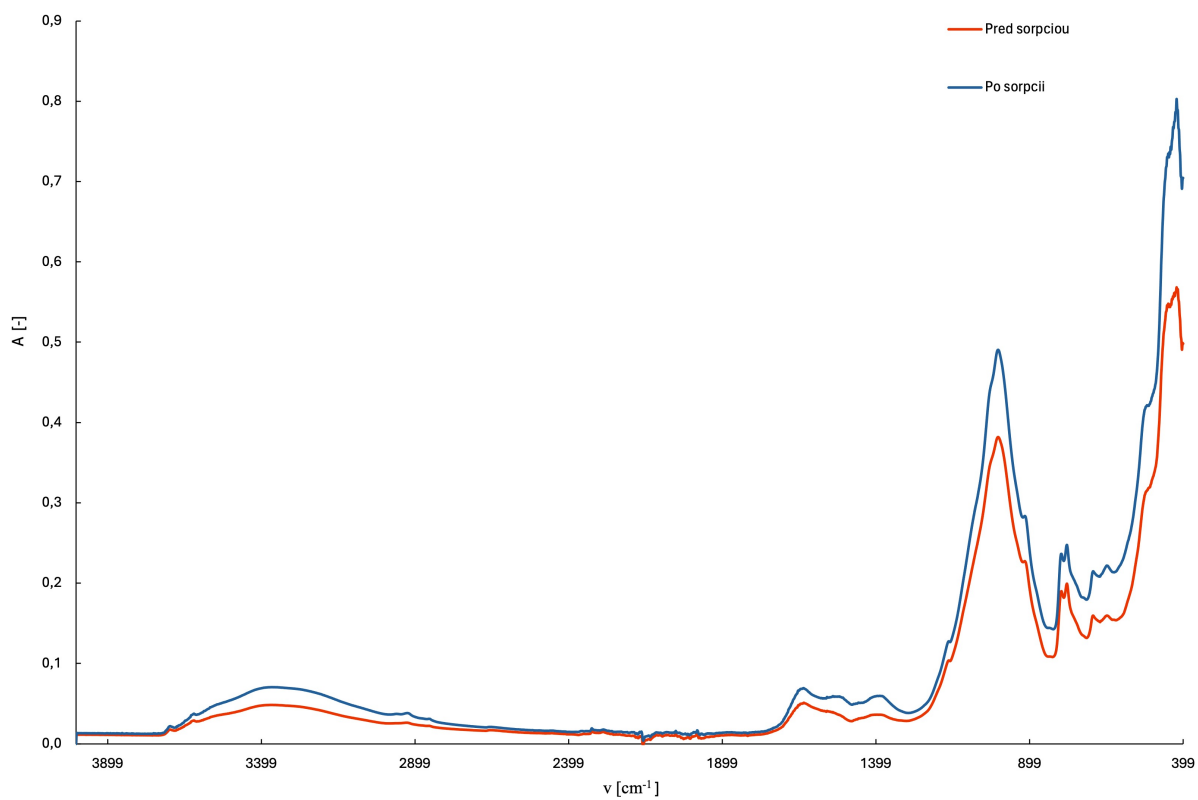
Na obrázku 4.9 je znázornené infračervené absorpčné spektrum tetracyklínu. Spektrum má najcharakteristickejší región medzi 600 a 1800 cm^{-1} . Z literatúry sú dostupné údaje o charakterizácii spektra. V grafe (obrázok 4.9) je viditeľný pík pri 1705 cm^{-1} zodpovedá C=O väzbe v amidovej skupine. Výrazný pík pri 1579 cm^{-1} sa priraduje k C=O na uhlíku C11 (kruh C pri ABCD označení 1.1). Pri frekvencii 1400 cm^{-1} sa nachádza deformačná vibrácia $-CH_3$ skupiny. Ďalšie významné píky sú pri 1659 cm^{-1} (C=O v kruhu A), 1515 cm^{-1} ($-N-H$), 1453 cm^{-1} ($-C-C$), 1255 cm^{-1} (C-N v skupine amidu), 1229 cm^{-1} (C-N v dimetylaminu skupine), a 1186 cm^{-1} (C-O vo fenolovej skupine) [56].

Pri pohľade na spektrá pôd (pred aj po sorpcii) môžeme taktiež vyčítať charakteristické absorpčné pásma. Spektrá pôd B, C a D sa nachádzajú v prílohách (6,7,8. Pri frekvenciách v rozmedzí 3500–3200 cm^{-1} sú detekované hydroxylové skupiny v alkoholoch, fenoloch, mineráloch a vo vode. Tento pás je pozorovateľný najmä pri spektre pôdy A 4.10, ktorá obsahuje najviac organickej hmoty. Frekvencie od 2920–2860 cm^{-1} sú výsledkom symetrických a asymetrických vibrácií C-H väzieb. Pri priblížení spektra pôdy A sú vzhľadnutelné nízke píky. Pri 1700 a 1610 cm^{-1} sa nachádzajú absorpčné pásy z rôznych typov C=O väzieb (kyslíkaté funkčné skupiny). Tieto väzby boli pozorované vo všetkých pôdach. Frekvencie od 1100 do 1050 cm^{-1} značia o prítomnosti C-O-C väzieb v polysacharidoch alebo Si-O-Si väzbách v mineráloch. V nameraných spektrách sa vyskytuje dominantný pík v okolí frekvencie 1000 cm^{-1} , ktorý môže hovoriť o prítomnosti tejto väzby v pôdach [57]. Všetky vyššie zmienené pásy sú charakteristické pre humínové látky v pôde [58].

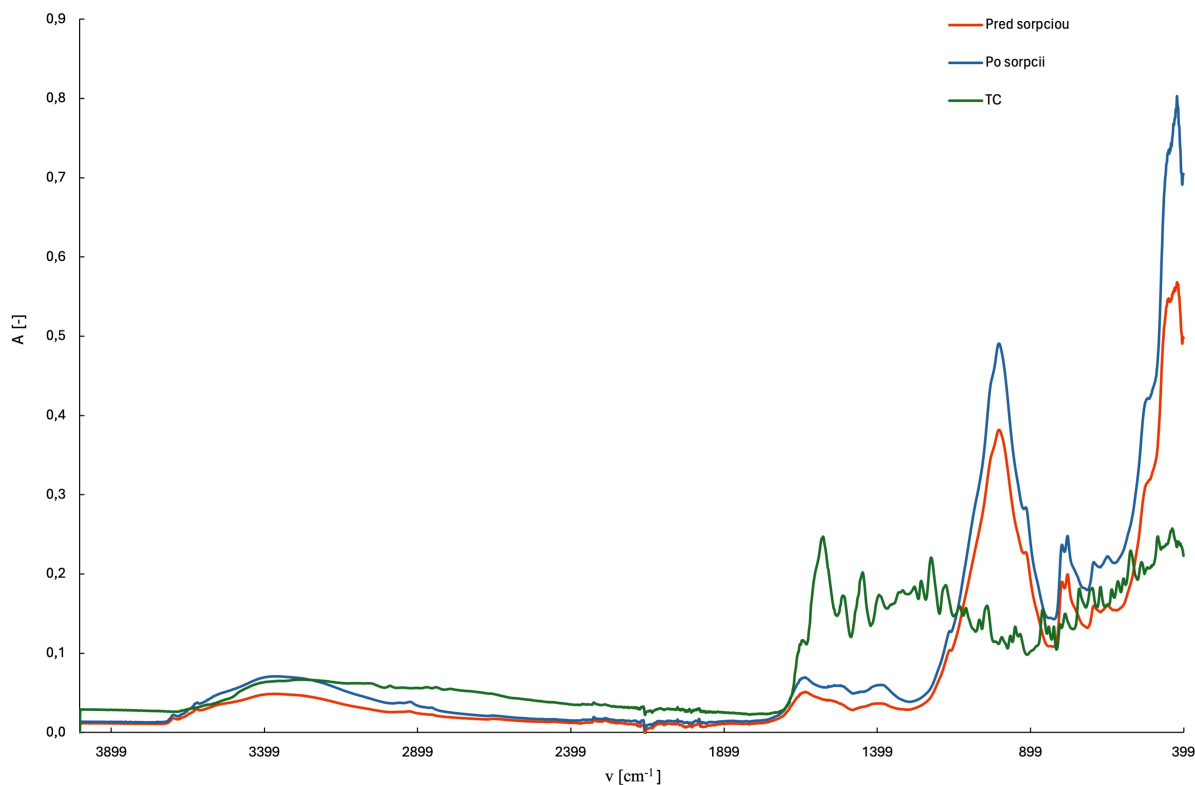
Spektrá tetracyklínu absorbovaného do pôd boli porovnávané so spektrami čistých pôd. Výsledky boli navyše preložené spektrom čistého TC. Ako možno vidieť aj v nasledujúcom grafe (obrázok 4.11), ktorý porovnáva sorpciu v pôde A medzi spektrami pred a po sorpcii nie sú viditeľné žiadne markantné rozdiely v píkoch a ani v ich intenzitách. Dá sa z toho vyvodiť záver, že tetracyklín sa na pôdy viaže iba fyzikálnymi silami a chemické väzby sa medzi liečivom a pôdami nevytvorili. Dôvodom mohlo byť nízke aplikované množstvo TC a spektrum pôdy zakrýva naviazaný TC.



Obr. 4.9: Infračervené absorpčné spektrum tetracyklínu



Obr. 4.10: Absorpčné spektrum pôdy A



Obr. 4.11: Absorpčné spektrum pôdy A preložené spektrom TC

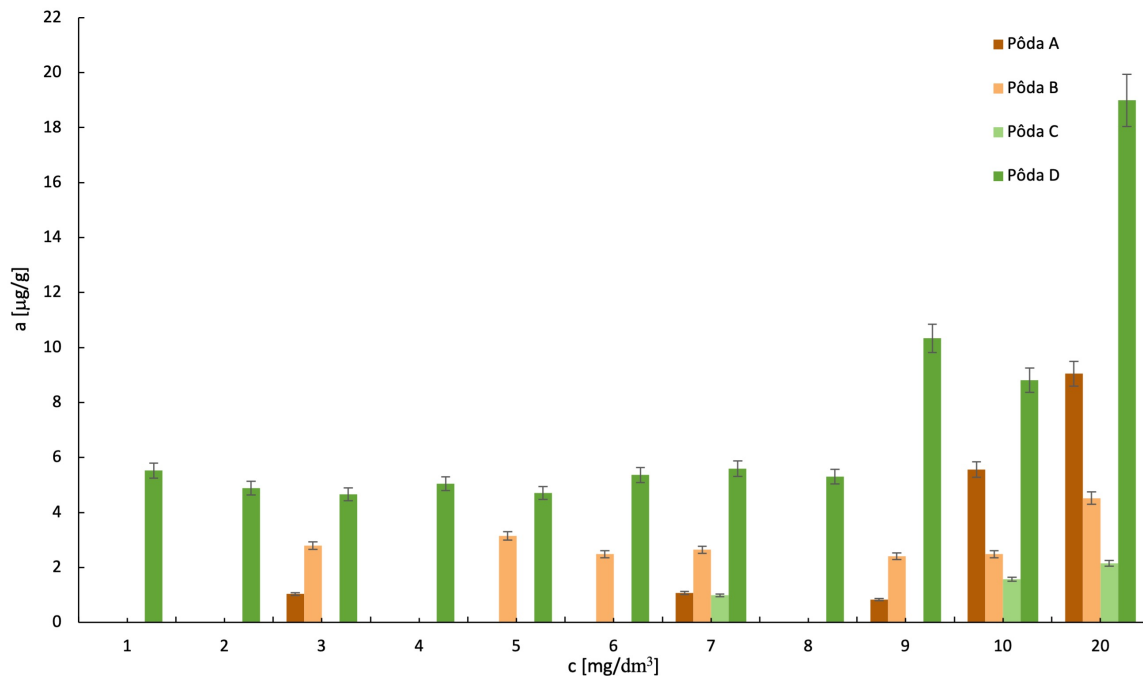
4.2 Porovnanie desorpčných experimentov

Pre získanie informácií o stabilite naviazaného tetracyklínu a overení nasorbovaného množstva boli prevedené desorpčné experimenty. Desorbovaný tetracyklín v roztoku predstavuje labilnú zložku, stabilná časť je imobilizovaná v pôde. Výsledky z UV-VIS spektroskopie ukázali, že výluhy pôdy vykazujú vysoké percento zatienenia tetracyklínu a nebolo možné touto metódou dôveryhodne získať koncentrácie liečiva. Pri relevantnejších hodnotách z HPLC merania bolo pozorované, že väčšina tetracyklínu ostala adsorbovaná v pôde. Desorpcia prebiehala najmä pri pôde D, ktorá obsahuje malé množstvo organickej hmoty a prítomná anorganická zložka nepúta každú nasorbovanú molekulu liečiva dostatočne silne. Pri zvyšných pôdach bolo vo väčšine vzoriek detekované nulové alebo len malé množstvo TC v roztokoch. Účinnosť desorpcie bola v pôdach A, B a C pod úrovňou 1 %. Desorbované množstvá boli vynesené v závislosti k pôvodným koncentráciám v roztoku. V grafe (obrázok 4.12), ktorý vychádza z chromatografického merania je možné porovnať desorpcie v pôdach pre najvyššie koncentrácie pôvodného roztoku 10 a 20 mg/dm³. Pre tieto dve pôvodné koncentrácie je v grafe viditeľný rovnaký trend. Pre pôvodnú koncentráciu 20 mg/dm³ je zrejmé, že z pôdy D sa desorbovalo najvyššie množstvo 19,0 µg/g, z pôdy A 9 µg/g, z pôdy B 4,5 µg/g a z pôdy C približne len 2,2 µg/g. Výsledky nekorelujú s predpokladom, že z pôdy C, ktorá obsahuje najnižšie množstvo organickej časti aj vápnika sa desorbovalo najmenšie množstvo. Môže tu opäť zavážiť pomer týchto zložiek, ktorý je v pôde B a C najvyšší.

