

חומרים רפואיים ממי קולחים: קליטה על ידי צמחים וגורל בקרקע

Pharmaceutical compounds in reclaimed wastewater: uptake by plants and fate in soil

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

בני חפץ	המחלקה למדעי הקרקע והמים והמכון למדעי הצמח, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון ואיכות הסביבה, האוניברסיטה העברית בירושלים. ת.ד. 12 רחובות 76100.
משה שנקר	המחלקה למדעי הקרקע והמים והמכון למדעי הצמח, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון ואיכות הסביבה, האוניברסיטה העברית בירושלים. ת.ד. 12 רחובות 76100.
יצחק הדר	המחלקה למיקרוביולוגיה ומחלות צמחים, הפקולטה למדעי החקלאות, המזון ואיכות הסביבה, האוניברסיטה העברית בירושלים. ת.ד. 12 רחובות 76100.

Benny Chefetz and Moshe Shenker, Department of Soil and Water Sciences, Yitzhak Hadar, Department of Plant Pathology and Microbiology, Faculty of Agricultural, Food and Environmental Quality Sciences, The Hebrew University of Jerusalem
P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel.
Emails: chefetz@agri.huji.ac.il; shenker@agri.huji.ac.il; hadar@agri.huji.ac.il

דצמבר, 2010

כסלו, תשע"א

**הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא/לא**

חתימת החוקר _____ קני

רשימת פרסומים

1. יום עיון של הקרן לבריאות וסביבה בנושא "השפעת כימיקלים בסביבה על פוריות, הריון והתפתחות העובר"
2. דניאלה הרוש. 2010. קליטת carbamazepine על ידי צמחי מלפפון. עבודת גמר, האוניברסיטה העברית בירושלים.
3. 15th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, Bari, Italy, October 7--11, 2009.
4. EmCon2009 Colorado State University, Fort Collins, USA. August 4-7, 2009.
5. Shenker, M., D. Harush, J. Ben-Ari and B. Chefetz. 2010. Uptake of carbamazepine by cucumber plants - a case study related to irrigation with reclaimed wastewater. Chemosphere (in press, doi:10.1016/j.chemosphere.2010.10.052).

תקציר

הצגת הבעיה: בעשורים האחרונים גדל והתרחב השימוש בחומרים רפואיים ע"י האוכלוסייה במדינות המערב. חלק מהחומרים הרפואיים אינם עוברים טרנספורמציות ו/או פירוק בתהליך הטיפול בשפכים. עקב השימוש האינטנסיבי במי הקולחים להשקיה במדינת ישראל יש חשש כי החומרים הרפואיים העמידים לטיפול בשפכים מוסעים לאזורים חקלאיים נרחבים. בקרקע עלולים חומרים אלה להיספח לפאזה המוצקה, או לנוע עם תמיסת הקרקע, להתפרק, להשפיע על הפעילות המיקרוביאלית, וכן להיקלט ע"י צמחים.

מהלך שיטות עבודה: בפרויקט זה בחנו את מידת היציבות בקרקע של מספר חומרים רפואיים, על סמך תוצאות חלק זה במחקר התמקדנו בקליטה של החומר הרפואי קרבמזפין (CBZ) על ידי צמחי מלפפון. בנוסף בחנו את הגורמים המשפיעים על מידת הקליטה והניוד בצמח.

תוצאות עיקריות: נצפתה קליטה של החומר הרפואי קרבמזפין בצמחי מלפפון. חומר זה לא התפרק בקרקע באינקובציה של עד 50 ימים. חומרים רפואיים אחרים התפרקו בקרקע בקצבים שונים בהתאם למבנה הכימי שלהם ולסוג האינטראקציות אותם הם מקיימים בקרקע.

מסקנות והמלצות: תוצאות עבודתנו מוכיחות שקרבמזפין יכול להיקלט על ידי צמחים המושקים בקולחים גם כאשר ריכוזו נמוך מאוד, כמו הריכוזים השכיחים בקולחים. מתוצאות עבודתנו עולה שקרבמזפין הצטבר בעיקר בעלים ולא בפירות לפיכך, מתעורר הצורך לערוך ניסויים נוספים בהם תיבחן קליטת CBZ על ידי גידולים בהם החלק הנצרך למאכל אדם הוא העלים, כגון חסה וכרוב.

מבוא

החומרים הרפואיים הינם חומרים המסווגים לפי ייעודם הפרמקולוגי. קבוצה זו של חומרים מאופיינת במגוון רחב של משפחות בעלי תכונות כימיות ופיזיקליות מגוונות, אך ניתן לציין גם מאפיינים משותפים לרבים מהם. רוב החומרים הם בעלי שלד הידרופובי וקבוצות פונקציונליות פולריות המקנות להם את היכולת להתמוסס במים. לחומרים הרפואיים יש יכולת השפעה על המערכת הביולוגית ורובם שומרים על המבנה שלהם ועל פעילותם לאורך זמן ויוצרים השפעה מתמשכת. בסקר מקיף של ה-USGS נמצאה נוכחות של מגוון רחב של החומרים הרפואיים ב-80% מקורות המים העיליים שנבדקו בארה"ב (1). מידת ההרחקה של חומרים רפואיים במתקני בוצה משופעלת דווחה כנמוכה מאוד, כאשר אחוז ההרחקה תלוי בסוג החומרים. עדויות נוספות ליכולת הנמוכה להרחקה של חומרים רפואיים במתקני טיפול בשפכים ניתן לראות במציאת יותר מ-80 חומרים רפואיים ותוצרי הפירוק שלהם במקורות מים עליים הממוקמים במורד הזרם של מתקני הטיפול בשפכים. בגרמניה נמצאו 20 תרופות שונות לטיפול באדם וארבעה תוצרי פירוק של חומרים רפואיים במי תהום בריכוזים של ng/L (2). חומרים רפואיים אחרים נמצאו במקורות מים (נחלים, אגמים, ימים) אליהם מוזרמים קולחים. החומרים המסיסים במים הינם בעלי יכולת תנועה רבה יותר בסביבה והם יכולים להגיע למקורות מים עיליים ואף למי תהום. לעומתם, החומרים ההידרופוביים יכולים להצטבר בסדימנטים, בבוצה ובחי. גם בישראל, נמצאו חומרים רבים במי הקולחים המשמשים להשקיה (דוח מסכם פרויקט 821-0093-07 וב-3).

מטרות המחקר המרכזיות של פרויקט זה היו לבחון קליטה של חומרים רפואיים ע"י צמחים ולבחון את שרידותם בקרקע. לאחר מערך הניסויים הראשון החלטנו להתמקד בניסויי הקליטה בחומר הרפואי carbamazepine (CBZ) שהראה יציבות גדולה מאוד בקרקע.