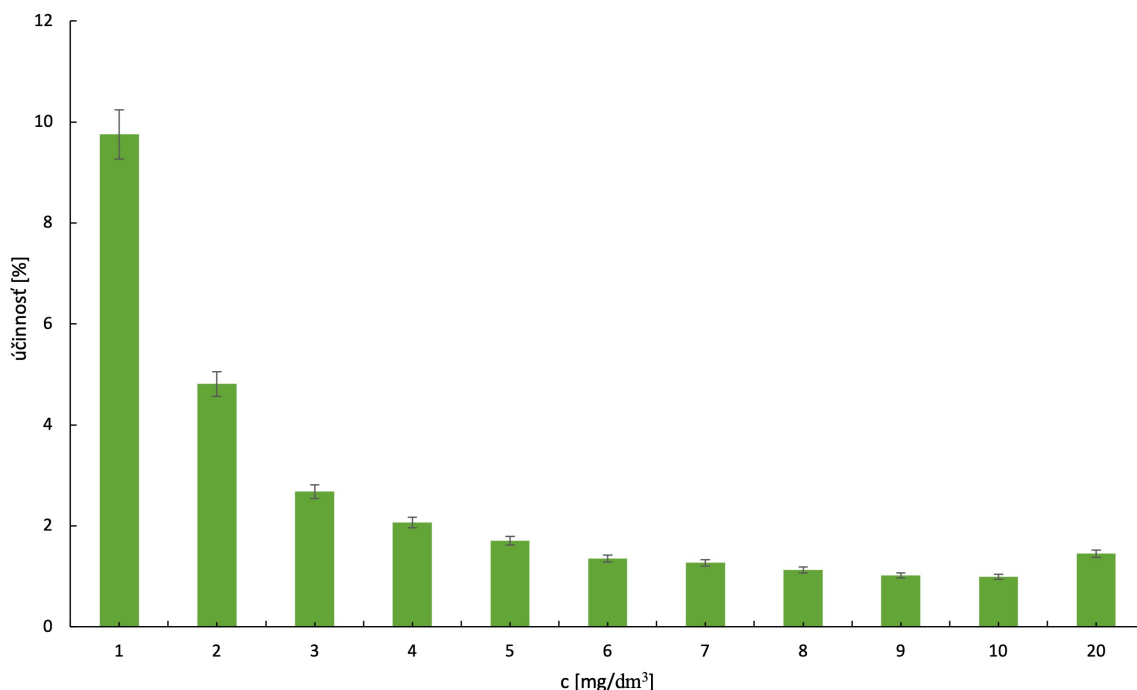
Tetracyklín tak bude v pôdach pravdepodobne zadržovaný anorganickou zložkou pôdy. Zo získaných pozorovaní je možné konštatovať, že organická časť v pôde v relatívne vysokom zastúpení pri pôde A a B v spolupráci s anorganickými iónmi (ako vápnik) naviazala tetracyklín a zamedzila tak jeho ďalšiemu transportu z pôdy do vody. Keďže pôda D vykazovala desorpciu pri všetkých koncentráciách, bolo možné určiť účinnosť desorpcie. Bol pozorovaný zaujímavý jav

na obrázku 4.13, kedy s rastúcou pôvodnou koncentráciou klesala účinnosť desorpcie. Prítomnosť vyššieho pôvodného množstva tetracyklínu napomáha jeho stabilnejšej imobilizácii v pôde s nižšou desorpciou. Celkové vysoké adsorbované a nízke desorbované množstvá poukazujú aj na prítomnosť silnej fyzikálnej a/alebo chemickej väzby medzi pôdou a TC. Počas sorpcie mohol tetracyklín v pôde vytvoriť stabilné komplexy, ktoré boli odolné aj voči desorpcii. V úvahu pripadá aj možnosť degradácie tetracyklínu v pôde v prítomnosti organickej a anorganickej zložky. Vzorky neboli vystavované priamemu svetlu ale počas manipulácie so vzorkami mohlo dojsť k fotodegradácii malého množstva tetracyklínu.

Pri uvážení hypotézy z modelov adsorpčných izoteriem, ktorá hovorí o obsadení všetkých dostupných adsorpčných miest, v pôdach A a C nedochádzalo k presýteniu tetracyklínom a desorpcia sa pri nižších koncentráciách neudiala. Ako uvádza aj literatúra 1.5, medzi sorpčným a desorpčným mechanizmom je pozorovaná hysterezia. Proces desorpcie je v jej následku pomalý, čo sa ukázalo aj pri prevedených experimentoch. Výskum [13] ukázal, že účinnosť desorpcie TC boli nižšie ako 10 % v 3 rôznych ílovitých adsorbentoch. Hodnotu 10 % dosiahli adsorbenty pri najnižšom pôvodnom množstve TC. Tento jav bol pozorovaný aj pri pôde D.



Obr. 4.12: Desorbované množstvá TC v štyroch pôdach v závislosti na pôvodnej koncentrácii



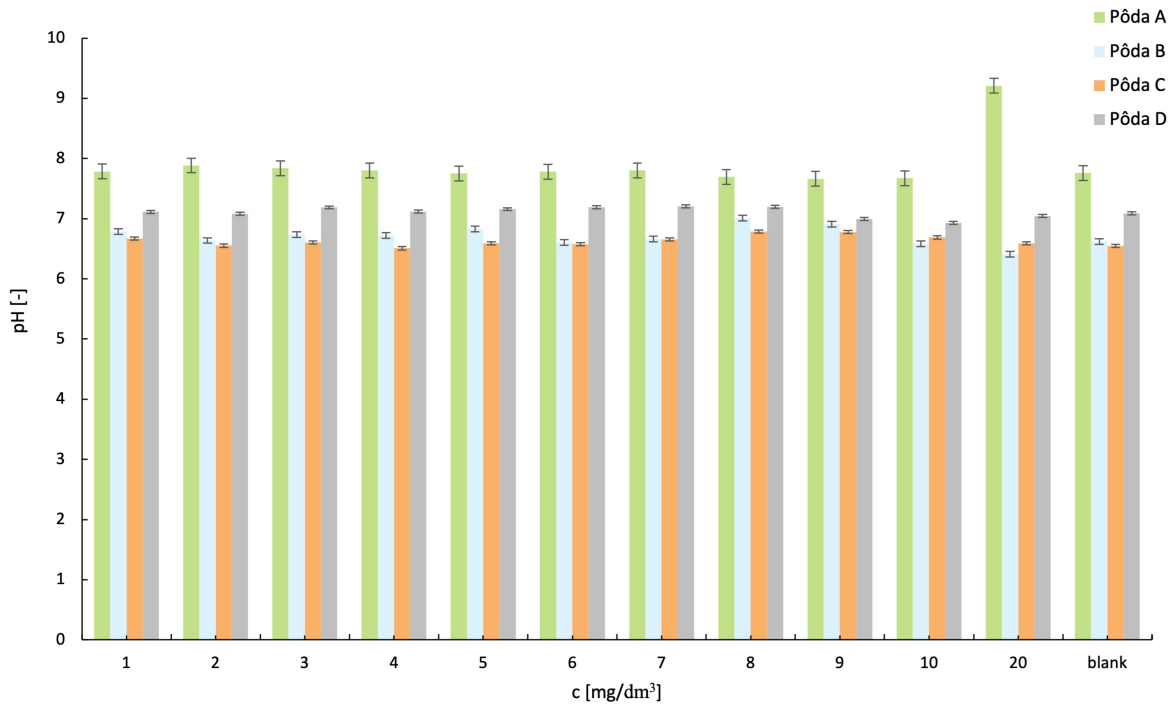
Obr. 4.13: Účinnosť desorpcie pre pôdu D v závislosti na pôvodnej koncentrácii

4.2.1 Hodnoty pH a vodivosti

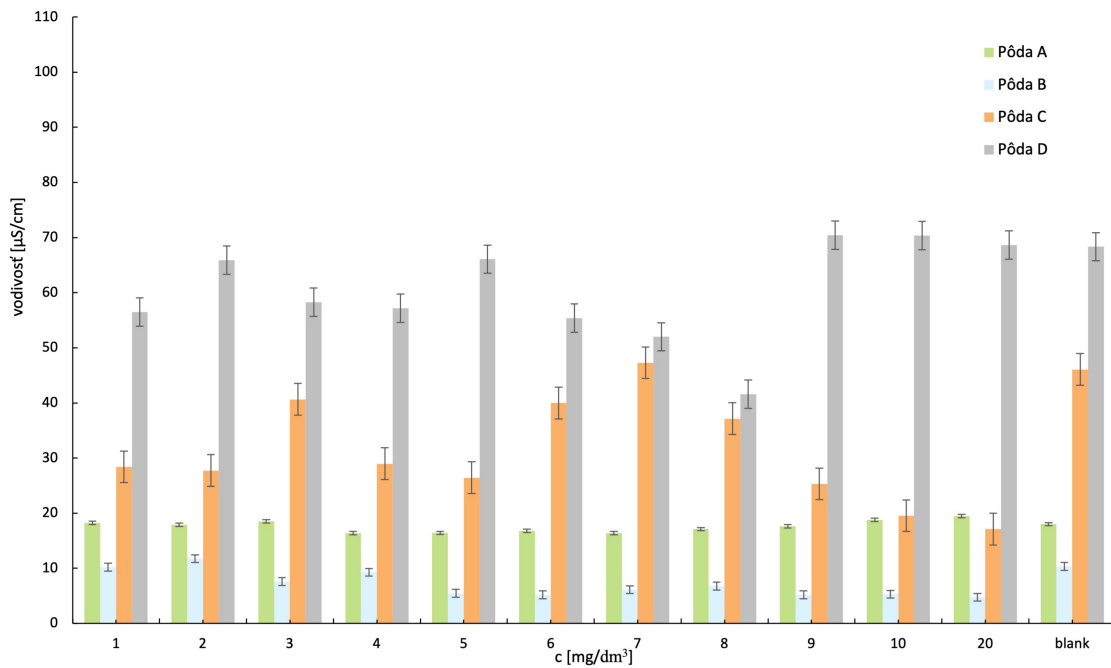
Meranie desorpcií TC bolo taktiež doplnené o meranie pH a vodivosti roztokov. Z dôvodu nízkej desorpcie TC, k výrazným zmenám v hodnotách pH a vodivosti nedošlo.

Z nižšie uvedeného grafu (obrázok 4.14) hodnôt pH po desorpcii je možné vyvodit porovnanie štyroch pôd. Hodnoty pri pôde A boli v rozmedzí od 7,66–9,21, pri pôde B od 6,41–7,01, pri pôde C od 6,51–6,78 a pôde D od 6,93–7,21. Pri pôde A nie je viditeľná výrazná zmena, avšak pri pôde B je zrejmy mierny pokles pH voči sorpcii. Pôda C a D vykazovala kolísavé mierne zvyšovanie a znižovanie hodnôt pH rádovo v desatinách. Taktiež je viditeľné, že hodnota pH nemá súvis s koncentráciou tetracyklínu, ktorý desorboval z pôdy D. Pri porovnaní vzoriek s TC a blankov nie je pozorovaný významný rozdiel. Výrazná zmena je viditeľná pri roztoku pôvodnej koncentrácie 20 mg/dm³, ktorej pH vykazuje hodnotu 9,21. Spôsobené to môže byť vylúhovaním zásaditej zložky, ktorá bola prítomná vo vzorku pôdy.

Konduktometrom namerané hodnoty vodivosti sa pohybovali od 16,37–19,48 μS/cm v pôde A, v pôde B od 4,74–11,76 μS/cm a v pôde C od 17,11–47,29 μS/cm. V pôde D boli v rozmedzí od 41,60–70,43 μS/cm, kde sa znížili voči hodnotám po sorpcii (obrázok 4.6). Príčinou môže byť to, že väčšina iónov z pôdy prešla do roztoku už pri sorpcii a v priebehu desorpcie ich v pôde ostalo menej. Taktiež sa to môže pripísať nízkej účinnosti desorpcie, kedy nabité molekuly tetracyklínu ostali zachytené v pôde. Pri ostatných pôdach boli hodnoty takmer identické a boli porovnateľné aj s blankami. To môže byť spôsobené tým, že pôdy obsahovali väčšie množstvo nabitých iónov, ktoré sa udržali v pôdach pri sorpcii, ale po pridaní deionizovanej vody s takmer nulovou iónovou silou boli vylúhované.



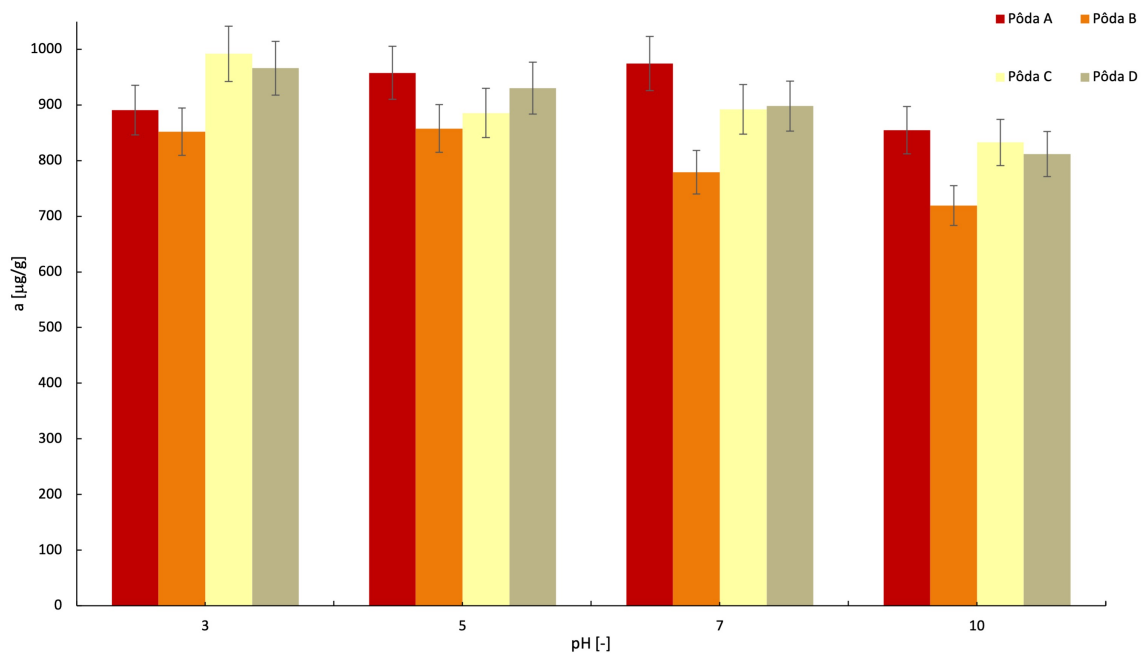
Obr. 4.14: Hodnoty pH roztokov po desorpciách v závislosti na pôvodnej koncentrácii



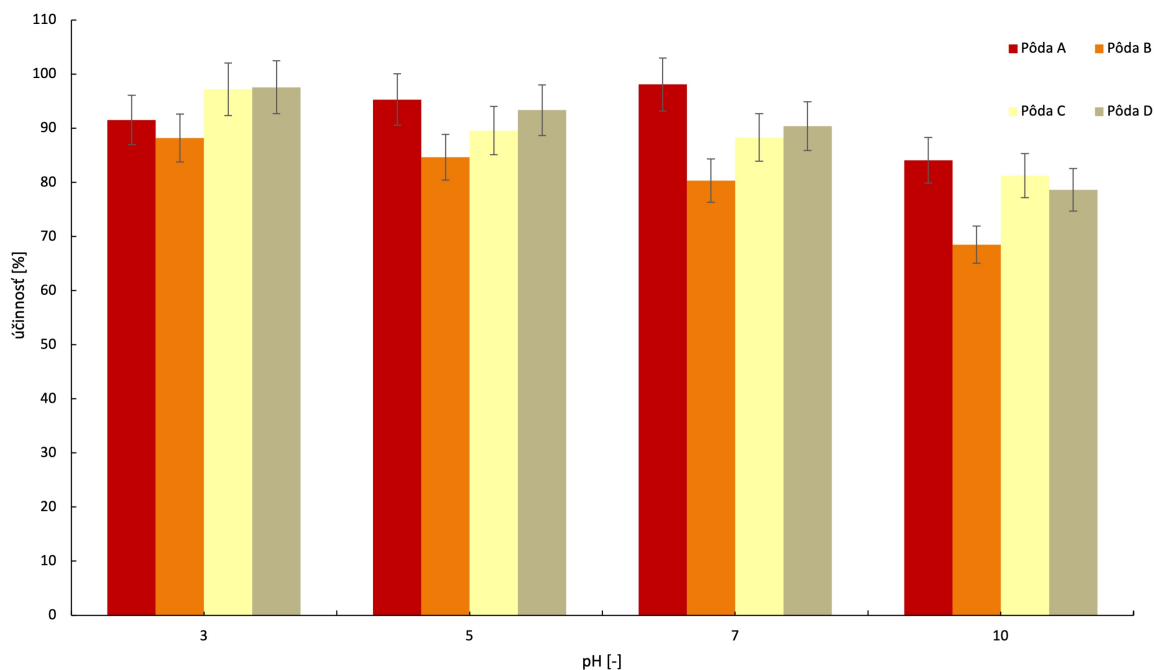
Obr. 4.15: Hodnoty vodiivosti roztokov po desorpciách v závislosti na pôvodnej koncentrácii

4.3 Vplyv pH prostredia na sorpcie

V priebehu ďalšieho experimentu boli vykonávané sorpcie TC v štyroch rôznych pH. Podľa nameraných hodnôt koncentrácií z UV-VIS spektroskopie prebehli sorpcie u všetkých pôd a vo všetkých štyroch pH. Z dôvodu nefunkčného HPLC chromatografu neboli presnejšie výsledky dostupné. Pri prezentovaných dátach získaných zo spektroskopie mohlo dôjsť k prekryvu liečiva vylúhovanými organickými časťami pôdy, najmä v zásaditejšom pH. V grafe (obrázok 4.16) je viditeľné, že pôda A mala najvyššiu adsorpciu pri pH 5 a 7. Pôda B pri kyslejších hodnotách pH 3 a 5. Pôdy C a D vykazovali adsorbované hodnoty, ktoré sa od seba líšili len v malej miere a so zvyšujúcim pH roztokov klesali. Celkovo boli namerané adsorbované množstvá pomerne vysoké pri všetkých pôvodných pH roztokov, kedy hodnoty sa pohybovali pri pôde A 855–975 $\mu\text{g/g}$, pri pôde B od 719–857 $\mu\text{g/g}$, pri pôde C od 833–992 $\mu\text{g/g}$ a pri pôde D od 812–966 $\mu\text{g/g}$. Pri porovnaní s adsorbovanými hodnotami pre koncentráciu 20 mg/dm^3 prvého experimentu 4.1 sú adsorbované množstvá pri pôde A rovnaké, pôde B mierne nižšie, a naopak pri pôde C a D vyššie. Z tohto porovnania nie je adekvátne usudzovať závery, keďže sú porovnávané výsledky z dvoch metód. Účinnosť sorpcie tetracyklínu na jednotlivé pôdy je zobrazená v grafe (obrázok 4.17). Pre pôdu A bola v rozmedzí od 84–98 %, pre pôdu B od 68–88 %, pre pôdu C od 81–100 % a pre pôdu D od 80–97 %. Pri pôdach B, C a D klesala s rastúcou hodnotou pH.



Obr. 4.16: Adsorbované množstvá TC v štyroch rôznych pH v závislosti na pôvodnom pH



Obr. 4.17: Účinnosť sorpcie TC pre štyri rôzne pH v závislosti na pôvodnom pH

Teoretické poznatky 1.5.2 hovoria, že v kyslom prostredí prebieha sorpcia iným mechanizmom ako v zásaditom. V kyslých pôdach sa vyskytovali pravdepodobne interakcie medzi kladným TC a zápornými disociovanými HK najmä u pôdy A a B, ktoré obsahujú vyšší podiel organickej zložky. Mechanizmus môže byť tiež vysvetlený tým, že kladná molekula TC sa v pôde vymení za kladne nabité katióny. Aniónová forma by mala spôsobovať elektrostatickú repulziu v zásaditých roztokoch, a tak ako bolo aj pozorované, adsorpcia TC by sa mala znížiť [4]. Dôvodom pre nižšiu adsorpciu pri zásaditom pH môže byť aj fakt, že do roztoku prešlo viac HK z pôdy, kde mali viazať liečivo. Farebný dôkaz prechodu organickej hmoty do roztokov je znázornený na obrázku 3.2. Avšak, adsorbované množstvá neboli výrazne nižšie, preto mohla byť sorpcia spôsobená anorganickými iónmi. Článok [59] potvrdzuje, že ionizovaná forma Ca^{2+} podporuje elektrostatické interakcie a kationovú výmenu v pôde, najmä v alkalických podmienkach.

Z literatúry vyplýva fakt, že TC sa vyskytuje prevažne vo forme zwitteriónu [13]. Môže tak reagovať s rôzne nabitými časťami pôdy, avšak pri pôdach C a D sorpcia mohla prebiehať interakciami s kladnými katiónmi, keďže obsahovali malé množstvo organickej hmoty a viac katiónov vápnika. Pri modelovaní reakcie vo výskume [45] zistili, že pri pH 5,7 sa Ca^{2+} viaže na TC ale neovplyvňuje jeho náboj. Pri pH 9 vzniká pozitívne nabitý komplex a pozorovaná bola aj zvýšená sorpcia na HK. Dôvodom je pravdepodobne jeho ľahšie naviazanie na záporne nabitú HK nešpecifickými elektrostatickými interakciami. Ako je uvedené v teórii 1.1.2, v neutrálnom prostredí sa na 1 molekulu vápnika naviažu 3 molekuly TC, pri zásaditejšom pH sa naviaže iba 1 molekula TC. To môže byť dôvodom, prečo je u všetkých pôd pri neutrálnom pH vyššia sorpcia TC ako v zásaditom, keďže vápnik dokáže udržať viac molekúl tetracyklínu v pôde.

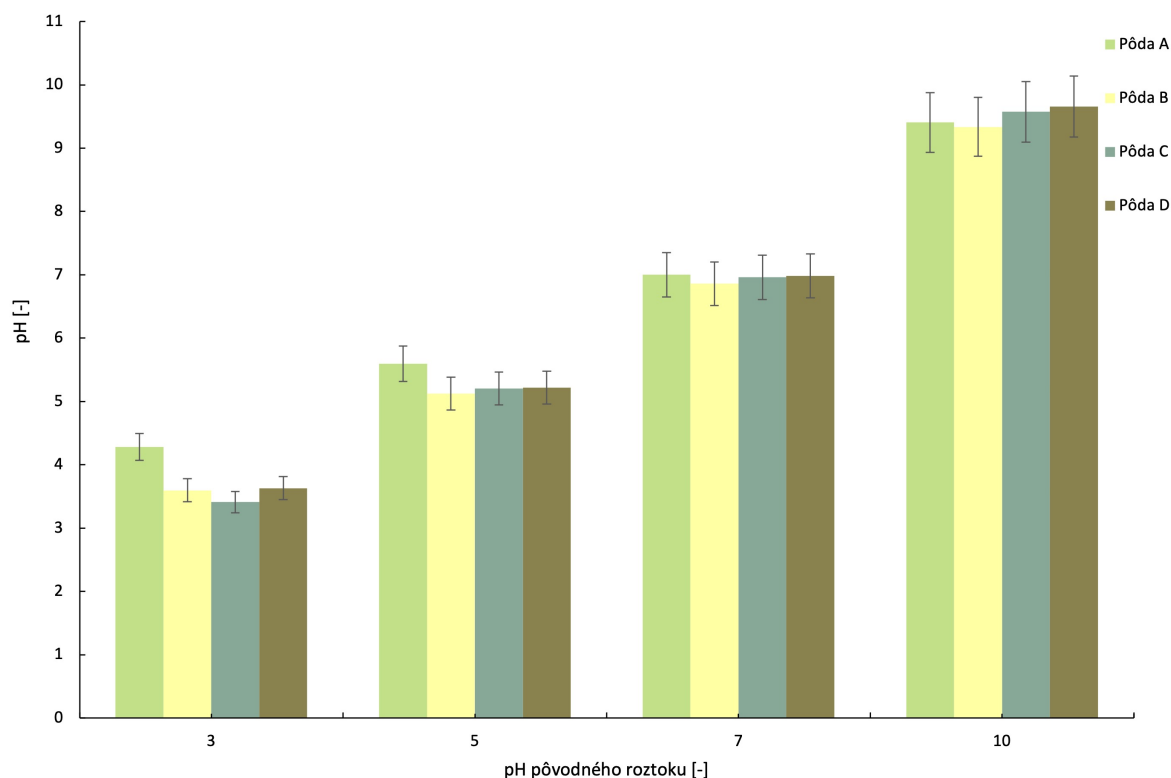
V článku [48] dosiahla adsorpcná kapacita svoje maximum pri pH 5, článok [13] hovorí o optimálnej sorpcii pri kyslých hodnotách pH menších ako 5. Autori štúdie [55] uvádzajú, že sorpcia TC klesala v rozmedzí pH 4 až 7 a v rozmedzí hodnôt 7 až 8 ostala konštantná. Zistili, že ak hodnota pH presiahne 5,5, môže kationová výmena výrazne prispieť sorpcii. Tento mechanizmus mohol byť využitý pri sorpciách v pôdach, kedy aj pri vysokých pH pôvodných roztokov vykazovala sorpcia vysoké hodnoty adsorbovaných molekúl TC. Pri pH 5 pôvodného roztoku boli najvyššie adsorbované množstvá pri pôde A, najnižšie u pôdy B. Čo je v rozpore pri porovnaní s prvým experimentom (sorpcie v roztokoch deionizovanej vody), kedy bola pri rovnakej

pôvodnej koncentrácii v pôde B pozorovaná najvyššia adsorpcia. Dôvodom môže byť zmena dostupnosti voľných organických látok vplyvom kyslejšieho a zásaditého roztoku a taktiež protonizácia molekuly tetracyklínu, kedy naviazanie vodíka zohráva kľúčovú úlohu.

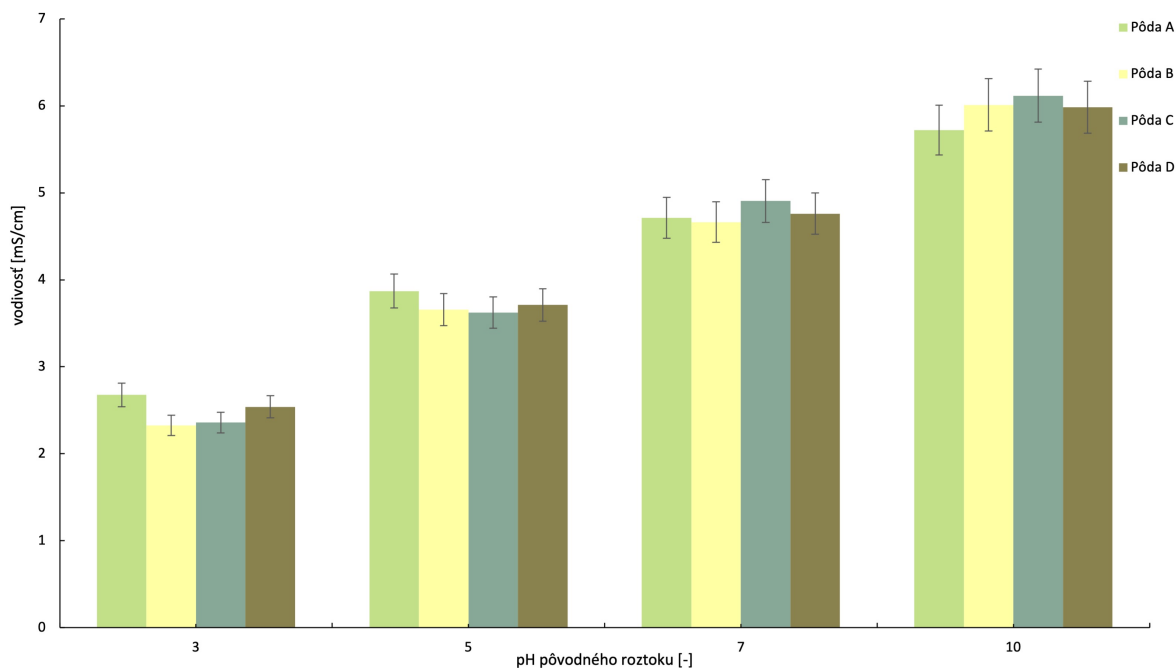
Hodnoty pH a vodivosti

Namerané hodnoty pH boli rovnako ako pri predošlých sorpciách prepočítané na presnú navážku pôdy. Hodnoty pH po sorpciách sú zobrazené v grafe (obrázok 4.18) a vykazujú stále hodnoty vďaka pufrácej činnosti. Vo všetkých vzorkách pôvodného pH 3 a 5 sa hodnoty mierne zvýšili (3,41–4,28 ; 5,12–5,59). Pri pH 7 ostali hodnoty nemenné (6,87–7,00) a vo vzorkách pôvodného pH 10 pozorujeme nepatrný pokles pH (9,3–9,7). Vplyv na vyššie hodnoty pH pri pôde A v kyslých roztokoch môže mať prítomnosť vyššieho množstva organickej hmoty, ktorá zadržava protóny vodíka v pôde. Dôvodom zmeny pH v smere k neutrálnemu u všetkých vzoriek je pravdepodobne prítomnosť tetracyklínu so schopnosťou tvorby zwitteriónu.

S rastúcou hodnotou pôvodného pH sa zvyšovala aj vodivosť. Pri pufrí s pH 3 boli hodnoty v rozmedzí od 2,33–2,68 mS/cm, pri pufrí pH 5 od 3,65–3,87 mS/cm, pri pufrí s hodnotou pH 7 od 4,66–4,91 mS/cm a pri pufrí 10 od 5,72–6,01 mS/cm. Namerané hodnoty sú v jednotkách mS/cm, avšak pri sorpciách v deionizovanej vode boli v $\mu\text{S}/\text{cm}$. Sú výsledkom pôsobenia prítomných iónov z pridaných pufrův (kyselina boritá, orthofosforečná a octová; hydroxid sodný). V zásaditom roztoku sa nachádza vyššia koncentrácia hydroxidu sodného, ktorého vplyv viditeľný. Tento trend je taktiež spôsobený vylúhovaním väčšej časti organickej hmoty v zásaditom roztoku, hlavne humínových kyselín. V grafe (obrázok 4.19) je zaujímavé si všimnúť, že rozdiel vodivosti pri pH 3 a pH 10 je takmer dvojnásobný.