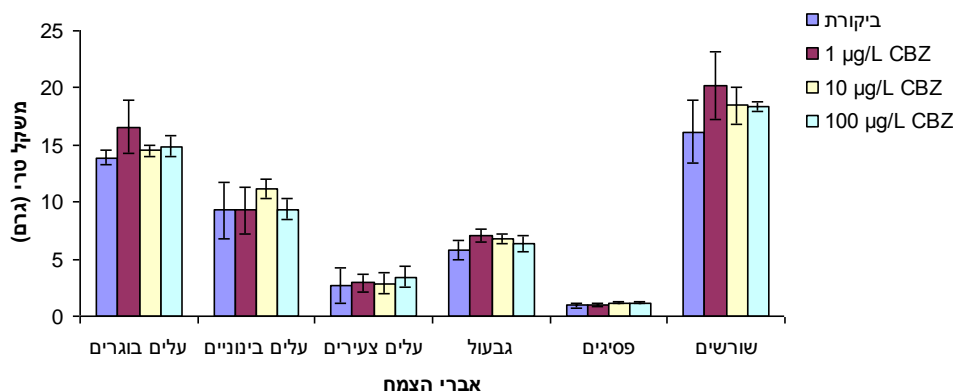
תוצאות

מחקר זה התמקד בשני נושאים עיקריים: (1) קליטה של חומרים רפואיים ע"י צמחים, ו- (2) פירוק חומרים רפואיים בקרקע. בחלקה הראשון של העבודה חקרנו את הקליטה של החומר הרפואי היציב קרבמזפין (CBZ) על ידי צמחי מלפפון. הדבר נעשה בשלבים הבאים: (1) תמיסות מזון בתוספת CBZ בטווח רחב של ריכוזים לבחינת השפעות על הגידול, קליטה וחלוקה בין אברי הצמח; ו- (2) ניסויי עציצים עם צמחי מלפפון לבחינת השפעת סוג הקרקע, והשפעת איכות מי ההשקיה על מידת הקליטה בריכוזים סביבתיים נפוצים של CBZ. בחלק האחר של העבודה חקרנו את הפירוק הביוטי של מספר חומרים רפואיים בקרקע. העבודה בוצעה בקרקעות בתרחיפי קרקע. בשני המקרים ביצענו השוואה בין קרקעות שנחשפו לקולחים וקרקעות שהושקו במים שפירים.

קליטה ע"י צמחי מלפפון

ניסויי הידרופוניקה: צמחי מלפפון (זן סאפי) גודלו עד 22 ימים בתמיסות מזון מאווררות בתוספת קרבמזפין (CBZ) בטווח רחב של ריכוזים. ביום הקציר, הצמחים הופרדו לשישה חלקים: עלים בוגרים, בינוניים, צעירים + אמיר צימוח, גבעולים, פסיגים ושורשים. חלקי הצמח השונים נשקלו (משקל טרי) והשוו למשקלי צמחי הביקורת (ללא תוספת CBZ). המשקל הטרי הממוצע של הצמחים שגודלו בתמיסות מזון בתוספת CBZ עד לריכוז של $1,000 \mu\text{g/L}$ לא היה מובהק באופן סטטיסטי ממשקלם הטרי של הצמחים שגודלו בתמיסות מזון ללא תוספת CBZ, אילו הם צמחי הביקורת (איור 1). משקל הביומאסה הכללית של צמחי המלפפון שגודלו במשך 22 ימים בתמיסת מזון בתוספת CBZ בריכוז של $1, 10, 100, 1000 \mu\text{g/L}$ היה 53.03 ± 0.8 , 55.56 ± 3.2 , 53.85 ± 2.1 ו- 53.09 ± 1.0 g, בהתאמה. משקל הביומאסה הכללית של צמחי המלפפון שגודלו במשך 10 ימים בתמיסת מזון בתוספת CBZ בריכוז של $0, 1000 \mu\text{g/L}$ היה 11.9 ± 2.3 ו- 12.2 ± 0.5 g, בהתאמה. רק עבור הצמחים שנחשפו לריכוזים גבוהים יותר של CBZ ($10,000, 100,000 \mu\text{g/L}$) נצפו השפעות על הגידול. בצמחים אלו נצפתה ירידה במשקל הביומאסה הכללית. משקל הביומאסה הכללית של צמחי המלפפון שגודלו במשך 10 ימים בתמיסת מזון בתוספת CBZ בריכוז של $10,000 \mu\text{g/L}$ היה 6.3 ± 1.1 g בעוד משקלם של צמחי הביקורת בניסוי זה היה 11.9 ± 2.3 g, זו ירידה של 47% בביומאסה של צמחי המלפפון שטופלו ב-CBZ. משקל הביומאסה הכללית של צמחי המלפפון שגודלו במשך 10 ימים בתמיסת מזון בתוספת CBZ בריכוז של $0, 100,000 \mu\text{g/L}$ היה 24.4 ± 2.6 ו- 4.4 ± 0.5 g, בהתאמה. השפעה זו מבטאת ירידה של 82% בביומאסה של צמחי המלפפון שטופלו ב-CBZ. בנוסף לירידה בביומסה, השפעות ה-CBZ התבטאו גם בירידה באורך השורשים, שינוי בצורה ובמספר השורשים המשניים, וירידה במספר ובגודל העלים הבוגרים. עלי הצמחים שנחשפו לריכוז הגבוה ביותר בניסוי זה ($100,000 \mu\text{g/L}$) היו קטנים, מעוגלים בקצוות ושברים בנקל, ולקראת סוף תקופת הגידול לא התפתחו עלי חדשים. בריכוז זה, צבע העלים השתנה לירוק בהיר עם הזמן ועם הגדלת זמן החשיפה לחומר הרפואי בתמיסה צבעם השתנה לצהוב. השפעות ה-CBZ התבטאו בעיקר בעלים הבוגרים (התחתונים). ציצת השורשים הייתה דלה ובסוף תקופת הגידול צבעם היה כהה, דבר המעיד על ריקבון ומוות של השורשים. השפעות הוספת ה-CBZ על צמחי מלפפון בריכוזים גבוהים מוצגות באיור 2. בצמחים שגודלו בתמיסות מזון בתוספת CBZ בריכוז של $0, 1, 10, 100 \mu\text{g/L}$ לא נצפו השפעות על הגידול

בעלים או בשורשים והתפתחותם הייתה בדומה לצמחי הביקורת. על מנת להימנע מהשפעות הרעילות של CBZ על צמחי המלפפונים, בכל הניסויים שערכנו ריכוז CBZ בתמיסת ההשקיה היה מתחת ל-100 µg/L.