Obr. 4.18: Hodnoty pH roztokov po sorpcii v závislosti na pôvodnom pH



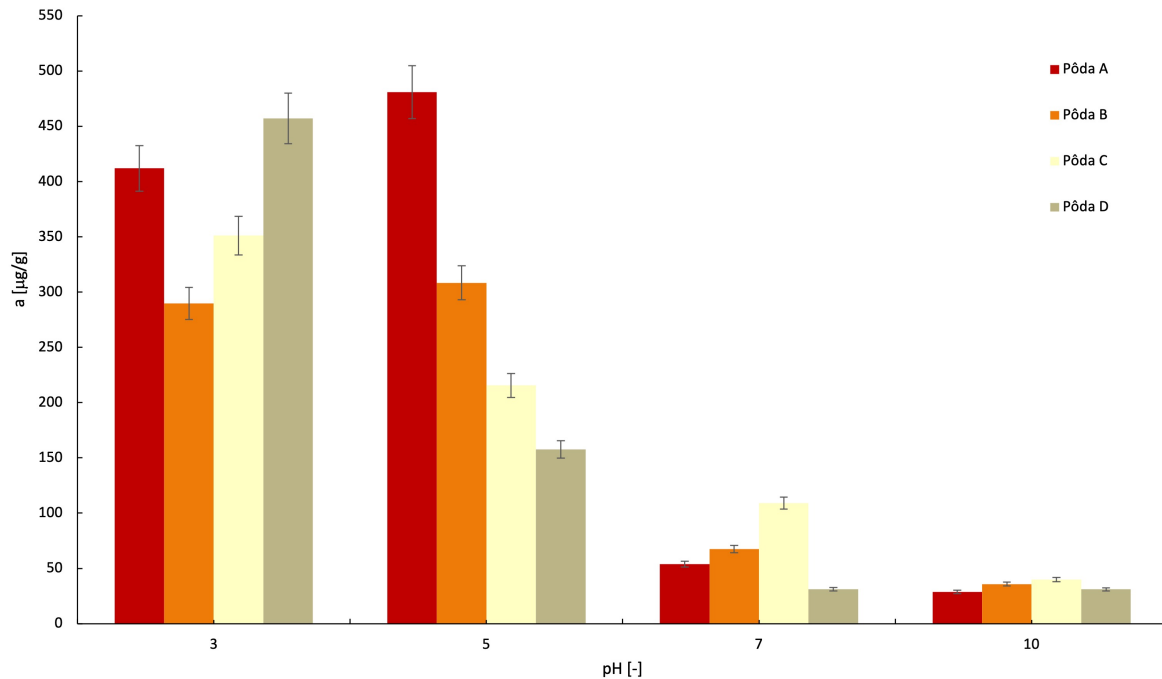
Obr. 4.19: Hodnoty vodivosti roztokov po sorpcii v závislosti na pôvodnom pH

4.4 Vplyv pH prostredia na desorpcie

Desorpčné procesy boli sledované v pôdach po sorpcii v pH pufoch. Pri desorpciách bolo sledované uvoľnenie tetracyklínu do deionizovanej vody. Dôvodom bolo modelovať situáciu v prírode. Liečivo sa môže dostať do prírody v kvapalnom zdroji s pH iným ako neutrálnym, následne po sorpcii do pôdy môže prísť do kontaktu s vodou, ktorej je pH neutrálne.

Získané desorbované množstvá TC boli pri pH 3 pôvodného pufru od 289–411 $\mu\text{g/g}$, pri puFRE s pH 5 od 157–480 $\mu\text{g/g}$, pri puFRE s pH 7 od 31–109 $\mu\text{g/g}$ a pri puFRE s pH 10 od 28–39 $\mu\text{g/g}$. Účinnosť desorpcie klesala s rastúcim pH. Pri vzorkách pufru s pH 3 bola od 23–29 %, pri puFRE s pH 5 bola v rozmedzí 13–30 %, pri puFRE s pH 7 od 2–10 % a najnižšia pri puFRE s pH 10 od 2–4 %. Spracované dáta ukazujú, že desorpčný proces prebiehal pri pôde A a B v najvyššej miere pri pH 5, vysoká desorpcia TC bola taktiež v pôvodnom kyslom pH 3. V pôdach C a D boli vyššie desorbované množstvá v kyslejšom pH 3 a následne v pH 5. Dôvodom môže byť prítomnosť kationovej formy tetracyklínu, ktorú protonizované organické látky nedokážu dostatočne pevne viazať a preto desorbujú. Vo vzorkách s pôvodným pH 7 a 10 je viditeľný výrazný pokles desorbovaného tetracyklínu. Môže to byť spôsobené aj nižším adsorbovaným množstvom. Ako bolo spomenuté pri sorpciách, jednoznačný vplyv má pri týchto experimentoch anorganická zložka pôdy. Podľa štúdií vyššia koncentrácia vápnika napomáha jeho sorpcii v zásaditých pôdach a tvorí s ním stabilné komplexy. Sú natoľko pevné, že pri procese desorpcie pri pH pôvodného roztoku 7 a 10 udržalo väčšinu nasorbovaného liečiva. To hovorí o tom, že v kyslom prostredí liečivo vykazovalo neochotu ostať sorbované v pôde.

Získané výsledky sú v rozpore s tvrdeniami z literatúry, kedy v článku [34] pozorovali zvyšovanie desorpcie so zvyšujúcim pH. Odôvodnením bol pokles kationovej a zwitteriónovej formy tetracyklínu. Rovnaké pozorovania vyplývajú z článku [59], v ktorom poukazujú na vplyv organickej hmoty a pH pri desorpciách. V kyslých pôdach s vyšším obsahom organickej hmoty sledovali lepšie naviazanie TC do pôdy a nižšie desorpcie. Uvádzajú, že na procesy je nutné prihliadať z komplexne z viacerých perspektív.

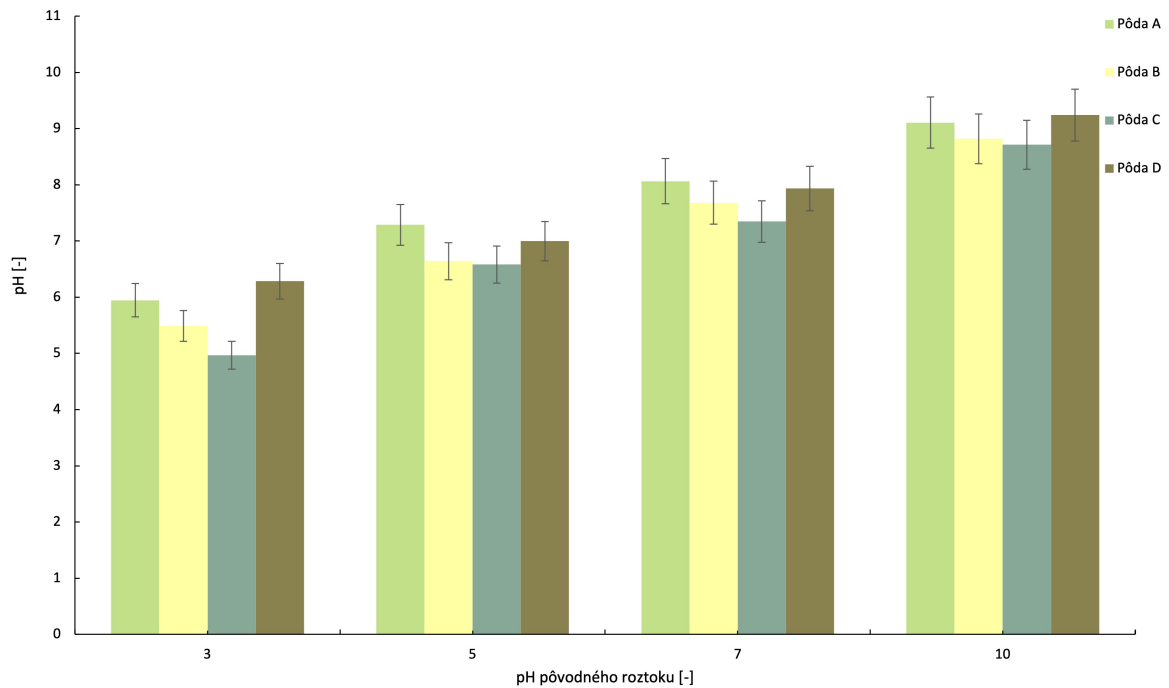


Obr. 4.20: Desorbované množstvá TC v pôvodných štyroch pH v závislosti na pôvodnom pH

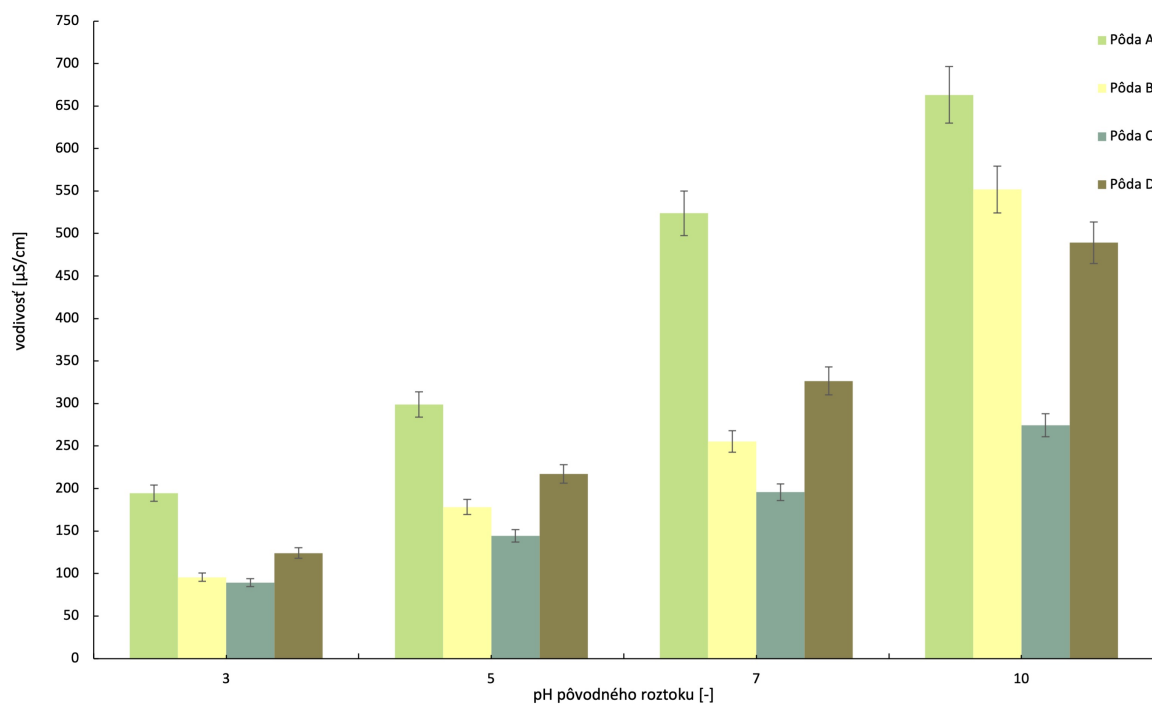
Hodnoty pH a vodivosti

Acidobázický charakter vzoriek je ukázaný na nasledujúcom grafe (obrázok 4.21). Aj napriek desorpciám v neutrálnej deionizovanej vode sa po sorpciách v pufroch ukázal ich účinok. Najvyššie pH bolo pri roztokoch pôdy A a D. Pri pôvodných roztokoch pH 3 stúplo ich pH na 5,5–6,3; vzorky pôvodného pH 5 vykazovali hodnoty od 6,6–7,3; pH 7 mali hodnoty o niečo vyššie 7,4–8,1 a vzorky pôvodného pH 10 dosahovali od 8,7–9,2. V porovnaní s hodnotami po sorpciách, všetky vzorky sa stali viac neutrálne a to najmä vplyvom prídavku deionizovanej vody.

Vodivosť je v porovnaní s meraním po sorpciách v jednotkách $\mu S/cm$, čo môže byť spôsobené prídavkom deionizovanej vody. Taktiež tým, že už pri sorpciách sa do roztokov vylúhovalo veľké množstvo organických a anorganických nabitých častíc z pôdy. Po desorpciách tak pozorujeme nižšie hodnoty, kedy sa vodivosť zvyšuje so stúpajúcou hodnotou pôvodného pH roztoku. Z grafu (obrázok 4.22) taktiež plynie, že vodivosť pôdy A je pri všetkých pôvodných pH o niečo vyššia ako u ostatných pôd, čo môže byť spôsobené jej najvyšším obsahom organickej hmoty.