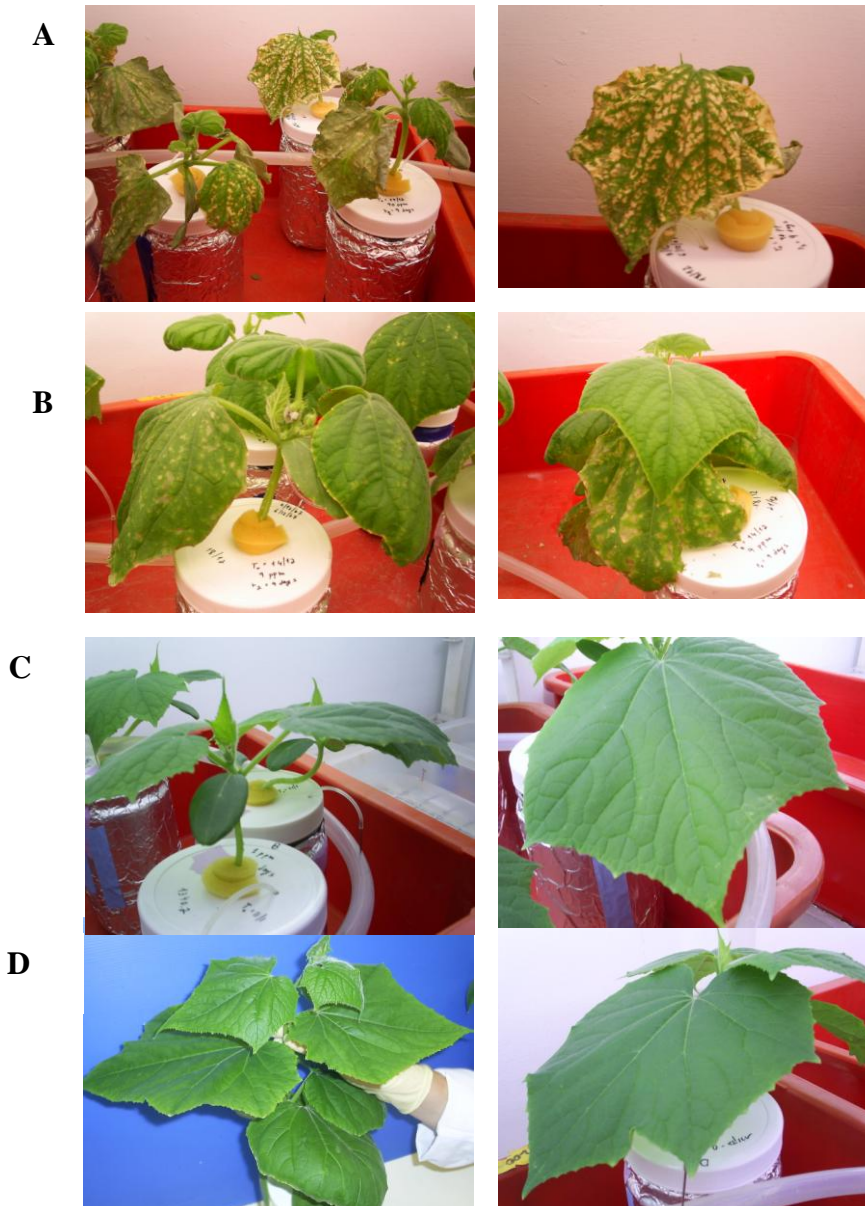
איור 1. משקל טרי של צמחי מלפפון אשר גודלו בתמיסות מזון בתוספת או ללא תוספת carbamazepine (CBZ). מוצגות סטיות התקן מ-5 חזרות.

בטבלה 1 מוצגים משקלי הצמחים בעת הקציר (משקל טרי), ריכוז וכמות CBZ בחלקי הצמח השונים של צמחי מלפפון שגודלו במשך 22 ימים בתמיסות מזון בתוספת או ללא תוספת (צמחי ביקורת) CBZ בריכוז של 100 µg/L. חשוב לציין ש-CBZ לא זוהה בשום איבר בצמחי הביקורת. ריכוז ה-CBZ נבדק במוהל הקסילים כדי לקבל אינדיקציה על אופן הובלתו בצמח. ביום האחרון לגידול, לאחר חיתוך הנוף נאסף מוהל הקסילים באופן ידני. נמצא שריכוז ה-CBZ במוהל הקסילים היה 65.88 ± 28.4 µg/L בזמן שריכוזו בתמיסת המזון במהלך הקציר היה 76.07 ± 8.9 µg/L. שני ערכים אלו אינם נבדלים מבחינה סטטיסטית. תוצאות ניסוי זה מרמזות על כך שקליטת CBZ הינה פאסיבית, עם זרם הטרנספירציה בצינורת העצה. תוצאות אלו, תואמות לאלו של Winker et al. (4) שדיווחו בעבודתם ש-CBZ נקלט על ידי הצמח בקצוות השורשים, במקומות בהם פסי קספרי עדיין לא מגנים על הצמח, עובר בדיפוזיה דרך ממברנות השורש ונע בצינורת העצה לחלקי הצמח השונים.

טבלה 1. משקלי הצמחים בעת הקציר (משקל טרי), ריכוז וכמות carbamazepine (CBZ) (ממוצע ± סטיות תקן 5 חזרות) באברי הצמח השונים של צמחי מלפפון שגודלו במשך 22 ימים בתמיסות מזון בתוספת או ללא תוספת (צמחי ביקורת) CBZ בריכוז של 100 µg/L.

	גיל העלים			גבעולים	שורשים		
	צעירים	בינוניים	בוגרים				
משקל (ג')	3.44 ± 0.91	9.3 ± 0.91	14.9 ± 0.94	1.20 ± 0.13	6.34 ± 0.71	18.35 ± 0.48	עם CBZ
צמחי ביקורת	2.70 ± 1.60	9.3 ± 2.52	13.9 ± 0.67	0.98 ± 0.21	5.79 ± 0.79	16.16 ± 2.74	
ריכוז CBZ (µg/kg)	462 ± 116	1086 ± 90	957.0 ± 90	2354.1 ± 60	136.0 ± 10	163.3 ± 27.9	
	1.5 ± 0.5	9.9 ± 1.0	12.8 ± 1.2	1.9 ± 0.5	0.7 ± 0.1	2.1 ± 0.4	(µg/organ)

ריכוזי CBZ בעלים (µg לק"ג משקל טרי) היו 1086.6 ± 89.6 , 957.0 ± 89.8 , 2354.1 ± 59.9 ו- 462.4 ± 116.2 בפסיגים, עלים בוגרים, עלים ביוניים ועלים צעירים, בהתאמה. ריכוזו של CBZ בעלים השתנה עם גיל העלים - הריכוז הגבוה ביותר נצפה בפסיגים, והריכוז הנמוך ביותר בעלים הצעירים. ריכוזי CBZ בגבעול ובשורשים היו 136.0 ± 10.2 ו- 163.3 ± 27.9 (µg/kg), בהתאמה. ריכוזים אלו, קטנים באופן משמעותי ביחס לריכוזים בעלים. מגמה זו בולטת יותר כאשר מידת הקליטה מחושבת עבור המסה הכללית של אברי הצמח השונים שנבדקו. מרבית הכמות הצטברה בעלים הבוגרים ($45.7 \pm 3.1\%$), בעלים הביוניים ($34.9 \pm 0.5\%$) ובעלים הצעירים ($5.3 \pm 2.2\%$). בשורשים הצטבר רק $7.3 \pm 0.7\%$ ובגבעול ובפסיגים רק $2.5 \pm 0.6\%$ ו- $6.4 \pm 1.4\%$, בהתאמה, מתוך סך הכמות של ה-CBZ שנקלטה בצמח. סך כמות CBZ שנקלטה בצמח הייתה 28.4 ± 1.8 (µg) (ממוצע של 5 חזרות). כמות CBZ ש"נעלמה" מהתמיסה (בהתחשב בצנצנות ביקורת, ללא צמח) הייתה 48.14 ± 10.1 (µg) מכאן, שאחוז ההשבה (Recovery) בניסוי זה עמד על 60%.



איור 2. השפעות CBZ על צמחי מלפפון שגודלו בתמיסות מוזן בתוספת carbamazepine בריכוז של: (A) 100,000 µg/L; (B) 10,000 µg/L; (C) 1,000 µg/L; (D) ללא תוספת CBZ (צמחי ביקורת).

השפעת סוג הקרקע: על מנת לבחון את מידת הקליטה של CBZ כתלות בתכונות הקרקע, צמחי מלפפון (זן סאפי) גודלו במשך כ- 10 שבועות בשלוש קרקעות בעלות תכולת חומר אורגני שונה ($1.19 \pm 0.08\%$) בקרקע לס, $6.47 \pm 0.31\%$ בקרקע יער ו- $32.55 \pm 0.62\%$ במצע האורגני. הצמחים הושקו במים שפירים בתוספת או ללא תוספת (ביקורת) CBZ בריכוז של $25 \mu\text{g/L}$. בניסוי הנוכחי היו ריכוזי CBZ בתמיסת הקרקע היו 13.98 ± 0.42 , 2.73 ± 0.29 ו- 0.57 ± 0.06 עבור הקרקע החולית, החרסיתית ובמצע האורגני, בהתאמה. ריכוזי CBZ בתמיסת הקרקע היו במתאם שלילי עם תכולת החומר האורגני בקרקע. ניתן להסיק שהעלייה בכמות החומר האורגני בקרקע הגבירה את ספיחת ה-CBZ לקרקע, ובשל כך הקטינה את זמינותו לצמח. תוצאות אלו תואמות לממצאי עבודתם של Chefetz וחוב' (3) שדיווחו על עיכוב משמעותי בתנועת CBZ ב-5 ס"מ העליונים של הקרקע שהיו עשירים בחומר אורגני. בעבודתם נמצא כי העיכוב בתנועת CBZ בעמודת הקרקע הלך ופחת בהתאמה לירידה בתכולת הפחמן האורגני בקרקע.

טבלה 3. ריכוזי carbamazepine (CBZ) (ממוצע \pm סטית תקן, 5 חזרות) בצמחי מלפפון שגודלו בקרקע לס, יער ובמצע אורגני והושקו במי ברז בתוספת CBZ בריכוז $25 \mu\text{g/L}$.

פירות	עלים	מוהל הקסילים	תמיסת הקרקע	תמיסת ההשקיה	מצע הגידול
-- $\mu\text{g/kg biomass}$ --			$\mu\text{g/L}$ -----		
25.6 ± 3.1	not detected	23.0 ± 3.9	13.98 ± 0.42	25	קרקע לס (חולית)
17.1 ± 1.2	not detected	17.1 ± 1.0	2.73 ± 0.3	25	קרקע יער (חרסיתית)
6.4 ± 0.8	287.1 ± 77.5	19.8 ± 6.7	0.57 ± 0.06	25	מצע אורגני

בניסוי זה לא הייתה השפעה לתוספת CBZ על התפתחות הצמח בקרקעות השונות (חולית, חרסיתית ומצע אורגני). משקלי העלים בקרקע החולית והחרסיתית היו דומים, משקלי העלים של הצמחים שגודלו בקרקע החולית והחרסיתית בתוספת CBZ היו 73.83 ± 39.41 (g) ו- 78.7 ± 32.02 , בהתאמה. משקלי צמחי הביקורת בקרקעות אלו היו 89.96 ± 23.65 (g) ו- 94.25 ± 29.33 , בהתאמה. הצמחים שגודלו במצע האורגני היו גדולים יותר ביחס לצמחים שגודלו בקרקע החולית והחרסיתית. משקלי העלים בצמחים שגודלו בתוספת CBZ היה 318.48 ± 32.39 (g) ומשקל העלים של צמחי הביקורת היה 293.75 ± 44.12 (g). תכולת חומר אורגני גבוה בקרקע, תורמת לשיפור התכונות הכימיות פיזיקליות של הקרקע כגון, אוורור ונקבוביות, וזוהי הסיבה להתפתחות צמחים בעלי עלים גדולים יותר במצע האורגני.

בניסוי זה בדקנו את מידת הקליטה וההצטברות של CBZ בפירות ובעלווה של צמחים שגודלו במצע האורגני. לא נמצא הבדל סטטיסטי מובהק בריכוזי ה-CBZ בין סוגי העלים השונים. בממוצע ריכוזי CBZ בכל העלים בצמח היה 287.1 ± 77.5 ($\mu\text{g/kg}$). כמות CBZ בעלים ($\mu\text{g/plant}$) הייתה 43.04 ± 31.47 , 24.17 ± 10.74 ו- 23.7 ± 3.33 בעלים הבוגרים, בינוניים והצעירים, בהתאמה. על פי ריכוזי CBZ בעלים

בשלוש הקומות ועל סמך ההנחה שכול קומה מייצגת שליש ממסת העלים בצמח חושבה הכמות הכללית הנמצאת בעלים. במוצע כמות CBZ בכל העלים בצמח הייתה 92.7 ± 38.5 ($\mu\text{g/plant}$). עבור הצמחים שגודלו במצע האורגני, ריכוז CBZ הזמין לצמח בבית השורשים היה 0.57 ± 0.06 $\mu\text{g/L}$. בהתבסס על ערכים אלו, חושב פקטור הצטברות CBZ בעלים על פי היחס בין ריכוז CBZ בעלים לבין ריכוזו הזמין לצמח בבית השורשים. פקטורי ההצטברות בעלים הבוגרים, בינוניים וצעירים היו 508 ± 303.7 , 387.4 ± 107.9 ו- 615.8 ± 12.7 , בהתאמה. ממוצע פקטור הצטברות CBZ בכל העלים בצמח היה 503.7 ± 189.2 , במצע האורגני. בניסוי הידרופוניקה, התקבל ערך פקטור הצטברות ממוצע בעלים (בוגרים וצעירים) קטן בהרבה – 14.1. פקטור ההצטברות הגדול באופן מובהק שהתקבל בניסוי העציצים קשור כנראה לתקופת הגידול הארוכה יותר בניסוי חממה (60~ ימים לעומת 22 ימים בניסוי הידרופוניקה) ולהבדלים בתנאי הגידול כגון, עוצמת קרינה וטמפרטורה גבוהות יותר ולחות יחסית קטנה יותר בחממה בהשוואה לניסוי ההידרופוניקה. כתוצאה מכך, בניסוי חממה היו עלים גדולים יותר וקצב הטרנספירציה היה גדול יותר. פקטורי ההצטברות של CBZ בעלים של צמחי המלפפון שחושבו בעבודתנו היו גבוהים יותר מהערכים שדווחו בספרות עבור קליטת CBZ על ידי צמחי שיפון (4) ועל ידי צמחי כרוב (5). פקטורי ההצטברות בעבודתנו גבוהים גם מהערכים שדווחו עבור קליטת תרופות וטרינריות על ידי צמחי חסה (6). אולם, חשוב לציין שחישובנו מבוסס על בדיקה ישירה של ריכוז CBZ הזמין בתמיסת הקרקע לקליטה על ידי השורשים בעוד, שבעבודות אחרות פקטור זה מתבסס על סך כמות CBZ שיושמה בניסוי או בהתבסס על הנחות וחישובים. בנוסף לכך, פקטור ההצטברות מושפע באופן מובהק מהתכונות הכימיות-פיזיקליות של החומר הנבדק, מאופן יישומו לצמחים (עם מי ההשקיה או ביישום חד פעמי) ואף מתכונות צמחי הבוחן בעבודות השונות.