Obr. 4.21: Hodnoty pH roztokov po desorpcii v závislosti na pôvodnom pH



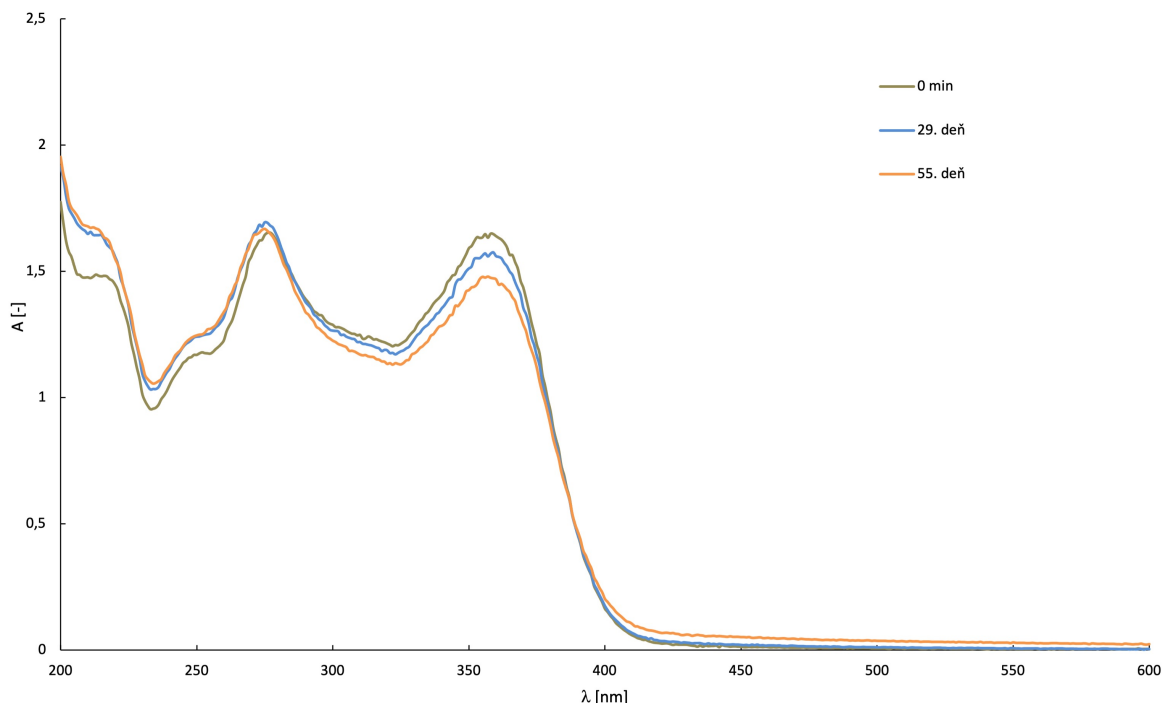
Obr. 4.22: Hodnoty vodivosti roztokov po desorpcii v závislosti na pôvodnom pH

4.5 Fotodegradácia tetracyklínu

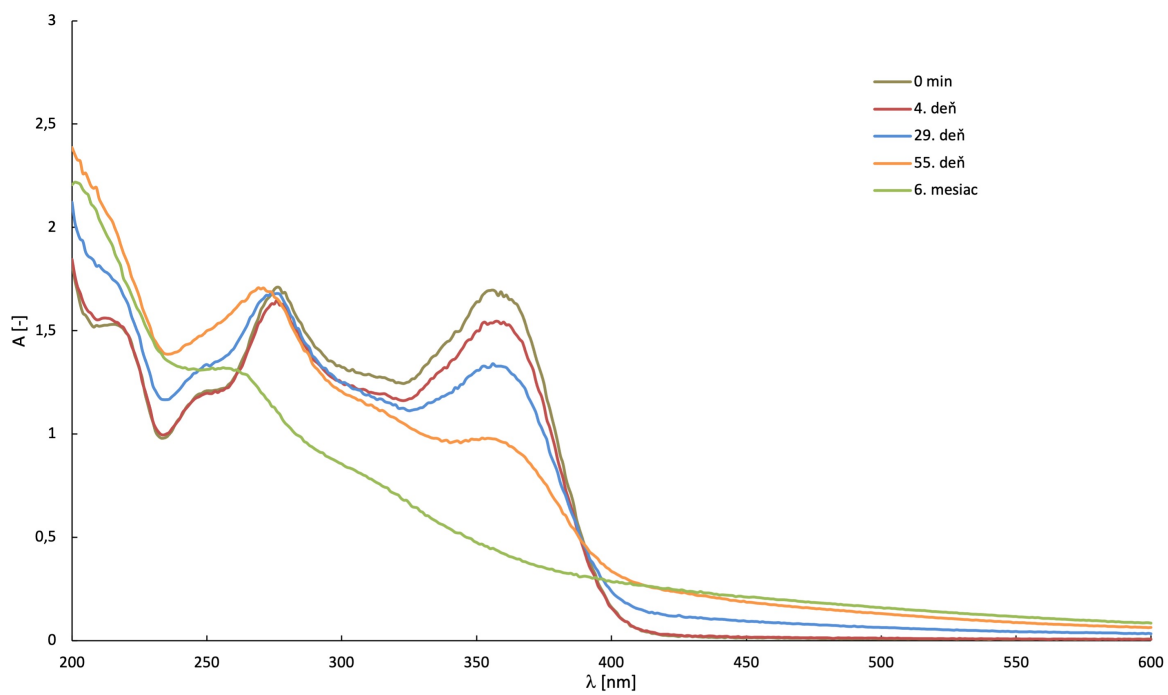
Samotné namerané absorpčné spektrá (4.23, 4.24) ukazujú znaky degradácie, kedy sú pozorovateľné zmeny pík pri porovnávaní spektier vzorky v tme a na svetle. Prvá zmena u vzorky na svetle bola zaznamenaná pri meraní v 4. deň. Pri meraní v 29. deň vykazuje pík pri 358 nm vzorky na svetle značne nižšiu absorbanciu ako pri vzorke v tme. Meranie v 55. deň odzrkadľuje pomerne dobrú stabilitu vzorky uchováanej v tme, avšak pri vzorke na svetle je možné sledovať zmenu veľkosti píku a známky fotodegradácie. Vzorka v tme už nebola ďalej sledovaná, z dôvodu jej ustálenej hodnoty koncentrácie. Kontrolné meranie v 6. mesiaci naznačuje, že prítomnosť tetracyklínu je malá a spektrum má v porovnaní s ostatnými meraniami pozmenený tvar. To môže byť ukazovateľom existencie degradačných produktov v roztoku. Aj napriek faktu, že TC má maximum absorbancie taktiež pri 275 nm, v tomto píku neboli preukázané výraznejšie zmeny (až pri meraní v 55. deň a v 6. mesiacoch).

Z merania a pozorovania absorpčných spektier v čase bolo zistené, že obe vzorky nevykazovali žiadne zmeny počas krátkeho časového intervalu (minúty až jednotky hodín). Meranie pokračovalo v dlhších časových intervaloch, ktoré sú znázornené na obrázku 4.25. Graf znázorňuje pokles koncentrácie oboch vzoriek s plynúcim časom. Vzorka v tme zdegradovala v priebehu 55 dní o približne 10 %. Pozorovateľný je markantný pokles koncentrácie TC na svetle, kedy už po 4. dňoch zdegradovalo 9 % z pôvodnej koncentrácie, po 29. dňoch zdegradovalo 22 %, po 55. dňoch až 42 % a pri meraní po 6. mesiacoch 74 % z pôvodnej koncentrácie TC.

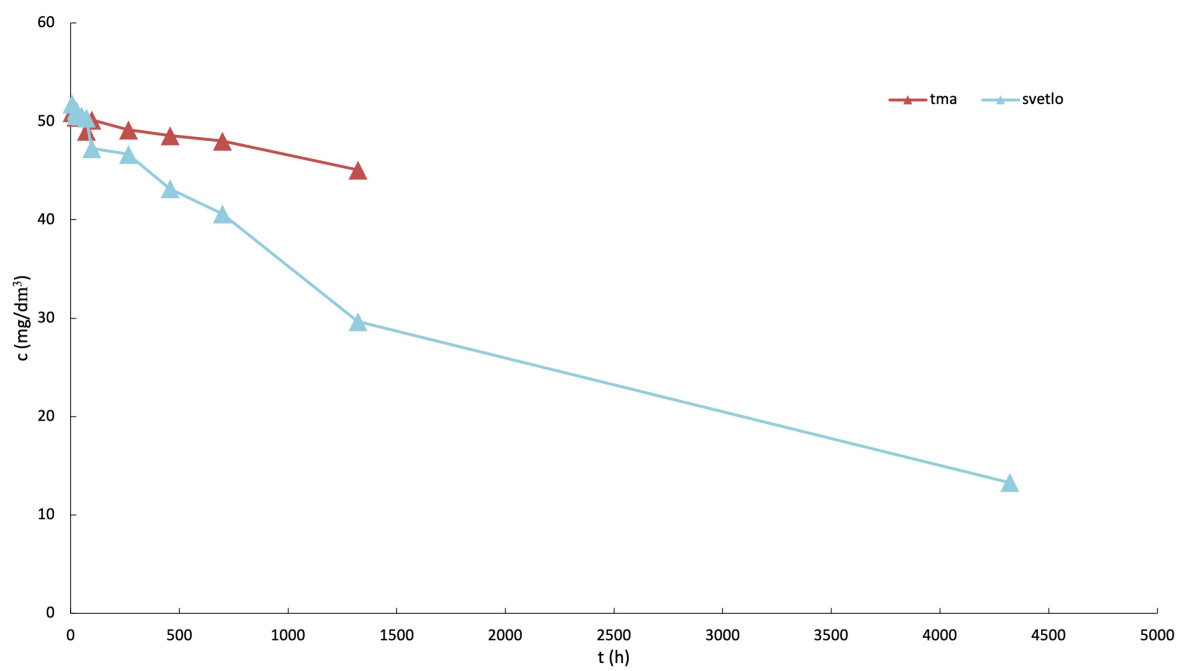
Obrázok 4.26 ukazuje aj farebné zmeny, ktoré sa počas experimentu udiali. Na ľavej strane obrázka je znázornený farebný rozdiel po mesiaci (vľavo vzorka na svetle, vpravo vzorka v tme), kedy je pozorovateľný mierny nárast intenzity žltého sfarbenia vzorky na svetle. Napravo sú roztoky po 4. mesiacoch, kedy sa sfarbenie vzorky na svetle zmenilo na sýto hnedé. Ukazuje to, že svetlo malo značný vplyv na procesy, ktoré sa v roztoku odohrávali.



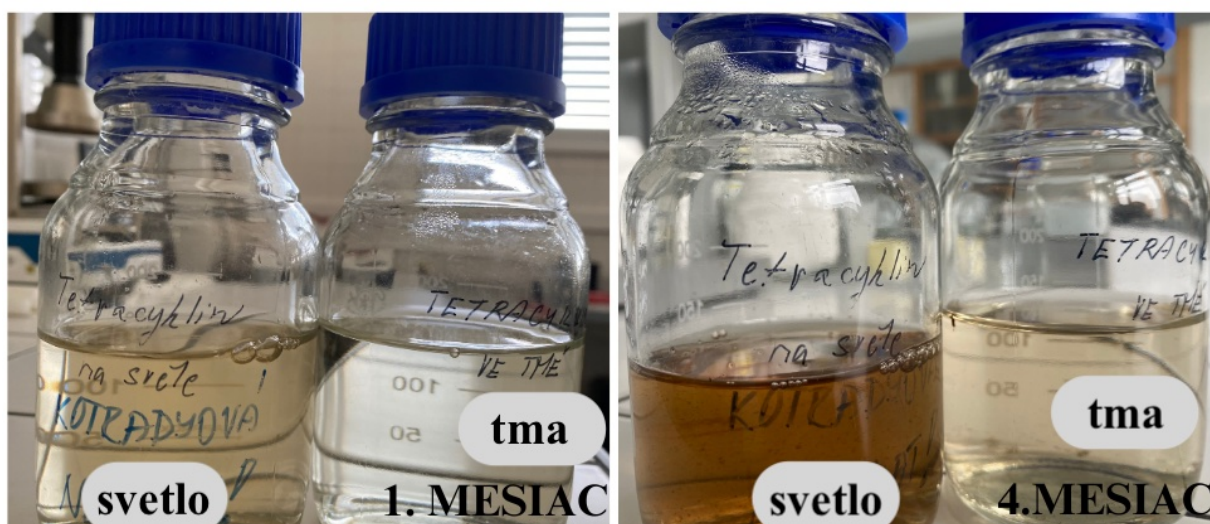
Obr. 4.23: Absorpčné spektrum roztoku TC uchovávaného v tme



Obr. 4.24: Absorpčné spektrum roztoku TC ponechaného na svetle



Obr. 4.25: Úbytok koncentrácie roztokov TC v čase



Obr. 4.26: Farebné zmeny počas degradácie na svetle

Ak by bola degradácia pozorovaná v prírode, v každom individuálnom prípade je ovplyvnená mnohými prítomnými molekulami a časový priebeh sa preto líši. Z prevedeného experimentu je možné dedukovať, že fotodegradácia samotného roztoku tetracyklínu je pomalá a pri dostatočnom obmedzení slnečného a umelého svetla na vzorky nebude meranie sorpcií a desorpcií ovplyvnené týmto javom.

ZÁVER

Cieľom predloženej diplomovej práce bolo v teoretickej časti preskúmať výskyt, zdroje, elimináciu a správanie liečiv v prírode. Na základe získaných poznatkov boli navrhnuté tzv. vsádkové experimenty. V praktickej časti bol hodnotený vplyv organickej hmoty a vápnika štyroch pôd na sorpčné a desorpčné procesy, následne bol skúmaný účinok rôznych pH prostredí na tieto deje. Z dôvodu degradácie vybraného liečiva na svetle bol prevedený experiment fotodegradácie tetracyklínu v roztoku.

Sorpcie tetracyklínu boli uskutočnené a dokázané vo všetkých štyroch pôdach. Z presnejších výsledkov nameraných pomocou kvapalnej chromatografie boli získané adsorbované množstvá pre rozsah počiatočných koncentrácií 1–20 mg/dm³. Výsledky ukázali, že adsorbované množstvá sa pri nižších koncentráciách vo veľkej miere nelíšili. Pri dvoch najvyšších koncentráciách pôvodných roztokov (10 mg/dm³ a 20 mg/dm³) bolo pozorované, že najväčšie adsorbované množstvo vykazovala pôda B, pri pôde A a C boli hodnoty takmer identické a najnižšie adsorbované množstvá boli v pôde D. Účinnosť sorpcie bola pri všetkých koncentráciách a pôdach nad 84 %. Výsledky nezodpovedajú teoretickému predpokladu, kedy by pôda s najvyšším obsahom organickej hmoty a vápnika (pôda A) mala adsorbovať najvyššie množstvo tetracyklínu. Všetky pôdy obsahujú vysoké koncentrácie vápnika (mg na kg pôdy). To môže byť dôvodom účinnej adsorpcie pri všetkých pôdach, pretože anorganické kationy zohrávajú pri sorpcii dôležitú rolu v priebehu iónovej výmeny.

Pre získanie informácie o adsorpčnom mechanizme boli získané hodnoty adsorbovaného množstva a rovnovážnej koncentrácie preložené najviac využívanými izotermickými modelmi, Langmuirovým a Freundlichovým. Pôdy A, B a D sa najlepšie zhodovali s modelom Langmuir, čo naznačuje jednovrstvovú homogénnu adsorpciu TC s chemickým naviazaním na týchto pôdach. Pre popis sorpcií na pôde D vyhovovala aj Freundlichova izoterma, ktorá naznačuje viacvrstvovú fyzikálnu adsorpciu. Tá by mohla byť následkom nízkeho obsahu organickej hmoty a najvyššej miery desorpcie spomedzi pôd. Vhodnosť modelu závisí od typu pôdy a od mechanizmov, ktorými sa sorpcia riadi. V každej pôde pravdepodobne prevládal iný mechanizmus, v pôde D to mohlo byť spojenie fyzikálnych a chemických procesov.

Pre vyhodnotenie interakcii medzi pôdou a tetracyklínom na molekulovej úrovni boli merané absorpčné spektrá s využitím FTIR spektroskopie. V spektrách pôd pred a po sorpciách neboli pozorované významné rozdiely. Pri porovnaní spektier pôd po sorpcii so spektrom čistého tetracyklínu neboli rozpoznané žiadne absorpčné pásy a výrazné píky, ktoré by určovali vznik chemickej väzby medzi pôdami a TC. Vrámcí získaných absorpčných spektier pôd boli s použitím literatúry detekované väzby medzi atómami, ktoré sa nachádzajú v ich komplexnom systéme. Na základe vykonaného merania je možné vyvodiť úsudok, že tetracyklín sa na skúmané pôdy viaže fyzikálnymi silami a pevnejšie chemické väzby sa medzi liečivom a pôdami nevytvorili. Toto zistenie je v rozpore s modelom Langmuir, ktorý vyhovoval väčšine pôd a hovorí o chemickej adsorpcii. Pre presný popis mechanizmu by bolo nutné previesť podrobnejšie experimenty. Pri opakovanom zhotovení experimentu by bolo vhodné zvážiť aplikovanie vyšších koncentrácií TC.