ריכוזי CBZ בפירות המלפפונים נבדקו עבור שלושת קרקעות הניסוי. הריכוזים עבור משקל פרי טרי 25.6 ± 3.1 , 17.1 ± 1.2 ו- 6.4 ± 0.8 $\mu\text{g/kg}$ היו עבור קרקע לס, יער והמצע האורגני, בהתאמה. כמות CBZ בפירות ($\mu\text{g/plant}$) הייתה, 4.32 ± 2.3 , 4.17 ± 0.7 ו- 7.34 ± 0.63 , בהתאמה. פקטורי הצטברות עבור CBZ בפירות המלפפון שחושבו על פי היחס בין, ריכוז CBZ בפירות לבין, ריכוזו הזמין לצמח בבית השורשים היו: 1.8 ± 0.2 , 6.3 ± 0.4 ו- 11.3 ± 1.3 עבור קרקע לס, יער והמצע האורגני, בהתאמה. ערכי הפקטור הנ"ל נמצאים בטווח ערכים יחסית צר, לפיכך אנו מניחים שמנגנוני הקליטה (קליטה פאסיבית עם זרם הטרנספירציה) היו זהים בכל קרקעות הניסוי ולכן, הכמות שנקלטה על ידי הצמח נשלטה בעיקר על ידי כמות CBZ הזמין בתמיסת הקרקע בהתאם לתכולת החומר האורגני בקרקע.

בהתבסס על ערכים אלו, חושב הריכוז הצפוי בתמיסת הקרקע על פי היחס בין, ריכוז CBZ בפירות לבין, פקטור ההצטברות בפרי. הריכוז הצפוי בתמיסת הקרקע הינו 14.2 , 2.7 ו- 0.57 $\mu\text{g/L}$ בקרקע לס, יער ובמצע האורגני, בהתאמה. סך נפח ההשקיה במוצע במהלך תקופת הגידול (במי ברז בתוספת carbamazepine בריכוז של 25 $\mu\text{g/L}$) היה 14.58 ליטר לעציץ עבור הצמחים שגודלו בקרקעות לס ויער ו- 29.92 ליטר לעציץ במצע האורגני. בהתבסס על ערכים אלו, חושב אחוז החומר שנקלט על ידי הצמח מתוך הכמות הכללית שניתנה במי ההשקיה. נמצא כי כמות החומר בפירות בצמחי המלפפון שגודלו בקרקעות לס, יער ובמצע האורגני היוו: 1.18% , 1.14% ו- 0.98% , בהתאמה, מסך הכמות שיושמה. סך הכמות שהצטברה בעלים במצע האורגני הייתה 12.4% מסך החומר שיישום, וסך הכמות שהצטברה בעלים

ובפירות ביחד בצמחים שגודלו במצע האורגני, היוותה 13.38% מהכמות הכללית שניתנה במי ההשקיה. בהסתמך על הערכים הדומים שהתקבלו בפירות המלפפון בקרקעות הניסוי השונות ניתן להסיק שהכמות שנקלטה על ידי הצמח נשלטת בעיקר על ידי כמות CBZ הזמין בתמיסת הקרקע ולא מהכמות הכללית שניתנה במי ההשקיה. כמו כן, ניתן להסיק ש-CBZ נקלט ומצטבר בעיקר בעלים ולא בפירות המלפפון. עבור המצע האורגני, פקטור ההצטברות שחושב עבור העלים היה גדול פי 40 בערך מהערך שחושב עבור הפירות. נתון זה מחזק את השערתנו שהחומר נע בצמח באופן פאסיבי עם זרם הטרנספירציה מאחר וקצב הטרנספירציה בפירות הינו קטן בהרבה ולכן CBZ מתרכז בעלים. ממצא מעניין נוסף הינו שריכוזו של CBZ שנמצא בפירות (משקל ממוצע 109 g) שהתפתחו בשלבים המוקדמים של תקופת הגידול היה נמוך מהריכוז שנמצא בפירות שהתפתחו בשלבים מאוחרים יותר (משקל ממוצע 116 g). ריכוז CBZ היה 4.11 ± 0.88 ו- 8.74 ± 0.87 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) (עבור משקל פרי טרי) עבור פירות שנקצרו בתקופה של 3 שבועות בערך. אנו משערים שהריכוז הגבוה יותר שנמצא בפירות שהתפתחו בשלב מאוחר יותר של עונת הגידול קשור לעלייה בריכוז ה-CBZ הזמין בתמיסת הקרקע. זה כנראה בגלל ירידה ביכולת הספיחה של הקרקע ועלייה בקצב הטרנספירציה. שני מנגנונים אלו גורמים לעלייה בריכוזו של CBZ הזמין בתמיסת הקרקע, לקליטה על ידי הצמח. ריכוזי CBZ במוהל הקסילים היו: 23.0 ± 3.9 , 17.1 ± 1.0 ו- 19.8 ± 6.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ בצמחים שגודלו בקרקע לס, יער ומצע אורגני, בהתאמה בזמן שריכוזו בתמיסות ההשקיה היה 0.25 $\mu\text{g}/\text{L}$. תוצאות ניסוי זה מחזקות את השערתנו ש-CBZ נע עם זרם הטרנספירציה בצינורות העצה.

השפעת איכות מי ההשקיה: צמחי מלפפון (זן פולרי) גודלו בקרקע לס והושקו במי ברז או בקולחים בתוספת או ללא תוספת CBZ בריכוז של 1 $\mu\text{g}/\text{L}$. בניסוי זה השתמשנו בריכוז CBZ האופייני בשפכים ובקולחים, ושכיח במי תהום מזוהמים (2,3, 7-9). ריכוז CBZ בקולחים בהם השתמשנו בניסוי זה (ומשמים גם להשקיית גידולים חקלאיים, ובעיקר לתירס וכותנה) היה 3.47 ± 1.88 $\mu\text{g}/\text{L}$. כתוצאה מיכולת הרחקה נמוכה שלו במתקן לטיפול בשפכים, CBZ הינו חומר נפוץ מאוד בקולחים (10-13) לפיכך, שימוש בקולחים להשקיית שדות חקלאיים או הזרמת קולחים לנחלים מאפשרים כניסה של CBZ לסביבה. אנו בחנו השפעות אלו בניסוי זה.

ריכוזי CBZ באברי המלפפון (שורשים, גבעולים, עלים ופירות) מוצגים בטבלה 4. ריכוזי CBZ בצמחים שהושקו בקולחים בתוספת CBZ היו הגבוהים ביותר ביחס לשאר הטיפולים. חשוב לציין ש-CBZ לא זוהה בפירות או/ו במוהל הקסילים של המלפפונים שהושקו במי ברז ללא תוספת CBZ (להלן צמחי הביקורת). CBZ זוהה בכמות שאריתי בשורשים ובעלים, אולם כמות זו הייתה מתחת לסף הכימות וככל הנראה נבעה משימוש בכלים מזוהמים.

טבלה 4. ריכוז carbamazepine (CBZ) (ממוצע \pm סטיות תקן 5 חזרות) בצמחי מלפפון שגודלו בקרקע לס.