Desorpčný experiment mal za úlohu poukázať na stabilitu adsorbovaného tetracyklínu. U všetkých pôd bolo množstvo liečiva, ktoré desorbovalo do roztoku značne nižšie ako množstvo, ktoré ostalo po desorpciách imobilizované v pôde. Desorpcia prebiehala vo všetkých pôdach pri dvoch najvyšších pôvodných koncentráciách (10 mg/dm³ a 20 mg/dm³). Pri porovnaní desorpcie v týchto dvoch koncentráciách bol viditeľný trend, kedy najvyššie množstvo desorbovalo z pôd v poradí D>A>B>C. Celková účinnosť bola u pôdy A, B a C pri všetkých koncentráciách pod úrovňou 1 %. Desorpcia bola pozorovaná v pôde D pri každej koncentrácii a účinnosť klesala so zvyšujúcou koncentraciou pôvodného roztoku TC. Získané výsledky neodpovedajú predpokladu, kedy by pôda C, ktorá obsahuje najmenej organickej hmoty a vápnika mala mať najnižšiu schopnosť zadržať tetracyklín a najviac liečivo desorbovať. Avšak, pomer organickej hmoty voči

vápniku je v pôdach B a C najvyšší. V úvahu tak pripadá synergický účinok týchto dvoch zložiek pôdy. Proces bude pravdepodobne ovplyvnený komplexne viacerými zložkami pôdy s vysokou afinitou k tetracyklínu. Môžu to byť rozličné anorganické zlúčeniny alebo interakcie medzi molekulami samotného tetracyklínu. Celkové vysoké adsorbované a nízke desorbované množstvá poukazujú aj na prítomnosť silnej fyzikálnej a/alebo chemickej väzby medzi pôdou a TC.

Druhé sorpčné experimenty boli realizované v roztokoch pufrov s hodnotami pH 3, 5, 7 a 10. Podľa hodnôt pK_a 1.1.1 sa v závislosti na pH tetracyklín vyskytuje v kationovej, zwitteriónovej alebo aniónovej forme. Vplyv pH na sorpcie vykazoval malé rozdiely v nasorbovaných množstvách. Pôda A a B vykazovali väčšie výkyvy v alkalických roztokoch. Pôdy C a D mali zrovnateľné hodnoty adsorbovaného tetracyklínu a so zvyšujúcim sa pH roztokov klesali. Účinnosť sorpcie bola najnižšia v pôde B a v ostatných pôdach bola nad 80 %. Je potrebné podotknúť, že kvôli nefunkčnému prístroju neboli prístupné presnejšie výsledky z chromatografického merania. Dostupné výsledky získané z UV-VIS spektroskopie mohli byť mierne skreslené kvôli vylúhovanej zložke pôdy. Amfotérny charakter tetracyklínu, ionizácia organických látok v pôde a prítomnosť anorganických iónov vplyvajú na mechanizmus sorpcie v závislosti od pH prostredia. Pri uvážení spomínaných faktorov je s najväčšou pravdepodobnosťou príčinou zmien pri sorpciách v zasaďitom prostredí elektrostatická príťažlivosť a kationová výmena s anorganickými iónmi (najmä vápnik, kvôli jeho vysokej afinite k tetracyklínu). V kyslom prostredí môže na sorpciu vplyvať prítomnosť zwitteriónovej formy TC, ktorá môže interagovať s rôzne nabitými molekulami (disociovanou organickou hmotou) a zabezpečovať iónovú výmenu.

Desorpčný proces bol pre pôdy s adsorbovaným liečivom z pufrov sledovaný po prídavku deionizovanej vody k vysušeným pôdam. Desorbované množstvá tetracyklínu boli vysoké pri pH 5 a 3, potom klesali so zvyšujúcim sa pH. Liečivo bolo v pôdach s pH 7 a 10 pevne imobilizované, pričom najväčšia afinita tetracyklínu k pôde bola pozorovaná pri pH 10 u všetkých pôd. Tetracyklín bol pevne viazaný a desorpcia vykazovala účinnosť pod 4 %. Keďže je pozorovaný rovnaký trend pri všetkých pôdach, obsah organickej hmoty nebol rozhodujúcim faktorom. Potvrdila sa hypotéza prijatá pri sorpciách, ktorá preferovala vplyv anorganickej zložky pôdy na sorpciu a zadržanie TC v skúmaných pôdach.

V ďalšej časti bol realizovaný experiment, ktorý sledoval degradáciu tetracyklínu na svetle. Dôvodom merania poklesu koncentrácie tetracyklínu v roztoku na svetle v časových intervaloch bolo zistenie z literatúry, že TC je klasifikovaný ako liečivo ovplyvnené fotodegradáciou. Získané absorpčné UV-VIS spektrá roztoku TC vzorky skladovanej na svetle boli porovnávané so spektrami vzorky uchováanej v tme. Prvá zmena bola zaznamenaná pri vzorke na svetle už po 4. dňoch, keď v roztoku nastal úbytok koncentrácie o 9 %. Vzorka v tme vykazovala stabilný charakter, zatiaľ čo koncentrácia vzorky vystavenej svetlu s plynúcim časom klesala. Po 6. mesiacoch sa absorpčné spektrum vzorky na svetle diametrálne zmenilo a v roztoku boli pravdepodobne prítomné degradačné produkty. Ich skúmanie nebolo cieľom experimentu, avšak ich prítomnosť v prírode môže pôsobiť negatívne. Proces degradácie tetracyklínu v roztoku na svetle bol výsledkami potvrdený. Pre detailnejšie pochopenie procesov fotodegradácie je potrebné zistiť, ako jednotlivé environmentálne faktory ovplyvňujú tento jav v prírode.

Experimentami bolo ukázané, že pôda má chelatačné schopnosti a môže tak slúžiť ako vhodný adsorbent pre tetracyklín v prírode. Hlavnými zložkami v skúmaných pôdach zodpovednými za jeho naviazanie boli pravdepodobne kationy kovov. Vplyv organických látok, ktoré by mali byť hlavným faktorom nebol preukázaný. Záverom práce je nutné poznamenať, že mobilita tetracyklínu v prírode je komplexný jav a je ovplyvnený mnohými faktormi. Obsah organickej hmoty, všadeprítomné kationy kovov a rôzne environmentálne procesy určujú v akej miere bude imobilizovaný v pôde, transportovaný vodným prostredím alebo rozložený pôsobením slnečného žiarenia. Sústredenie antibiotík v prírode môže vyvolať množstvo nežiadúcich účinkov. V budúcnosti je nevyhnutné sa problematikou zaoberať a hľadať prístupné riešenia.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] Said, H. A., Elbaza, H., Lahcini, M., aj. Development of calcium phosphate-chitosan composites with improved removal capacity toward tetracycline antibiotic: Adsorption and electrokinetic properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, [online].2024, vol. 257: str. 128610. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128610>.
- [2] Gudda, F., Odinga, E. S., Tang, L., aj. Tetracyclines uptake from irrigation water by vegetables: Accumulation and antimicrobial resistance risks. *Environmental Pollution*, [online]. 2023, vol. 338: str. 122696. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122696>.
- [3] Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., aj. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*, [online]. 2021, vol. 14, č. 12: s. 1750–1766. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>.
- [4] Chen, Y., Hu, C., Deng, D., aj. Factors affecting sorption behaviors of tetracycline to soils: Importance of soil organic carbon, pH and Cd contamination. *Ecotoxicology and environmental safety*, [online]. 2020, vol. 197: str. 110572. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110572>.
- [5] Browne, A., Chipeta, M., Haines-Woodhouse, G., aj. Global antibiotic consumption and usage in humans. [online]. 2021, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00280-1](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00280-1).
- [6] Pulicharla, R., Hegde, K., Brar, S. K., aj. Tetracyclines metal complexation: Significance and fate of mutual existence in the environment. *Environmental Pollution*, [online]. 2017, vol. 221: s. 1–14. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.017>.
- [7] Antos, J., Piosik, M., Ginter-Kramarczyk, D., aj. Tetracyclines contamination in European aquatic environments: A comprehensive review of occurrence, fate, and removal techniques. *Chemosphere*, [online]. 2024: str. 141519. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141519>.
- [8] Rodriguez-Mozaz, S., Vaz-Moreira, I., Della Giustina, S. V., aj. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment international*, [online]. 2020, vol. 140: str. 105733. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105733>.
- [9] Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., aj. Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere*, [online]. 2020, vol. 251: str. 126351. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126351>.
- [10] Luo, Q., He, S., Huang, Y., aj. Non-toxic fluorescent molecularly imprinted hydrogel based on wood-derived cellulose nanocrystals and carbon dots for efficient sorption and sensitive detection of tetracycline. *Industrial Crops and Products*, [online]. 2022, vol. 177: str. 114528. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114528>.
- [11] Chemical Structure Tetracycline. Dostupné z: www.chemspider.com/Chemical-Structure.10257122.html.
- [12] Zhang, X., Cai, T., Zhang, S., aj. Contamination distribution and non-biological removal pathways of typical tetracycline antibiotics in the environment: a review. *Journal of*

- Hazardous Materials*, [online]. 2024, vol. 463: str. 132862. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132862>.
- [13] Hamdi, S., Gharbi-Khelifi, H., Barreiro, A., aj. Tetracycline adsorption/desorption by raw and activated Tunisian clays. *Environmental Research*, [online]. 2024, vol. 242: str. 117536. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117536>.
- [14] Li, J., Qin, Y., Zhao, C., aj. Tetracycline antibiotics: Potential anticancer drugs. *European journal of pharmacology*, [online]. 2023: str. 175949. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175949>.
- [15] Chen, Y., Hu, C., Qu, J., aj. Photodegradation of tetracycline and formation of reactive oxygen species in aqueous tetracycline solution under simulated sunlight irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, [online]. 2008, vol. 197, č. 1: s. 81–87. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.12.007>.
- [16] Guerra, W., Silva-Caldeira, P. P., Terenzi, H., aj. Impact of metal coordination on the antibiotic and non-antibiotic activities of tetracycline-based drugs. *Coordination Chemistry Reviews*, [online]. 2016, vol. 327: s. 188–199. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.04.009>.
- [17] Sharma, M., Mandal, M. K., Pandey, S., aj. Visible-light-driven photocatalytic degradation of tetracycline using heterostructured Cu₂O–TiO₂ nanotubes, kinetics, and toxicity evaluation of degraded products on cell lines. *ACS omega*, [online]. 2022, vol. 7, č. 37: s. 33572–33586. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: [10.1021/acsomega.2c04576](https://doi.org/10.1021/acsomega.2c04576).
- [18] Guo, Y., Peng, B., Liao, J., aj. Recent advances in the role of dissolved organic matter during antibiotics photodegradation in the aquatic environment. *Science of The Total Environment*, [online]. 2024: str. 170101. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170101>.
- [19] Lal, R. Soil, soul, spirituality, and stewardship. *Journal of Soil and Water Conservation*, [online]. 2024, vol. 79, č. 1: s. 10A–14A. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2489/jswc.2024.1129A>.
- [20] David, R. Pôda: živý poklad pod našimi nohami. *European Environment Agency*, [online]. 2019. Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/sk/signaly-eea/signaly-2019/clanky/rozhovor-2013-poda-zivy-poklad>.
- [21] Definice, význam a funkce půdy. Technická zpráva, Veterinární univerzita Brno, [online]. 2011, Dostupné z: https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/Definice_vyznam_a_funkce_pudy.pdf.
- [22] *Systematický soupis půd v ČR*. Dostupné z: <https://klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showSystematickySoupis>.
- [23] Narsaria, A. How Is Soil Formed And How Many Layers Does It Have? Technická zpráva, [online]. 2020, Dostupné z: <https://www.scienceabc.com/nature/how-is-soil-formed-and-how-many-layers-does-it-have.html>.
- [24] Půdní znaky a vlastnosti půd. Technická zpráva, Masarykova univerzita Brno, [online]. 2004, Dostupné z: https://is.muni.cz/el/sci/podzim2004/G8141/um/102910/Pudni_znaky_vlast_pud.pdf.
- [25] Neina, D. The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and environmental soil science*, [online]. 2019, vol. 2019: s. 1–9. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2019/5794869>.

- [26] Dvorščák, P. Lesné cesty. Technická zpráva, Dostupné z: <https://slideplayer.cz/slide/14120308/>.
- [27] Lipczynska-Kochany, E. Humic substances, their microbial interactions and effects on biological transformations of organic pollutants in water and soil: A review. *Chemosphere*, [online]. 2018, vol. 202: s. 420–437. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.104>.
- [28] Tiwari, J., Ramanathan, A., Bauddh, K., aj. Humic substances: Structure, function and benefits for agroecosystems—A review. *Pedosphere*, [online]. 2023, vol. 33, č. 2: s. 237–249. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.07.008>.
- [29] Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. [online]. 2002. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Alessandro-Piccolo/publication/222526145_The_supramolecular_structure_of_humic_substances_A_novel_understanding_of_humus_chemistry_and_implications_in_soil_science/links/5e52a56292851c7f7f55067f/The-supramolecular-structure-of-humic-substances-A-novel-understanding-of-humus-chemistry-and-implications-in-soil-science.pdf.
- [30] Jilling, A., Keiluweit, M., Contosta, A. R., aj. Minerals in the rhizosphere: overlooked mediators of soil nitrogen availability to plants and microbes. *Biogeochemistry*, [online]. 2018, vol. 139: s. 103–122. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10533-018-0459-5>.
- [31] Xu, Z., Tsang, D. C. Mineral-mediated stability of organic carbon in soil and relevant interaction mechanisms. *Eco-Environment & Health*, [online]. 2024. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2023.12.003>.
- [32] Soil Composition. [online]. 2023. Dostupné z: <https://education.nationalgeographic.org/resource/soil-composition/#>.
- [33] Nassri, I., Souabi, S., aj. Occurrence, pollution sources, and mitigation prospects of Antibiotics, anti-inflammatories, and endocrine disruptors in the aquatic environment. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, [online]. 2023: str. 100878. [cit. 18.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100878>.
- [34] Conde-Cid, M., Ferreira-Coelho, G., Arias-Estévez, M., aj. Adsorption/desorption of three tetracycline antibiotics on different soils in binary competitive systems. *Journal of environmental management*, [online]. 2020, vol. 262: str. 110337. [cit. 16.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110337>.
- [35] Jampani, M., Mateo-Sagasta, J., Chandrasekar, A., aj. Fate and transport modelling for evaluating antibiotic resistance in aquatic environments: Current knowledge and research priorities. *Journal of Hazardous Materials*, [online]. 2023: str. 132527. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132527>.
- [36] Barathe, P., Kaur, K., Reddy, S., aj. Antibiotic Pollution and Associated Antimicrobial Resistance in the Environment. *Journal of Hazardous Materials Letters*, [online]. 2024: str. 100105. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hazl.2024.100105>.
- [37] Birošová, L., Mackul'ak, T., Bodík, I., aj. Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in wastewater treatment plants in Slovakia. *Science of the Total Environment*, [online]. 2014, vol. 490: s. 440–444. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [10.1016/j.scitotenv.2014.05.030](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.030).