פירות	שורשים	גבעולים	עלים	מוהל הקסילים	תמיסת הקרקע	תמיסת ההשקיה	סוג המים
----- $\mu\text{g/kg biomass}$ -----				----- $\mu\text{g/L}$ -----			
1.3 ± 0.3	3.5 ± 1.7	1.4 ± 0.5	18.5 ± 1.7	0.33 ± 0.66	1.04 ± 0.07	1.16	מי ברז בתוספת CBZ
1.0 ± 0.3	2.0 ± 0.4	1.1 ± 0.2	20.4 ± 2.8	0.52 ± 0.40	1.19 ± 0.12	3.47 ± 1.88	קולחים
2.1 ± 0.5	4.5 ± 2.1	1.9 ± 0.4	39.1 ± 5.0	1.34 ± 0.85	1.96 ± 0.02	4.62 ± 1.88	קולחים בתוספת CBZ

בדומה להבחנה בניסוי הידרופוניקה, ריכוז ה-CBZ בשורשים ובגבעולים היו קטנים באופן יחסי. רוב ה-CBZ התרכז בעלים. מגמה זו בולטת יותר כאשר מידת הקליטה מחושבת עבור המסה הכללית של אברי הצמח השונים שנבדקו. כמות CBZ בעלים (μg) הייתה, 1.21 ± 0.15 , 1.23 ± 0.1 ו- 2.28 ± 0.33 בצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. כמות CBZ (μg) בפירות הייתה, 0.15 ± 0.03 , 0.27 ± 0.09 ו- 0.65 ± 0.1 בצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. בכל ארבעת הטיפולים, סך כמות CBZ שנקלטה בעלים היוותה 76-84% מסך הכמות שנקלטה בצמח. כמות CBZ שנקלטה בשורשים ובגבעולים הייתה בטווח של 1-3%, וסך הכמות שנקלטה בפירות היוותה 11, 18 ו-22% מסך הכמות שנקלטה בצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. ריכוז CBZ בפירות ($\mu\text{g/kg}$) היה דומה לריכוז הזמין לצמח בתמיסת הקרקע ($\mu\text{g/L}$), בהתאם לארבעת הטיפולים. מתאם זה נצפה גם כאשר קרקע הלס הושקתה במי ברז בתוספת CBZ בריכוז של $25 \mu\text{g/L}$.

ריכוזי CBZ בתמיסות ההשקיה ($\mu\text{g/L}$) היו: 1.16, 3.47 ± 1.88 ו- 4.62 ± 1.88 במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה, וריכוזו במוהל הקסילים ($\mu\text{g/L}$) היה: 0.33 ± 0.66 , 0.52 ± 0.4 ו- 1.34 ± 0.85 , בהתאמה. הריכוזים שצוינו להלן הינם נמוכים מהריכוזים שישומו עם תמיסות ההשקיה או הזמינים לצמח בתמיסות הקרקע. בהתבסס על ניסויי ההידרופוניקה, ציפינו לקבל תוצאות דומות. לפיכך, תוצאות אלו עשויות להצביע על דיסקרימינציה מסוימת במהלך קליטתו של CBZ מתמיסת הקרקע. ריכוזי CBZ בעלים ($\mu\text{g/kg}$), בהתבסס על משקל טרי היו 18.5 ± 1.7 , 20.4 ± 2.8 ו- 39.1 ± 5.0 עבור הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. התקבלו ריכוזים דומים בעלים של הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ ובקולחים ללא תוספת CBZ. מתוצאות אלו ניתן להסיק שריכוז CBZ הזמין לצמח בתמיסת הקרקע היה זהה עבור שני הטיפולים הנ"ל. במהלך תקופת הגידול, הצמחים הושקו בממוצע ב- 9.32 , 8.5 ו- 9.17 מי ברז בתוספת CBZ, קולחים, וקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. מתוך כמות ה-CBZ הכללית שניתנה במי ההשקיה, סך הכמות שנקלטה על ידי הצמח היוותה $13.7 \pm 0.9\%$, $4.9 \pm 0.4\%$ ו- $6.8 \pm 0.7\%$ בצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. במבחן סטטיסטי נמצא כי הערכים הללו שונים

באופן מובהק. על סמך תוצאות הקליטה השונות שהתקבלו עבור הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ ובקולחים ללא תוספת CBZ, ניתן להסיק שחל עיכוב בקליטתו של CBZ מתמיסת הקרקע בקרקעות שהושקו בקולחים. אינטראקציות ספיחה של CBZ אל החומר האורגני המסיס (ה-DOM) המצוי בקולחים עשויות לגרום להגדלת המוביליות שלו או לקיבועו לקרקע. כאשר ה-DOM והמזהם הספוח עליו נספחים למנרלי הקרקע הדבר מוביל לקיבוע המזהמים אל פני השטח ולפיכך, להקטנה בזמינותו לקליטה על ידי הצמח. תופעה זו תתעצם עם הגדלת תכולת הפחמן האורגני בפני הקרקע (3, 14). בניגוד למנגנון הקיבוע הנ"ל, הוספת DOM לקרקע יכולה להוביל להסעה מוגברת של מזהמים אורגניים לתת הקרקע ומשם למי התהום. ההסעה המוגברת יכולה להיות תוצאה של יצירת קומפלקסים יציבים של המזהם עם ה-DOM בתמיסה והגדלת מסיסותו היחסית (15). בעבודה הנוכחית נמצא שבנוכחות ה-DOM המצוי בקולחים חל עיכוב בקליטתו של CBZ על ידי הצמח. באופן דומה, Maoz ו-Chefetz (16) דיווחו על ספיחה של CBZ ל-DOM שהופק מבוצת שפכים. החוקרים דיווחו שהמקטעים ההידרופוביים החומציים והנטראלים (HoA ו-HoN, בהתאמה) שימשו סופחים טובים יותר ל-CBZ, בהשוואה למקטעים ההידרופיליים בשני ערכי ההגבה 4 ו-8. Chefetz וחוב' (3) בדקו את השפעת איכות מי ההשקיה (מי ברז לעומת קולחים) על התנועה והספיחה של CBZ לשלוש דוגמאות קרקע מאופקים שונים (0-5, 5-15 ו-15-25 ס"מ) בעלי תכולת פחמן אורגני שונה (8.13%, 0.94% ו-0.4%, בהתאמה), באמצעות ניסויי עמודות וניסויי Batch. הספיחה הגבוהה ביותר התקבלה באופק העליון (0-5 ס"מ) העשיר בחומר אורגני (8.13%), ללא תלות באיכות מי ההשקיה. תנועת CBZ בקרקעות עלתה ככל שתכולת החומר האורגני בקרקעות ירדה. לעומת זאת בקרקע בעלת תכולת החומר האורגני הנמוך (15-25 ס"מ) התקבלה ירידה בספיחה בניסוי עם תמיסת הקולחים לעומת מי הברז. החוקרים הסבירו זאת בתחרות בין ה-CBZ ל-DOM המצוי בקולחים על אתרי ספיחה בחומר האורגני. כאשר כמות החומר האורגני בקרקע עולה או כאשר ריכוז ה-CBZ בתמיסה עולה התחרות עם ה-DOM פחות מבוטאת ולכן גם בקולחים וגם במי ברז תנועתו מעוכבת באופן דומה.

ריכוז CBZ בתמיסות הקרקע בתחילת הניסוי היה 0.71 ± 0.03 ($\mu\text{g/L}$). בסוף הניסוי (לאחר השקיית הקרקעות ב-9 L בממוצע בהתאם לארבעת הטיפולים השונים), ריכוזי CBZ בתמיסות הקרקע היו ($\mu\text{g/L}$) 1.04 ± 0.07 , 1.19 ± 0.12 ו- 1.96 ± 0.02 עבור הקרקעות שהושקו במהלך הניסוי במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ (טבלה 4). אנו משערים שהריכוזים הגבוהים יותר שהתקבלו ממיצוי הקרקעות מסוף הניסוי נובעים בעיקר מירידה ביכולת הספיחה של הקרקע ועלייה בקצב הטרנספירציה. שני מנגנונים אלו גורמים לעלייה בריכוזו של CBZ הזמין בתמיסת הקרקע ולפיכך לקליטה על ידי הצמח. נתונים אלו מחזקים את ממצאינו עבור ריכוז CBZ גבוה יותר בפירות שהתפתחו לקראת השלבים המאוחרים של עונת הגידול לעומת, פירות שהתפתחו בשלבים מוקדמים בעונה בצמחים שגודלו במצע אורגני.