- [38] Wang, Y., Wu, G. Leveraging anaerobic biodegradation of tetracycline in anaerobic digestion systems with different operational modes. *Environmental Technology & Innovation*, [online]. 2023, vol. 32: str. 103373. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103373>.
- [39] Lin, Z., Chen, Y., Li, G., aj. Change of tetracycline speciation and its impacts on tetracycline removal efficiency in vermicomposting with epigeic and endogeic earthworms. *Science of The Total Environment*, [online]. 2023, vol. 881: str. 163410. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163410>.
- [40] Hong, H., Liu, C., Li, Z. Chemistry of soil-type dependent soil matrices and its influence on behaviors of pharmaceutical compounds (PCs) in soils. *Heliyon*, [online]. 2023. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22931>.
- [41] Nkoh, J. N., Shang, C., Okeke, E. S., aj. Antibiotics soil-solution chemistry: A review of environmental behavior and uptake and transformation by plants. *Journal of Environmental Management*, [online]. 2024, vol. 354: str. 120312. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [10.1016/j.jenvman.2024.120312](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120312).
- [42] Al-Hashimi, O., Hashim, K., Loffill, E., aj. Eco-friendly remediation of tetracycline antibiotic from polluted water using waste-derived surface re-engineered silica sand. *Scientific Reports*, [online]. 2023, vol. 13, č. 1: str. 13148. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37503-4>.
- [43] ALOthman, Z. A., AlMasoud, N., Mbianda, X., aj. Synthesis and characterization of γ -cyclodextrin-graphene oxide nanocomposite: Sorption, kinetics, thermodynamics and simulation studies of tetracycline and chlortetracycline antibiotics removal in water. *Journal of Molecular Liquids*, [online]. 2022, vol. 345: str. 116993. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116993>.
- [44] Abin-Bazaine, A., Trujillo, A. C., Olmos-Marquez, M. Adsorption isotherms: enlightenment of the phenomenon of adsorption. *Wastewater Treatment*, [online]. 2022: s. 1–15. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [10.5772/intechopen.104260](https://doi.org/10.5772/intechopen.104260).
- [45] Christl, I., Ruiz, M., Schmidt, J. R., aj. Clarithromycin and tetracycline binding to soil humic acid in the absence and presence of calcium. *Environmental science & technology*, [online]. 2016, vol. 50, č. 18: s. 9933–9942. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04693>.
- [46] Li, Z., Kolb, V. M., Jiang, W.-T., aj. FTIR and XRD investigations of tetracycline intercalation in smectites. *Clays and clay minerals*, [online]. 2010, vol. 58, č. 4: s. 462–474. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [10.1346/CCMN.2010.0580402](https://doi.org/10.1346/CCMN.2010.0580402).
- [47] Rizkallah, B. M., Galal, M. M., Matta, M. E. Characteristics of Tetracycline Adsorption on Commercial Biochar from Synthetic and Real Wastewater in Batch and Continuous Operations: Study of Removal Mechanisms, Isotherms, Kinetics, Thermodynamics, and Desorption. *Sustainability*, [online]. 2023, vol. 15, č. 10: str. 8249. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/su15108249>.
- [48] Wang, H., Fang, C., Wang, Q., aj. Sorption of tetracycline on biochar derived from rice straw and swine manure. *RSC advances*, [online]. 2018, vol. 8, č. 29: s. 16260–16268. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C8RA01454J>.
- [49] She, W.-Z., Li, C.-H., Li, R. S., aj. Construction of two-dimensional fluorescent covalent organic framework nanospheres for the detection and removal of tetracycline. *Separation*

- and Purification Technology*, [online]. 2024, vol. 330: str. 125294. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.125294>.
- [50] DBpedia. *Britton–Robinson buffer*. Dostupné z: https://dbpedia.org/page/Britton-Robinson_buffer.
- [51] Oluwole, A. O., Olatunji, O. S. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous systems under visible light irradiation using needle-like SnO₂ nanoparticles anchored on exfoliated gC₃N₄. *Environmental Sciences Europe*, [online]. 2022, vol. 34: s. 1–14. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12302-021-005887>.
- [52] Tom, J. UV-Vis Spectroscopy: Principle, Strengths and Limitations and Applications. *Analysis & Separations*, [online]. 2021. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>.
- [53] Aryal, S. HPLC: Principle, Parts, Types, Uses, Diagram. *Microbe Notes*, [online]. 2023. Dostupné z: <https://microbenotes.com/high-performance-liquid-chromatography-hplc/>.
- [54] Mathias, J. How Does FTIR Analysis Work? [online]. 2022. Dostupné z: <https://www.innovatechlabs.com/newsroom/672/stuff-works-ftir-analysis/>.
- [55] Ling-Ling, L., HUANG, L.-D., CHUNG, R.-S., aj. Sorption and dissipation of tetracyclines in soils and compost. *Pedosphere*, [online]. 2010, vol. 20, č. 6: s. 807–816. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(10\)60071-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(10)60071-9).
- [56] Zhao, Y., Tong, F., Gu, X., aj. Insights into tetracycline adsorption onto goethite: experiments and modeling. *Science of the total environment*, [online]. 2014, vol. 470: s. 19–25. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.059>.
- [57] Heller, C., Ellerbrock, R., Roßkopf, N., aj. Soil organic matter characterization of temperate peatland soil with FTIR-spectroscopy: effects of mire type and drainage intensity. *European Journal of Soil Science*, [online]. 2015, vol. 66, č. 5: s. 847–858. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ejss.12279>.
- [58] Cox, R., Peterson, H., Young, J., aj. The forensic analysis of soil organic by FTIR. *Forensic science international*, [online]. 2000, vol. 108, č. 2: s. 107–116. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00203-0](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00203-0).
- [59] Wang, J., Huang, R., Liang, Y., aj. Prediction of antibiotic sorption in soil with machine learning and analysis of global antibiotic resistance risk. *Journal of Hazardous Materials*, [online]. 2024, vol. 466: str. 133563. [cit. 25.2.2024]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133563>.

ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

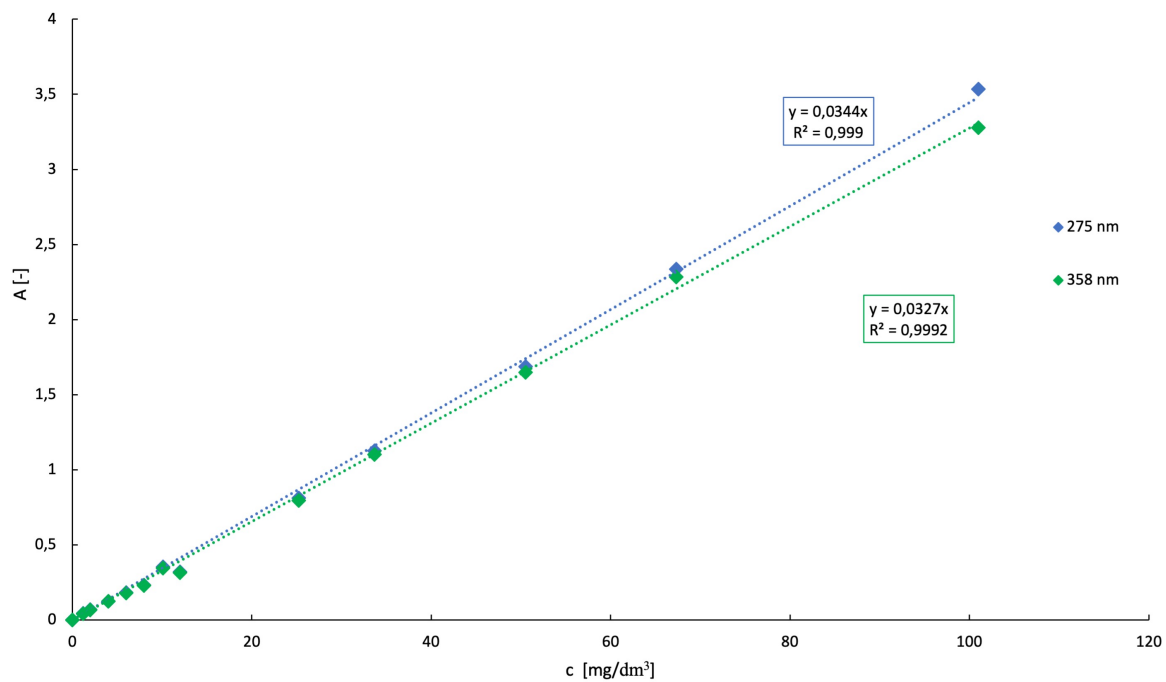
Skratky

ČOV	Čistička odpadových vôd
TC	Tetracyklín
OTC	Oxytetracyklín
CTC	Chlortetracyklín
DX	Doxycyklín
MC	Minocyklín
TG	Tigecyklín
Ph	Fenol
POP	Pokročilé oxidačné procesy
OM	Organická hmota
HK	Humínové kyseliny
atb	antibiotiká
FTIR	Infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou
SEM	Skenovacia elektrónová mikroskopia
TEM	Transmisná elektrónová mikroskopia
XRD	Röntgenová difrakcia
HPLC	Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
EDX	Energetická disperzná röntgenová spektroskopia

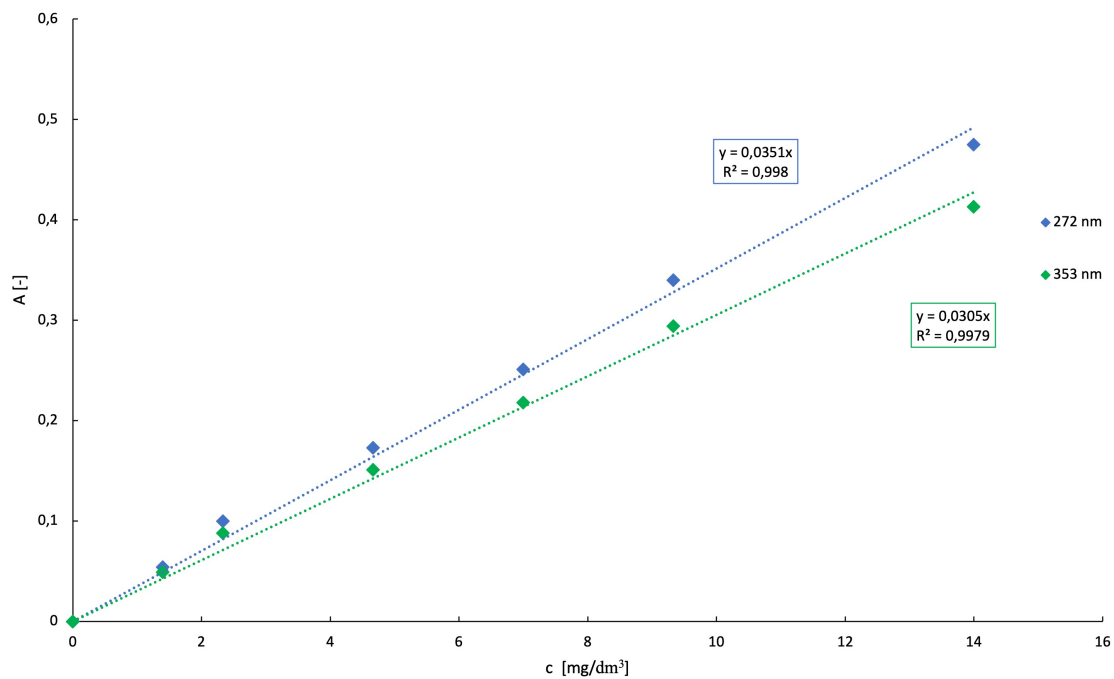
Symbody

pH_{PZC}	pH, pri ktorom má zlúčenina nulový náboj
a	bilančná sorpčná kapacita [mg/g]
a_{max}	maximálna sorpčná kapacita [mg/g]
K_L	Langmuirova konštanta [dm^3/mg]
K_F	Freundlichova konštanta [mg/g]