ריכוזי CBZ בפירות המלפפונים, עבור משקל פרי רטוב ($\mu\text{g/kg}$) היו: 1.3 ± 0.3 , 1.0 ± 0.3 ו- 2.1 ± 0.5 עבור הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. פקטורי ההצטברות בפרי היו: 1.2 ± 0.3 , 0.9 ± 0.3 ו- 1.1 ± 0.2 , בהתאמה. ערכים אלו דומים לערכים שחושבו עבור

צמחי המלפפון שגודלו בקרקע לס שהושקתה במי ברז בתוספת CBZ בריכוז של $25 \mu\text{g/L}$. זה מרמז על כך שהקליטה הפוטנציאלית של CBZ על ידי הצמח, מושפעת בעיקר מריכוזו הזמין בתמיסות הקרקע ולא מהריכוז המיושם עם תמיסות ההשקיה.

פקטורי ההצטברות שחושבו עבור העלים היו: 17.8 ± 1.6 , 17.2 ± 2.3 ו- 20.0 ± 2.6 עבור הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ, בהתאמה. בדומה למגמה שנצפתה עבור הצמחים שגודלו במצע האורגני, ערכי פקטורי ההצטברות בעלים גבוהים יותר מהערכים שחושבו עבור הפירות. בהתבסס על ריכוזי CBZ ופקטורי ההצטברות שחושבו עבור העלים והפירות, חושב הריכוז הצפוי בתמיסת הקרקע. עבור הצמחים שהושקו במי ברז בתוספת CBZ, בקולחים ובקולחים בתוספת CBZ הריכוזים הצפויים בתמיסת הינם 1.04 , 1.1 ו- 1.9 , בהתאמה. ערכים אלו נמצאים בהתאמה לריכוזי CBZ בתמיסת הקרקע המוצגים בטבלה 4.

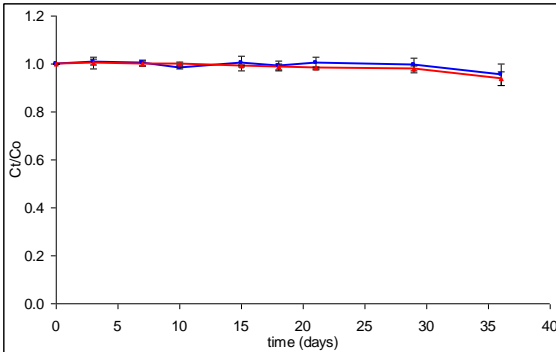
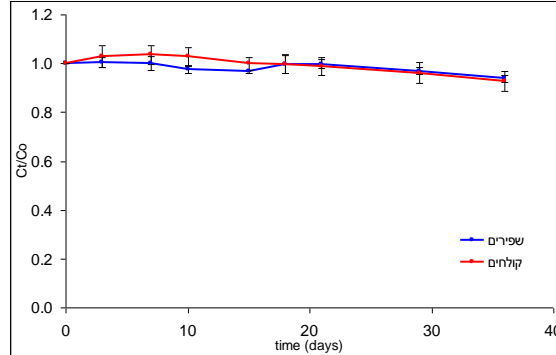
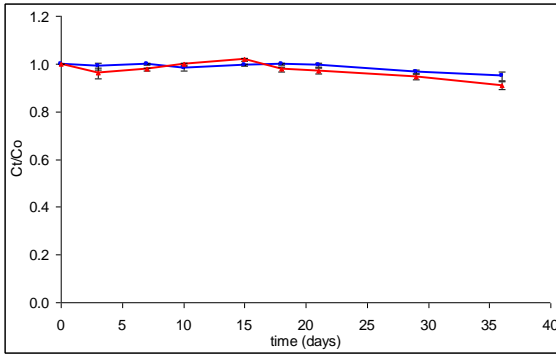
פירוק חומרים רפואיים בקרקע:

בחלק זה של המחקר בדקנו את תהליכי הפירוק של החומרים הרפואיים diclofenac, carbamazepine, naproxen ו- gemfibrozil בקרקע ובתרחיפי קרקע. מטרת הניסויים הייתה לבחון האם פירוק מואץ מתקיים בקרקעות מושקות בקולחים בהשוואה לאותן קרקעות המושקות במים שפירים. כמו כן הוכנו ניסויי ביקורת של הקרקעות (קולחים ושפירים) מעוקרות. בעבודה זו נעשה שימוש בקרקעות מעכו בצרה וערד (תכונות הקרקעות מפורטות בטבלה 5). בניסויים עם הקרקעות המעוקרות נצפתה ירידה קלה בריכוז החומרים. ירידה זו נובעת להערכתנו מספיחה של החומרים לקרקע ו/או מתהליכים אביוטיים אחרים.

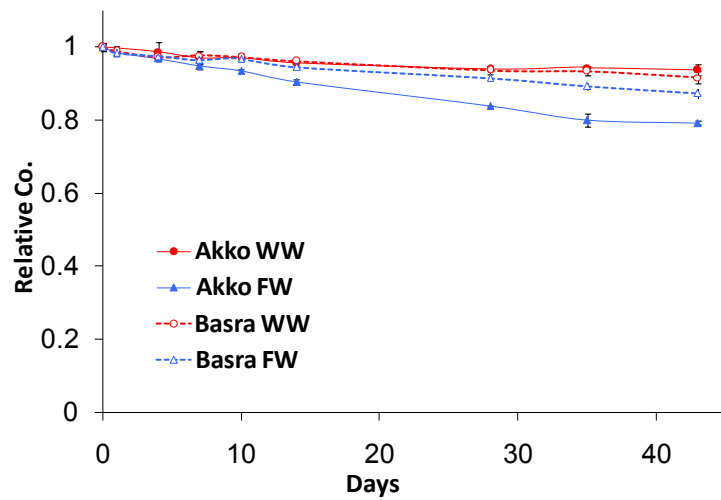
טבלה 5. אפיון הקרקעות בהן נעשה שימוש בניסויים.