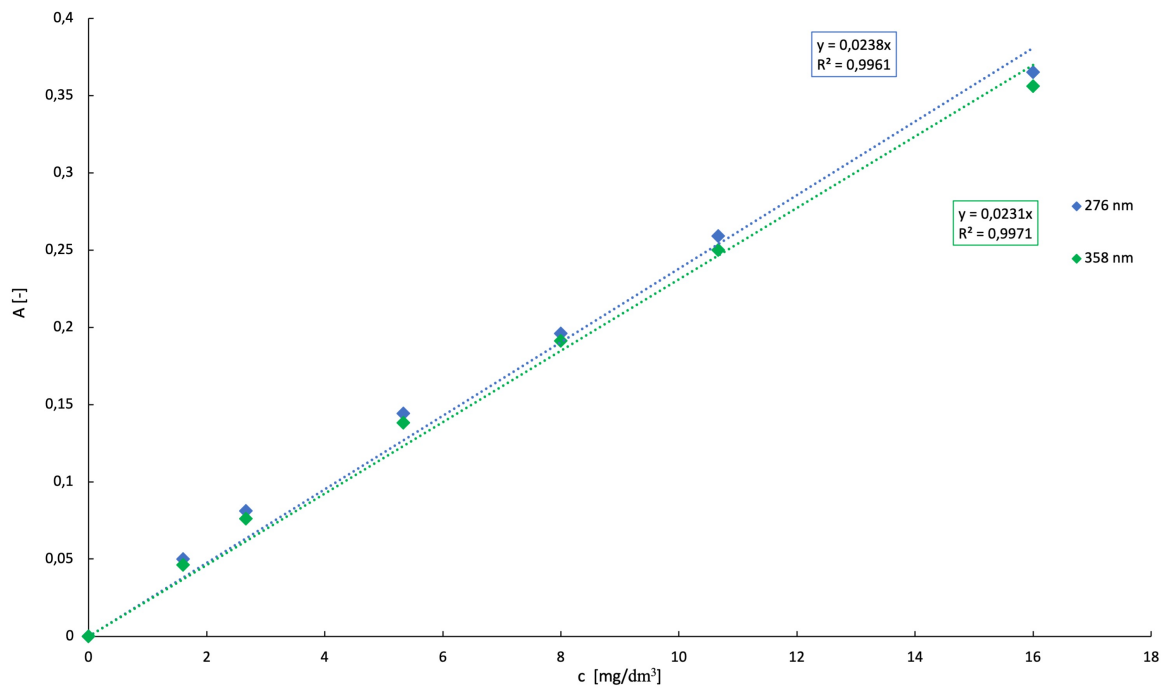
PRÍLOHY



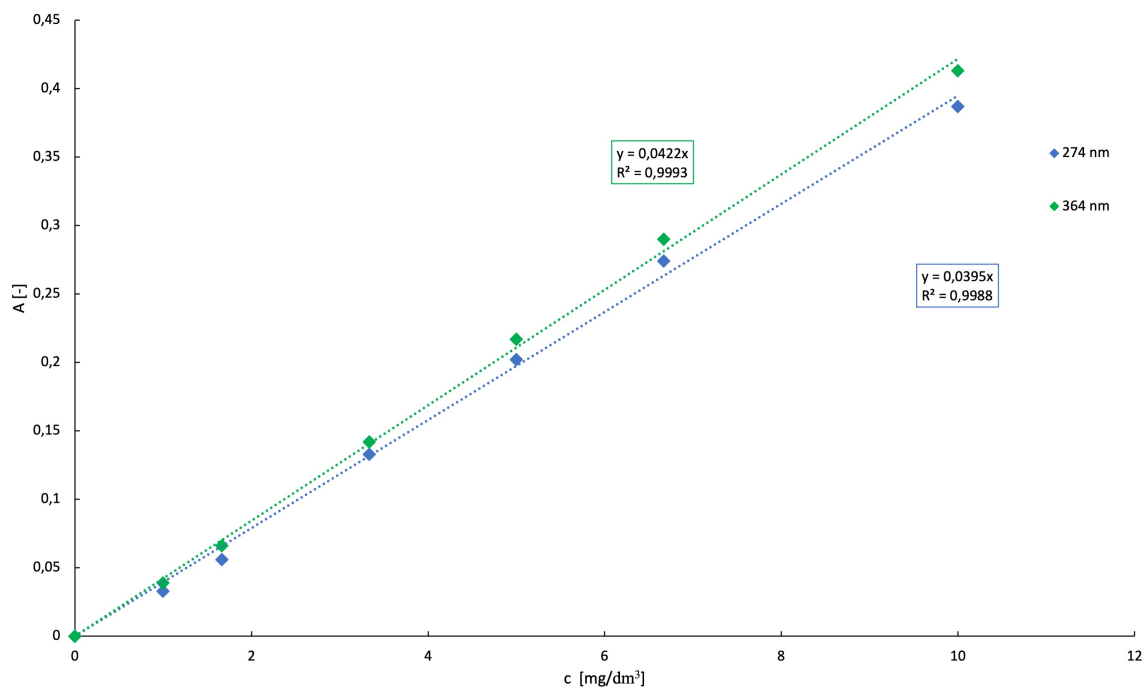
Príloha 1: Kalibračná krivka tetracyklínu v MQ vode



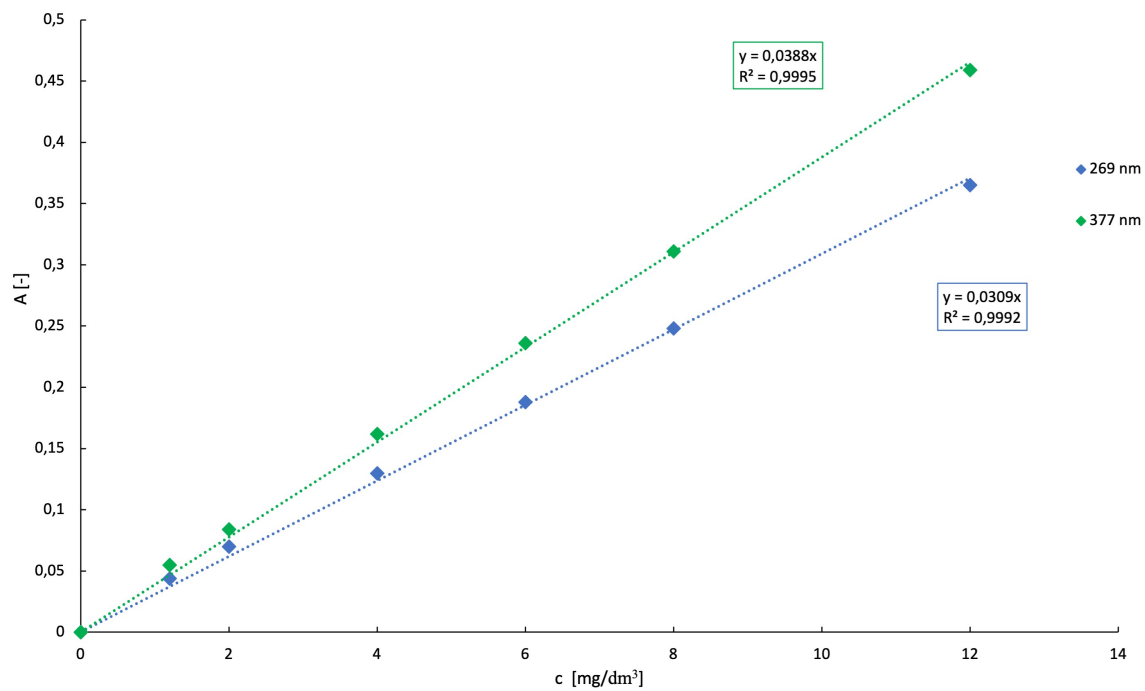
Príloha 2: Kalibračná krivka tetracyklínu v pufrí s pH 3



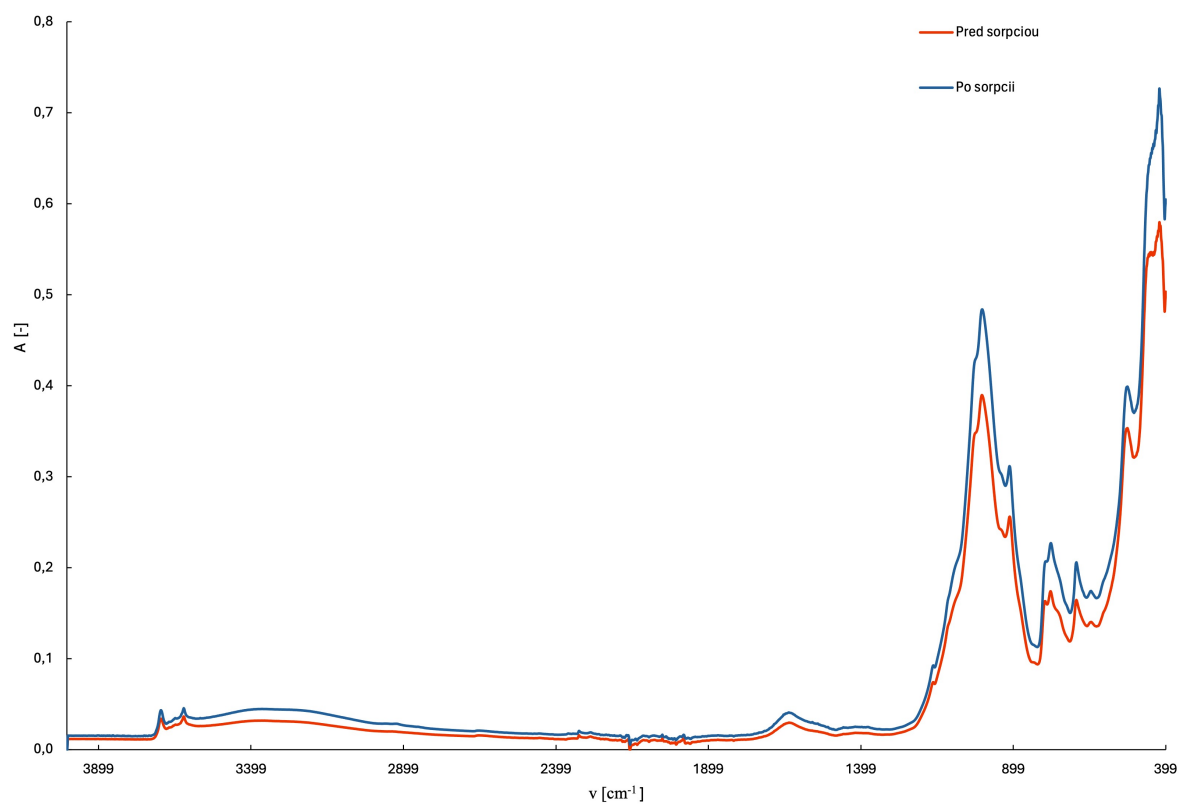
Príloha 3: Kalibračná krivka tetracyklínu v pufrí s pH 5



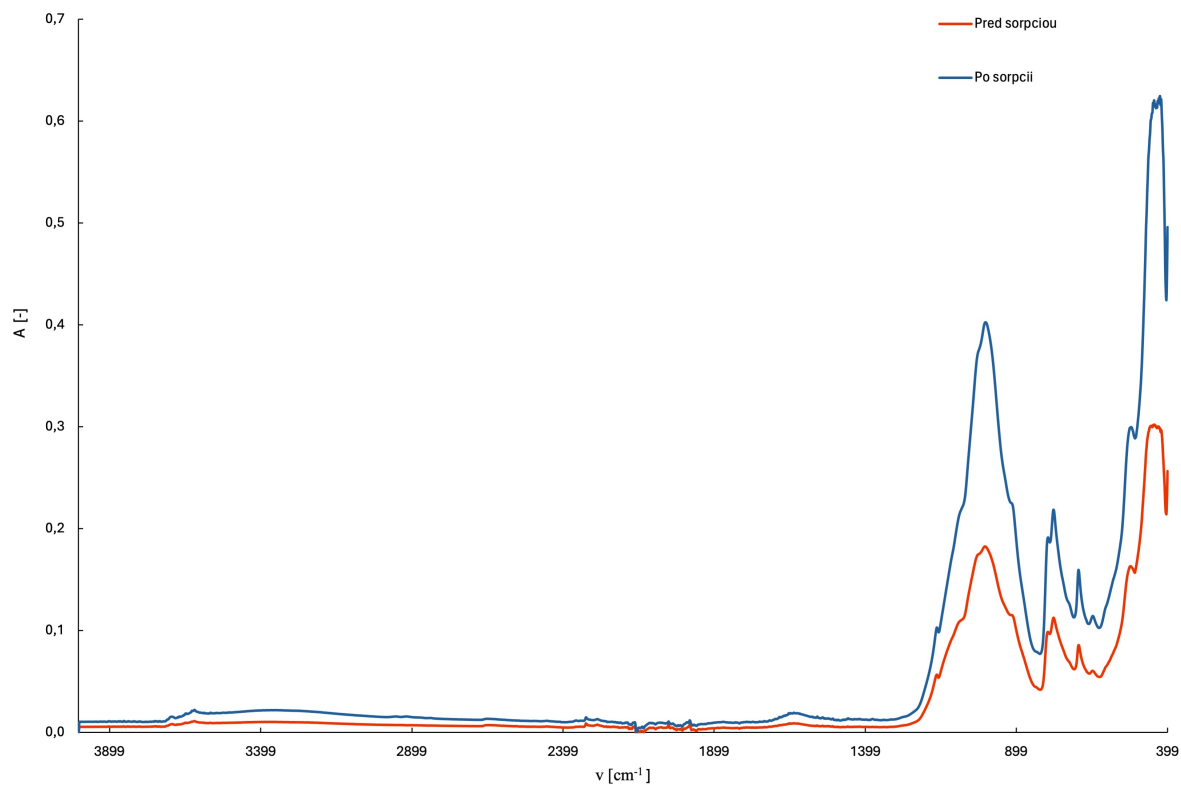
Príloha 4: Kalibračná krivka tetracyklínu v pufrí s pH 7



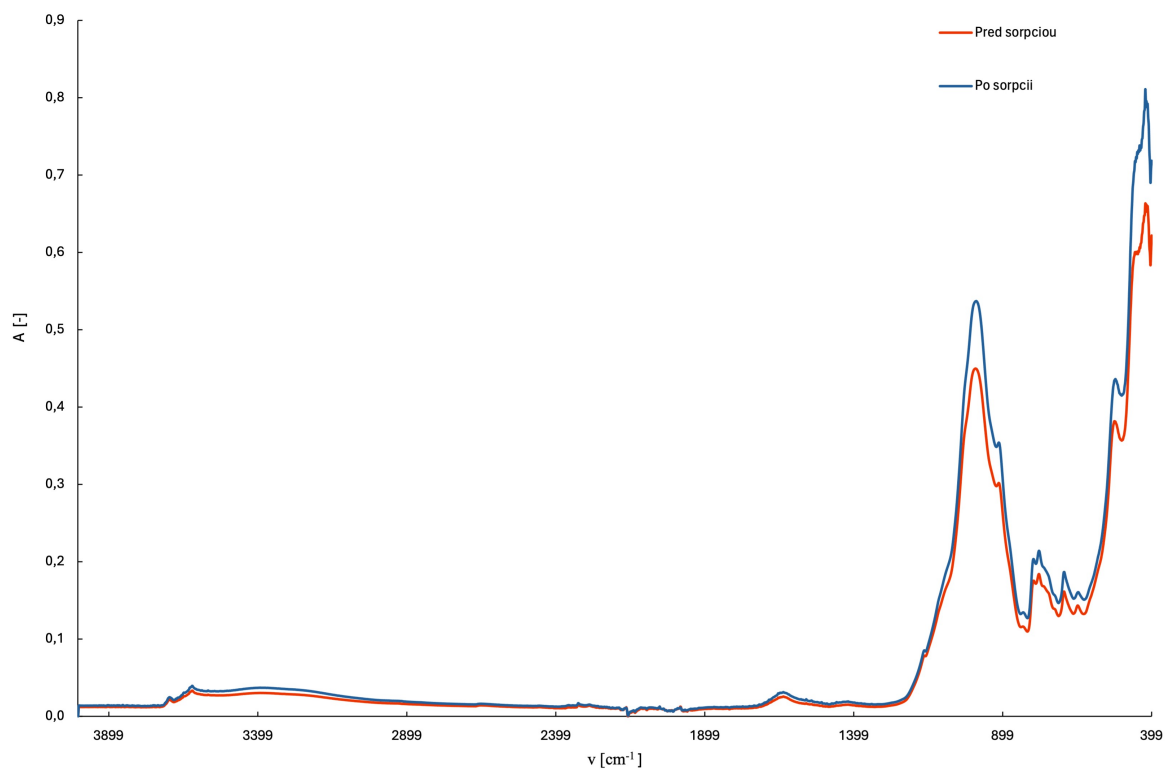
Príloha 5: Kalibračná krivka tetracyklínu v pufrí s pH 10



Príloha 6: Absorpčné spektrum pôdy B



Príloha 7: Absorpčné spektrum pôdy C



Príloha 8: Absorpčné spektrum pôdy D