גיר כללי (%)	pH	חומר אורגני (%)	מרקם	חול (%)	סילט (%)	חרסית (%)	עומק דיגום (ס"מ)	השקיה	
3.2	6.6	5.5	חרסית	18.4	25.2	56.4	0-10	קולחים	עכו
3.2	7.4	2.2	חרסית	22.4	25.2	52.4	0-10	שפירים	עכו
20.3	8.1	1.9	סיין סילטי	22.4	50.8	26.8	0-10	קולחים	לס ערד
13.8	7.8	2.3	סיין	30.4	42.8	26.8	0-10	שפירים	לס ערד
4.1	7.6	3.7	סיין סילטי	26.4	53.2	20.4	0-10	קולחים	בצרה
2.4	7.5	2.9	סיין חולי	82.4	5.2	12.4	0-10	שפירים	בצרה

מאיוור 3 ניתן לראות בברור כי התרופה carbamazepine אינה מתפרקת בתנאי הניסוי בתרחיפי הקרקע. ריכוז החומר היה יציב ולא השתנה גם כאשר הניסוי נמשך מעבר ל- 40 יום ו/או כאשר ריכוזו ההתחלתי היה נמוך יותר (1 ו- 0.1 ח"מ; נתונים לא מוצגים). התנהגותו זו של ה- carbamazepine דומה למדווח בספרות בנוגע לדרגת פריקותו הנמוכה של החומר במתקני טיפול בשפכים. במתקנים אלו אחוז הרחקתו של החומר עומד על פחות מ- 10%. יציבותו הרבה של ה- carbamazepine בקרקע היא זו שהביאה אותנו להתמקד בחומר זה ולבחון את פוטנציאל קליטתו על ידי צמחים. חשוב לציין כי יציבותו של ה- carbamazepine לא הייתה תלויה סוג ההשקיה ו/או תכונות הקרקע. כמו כן גם בניסויים בהם עבר החומר אינקובציה בקרקע (ששת הקרקעות הנבדקות) ריכוזו לא ירד מעבר לירידה שנגרמה עקב ספיחה (איור 4).



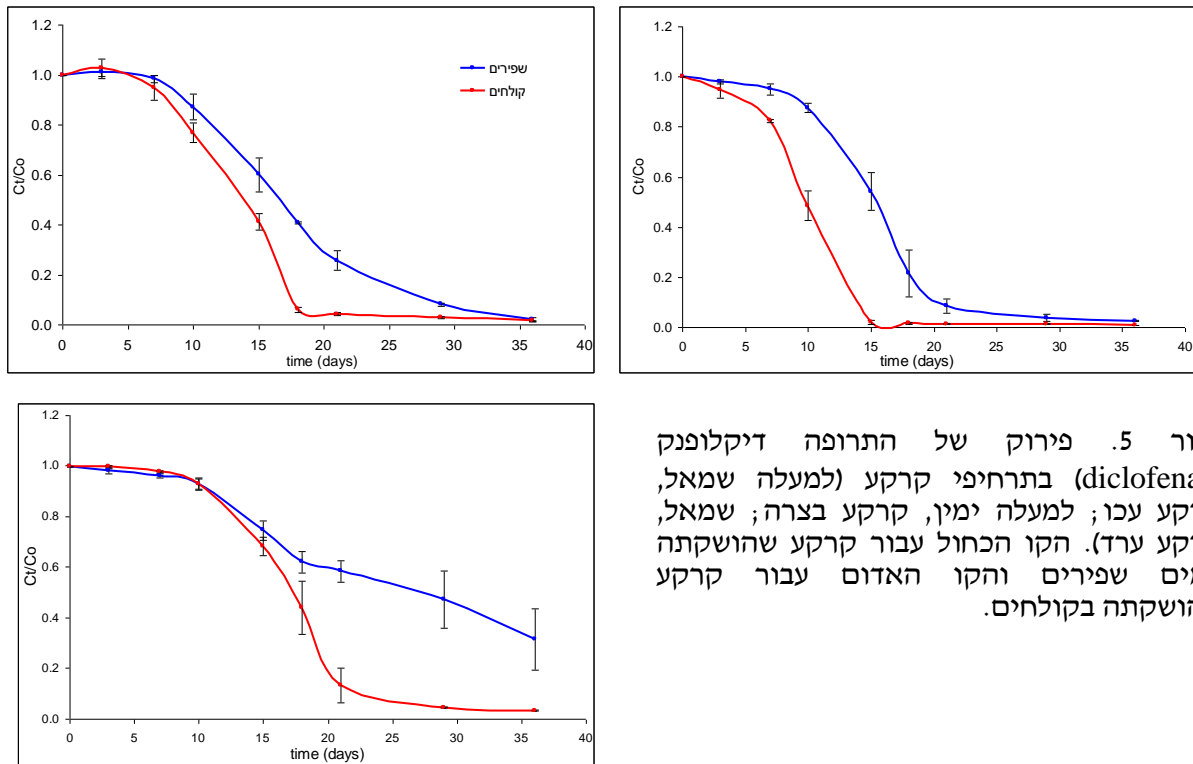
איור 3. פירוק של התרופה קרבמזפין (carbamazepine) בתרחיפי קרקע (למעלה שמאל, קרקע עכו; למעלה ימין, קרקע בצרה; שמאל, קרקע ערד). הקו הכחול עבור קרקע שהושקתה במים שפירים והקו האדום עבור קרקע שהושקתה בקולחים.



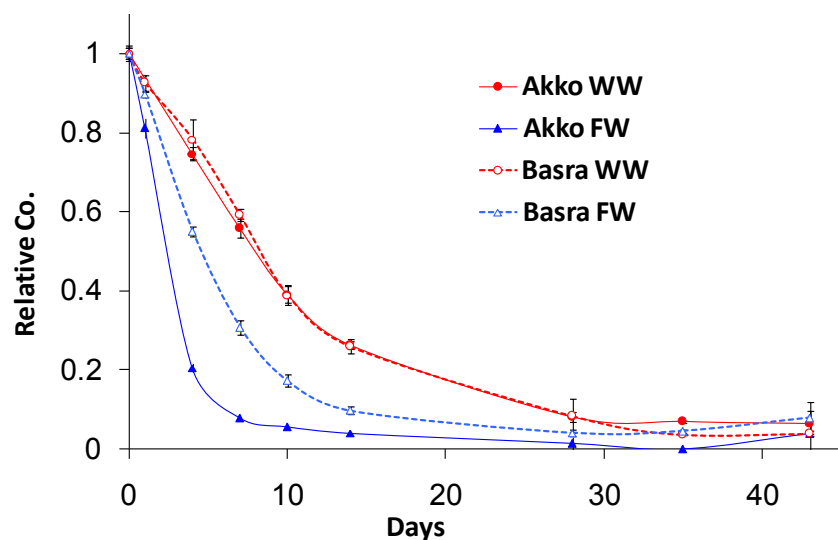
איור 4. השתנות ריכוז קרבמזפין בזמן אינקובציה בקרקעות בצרה ועכו.

ה- diclofenac (וולטרן) התפרק במהלך הניסוי (תרחיפי קרקע) וזאת בהשוואה לריכוזו בקרקעות המעוקרות (נתונים לא מופיעים). יתרה מכך, עבור ה- diclofenac ניתן לראות הבדלים בולטים בקצב הפירוק בין הקרקעות שהושקו בקולחים לעומת אלו שהושקו בשפירים (איור 5). בכל שלושת טיפוסי הקרקעות שנבחנו, קצב הפירוק בקרקעות שהושקו מספר שנים בקולחים היה גבוה מזה של הקרקעות

שהושקו בשפירים. בניסויים מגבילים שנערכו בקרקעות עצמן ולא בתחריפי קרקע התקבלה תמונה דומה לגבי קצב הפירוק של החומר אבל הקצב בקרקעות המושקות בשפירים היה גבוה מזה של הקולחים (איור 6). מגמה זו הפוכה למגמה שנצפתה בתחריפי הקרקע. אנו מערכים כי התופעה נובעת משינויים באוכלוסיה המיקרוביאלית מזמן הדיגום ועד מועד עריכת הניסוי וכן מהאופן שבו הקרקע נשמרה וטופלה. כתוצאה ממסקנה זו אנו עורכים ניסויים נוספים בנושא כאשר הניסוי מתחיל מידי עם דיגום הקרקע.



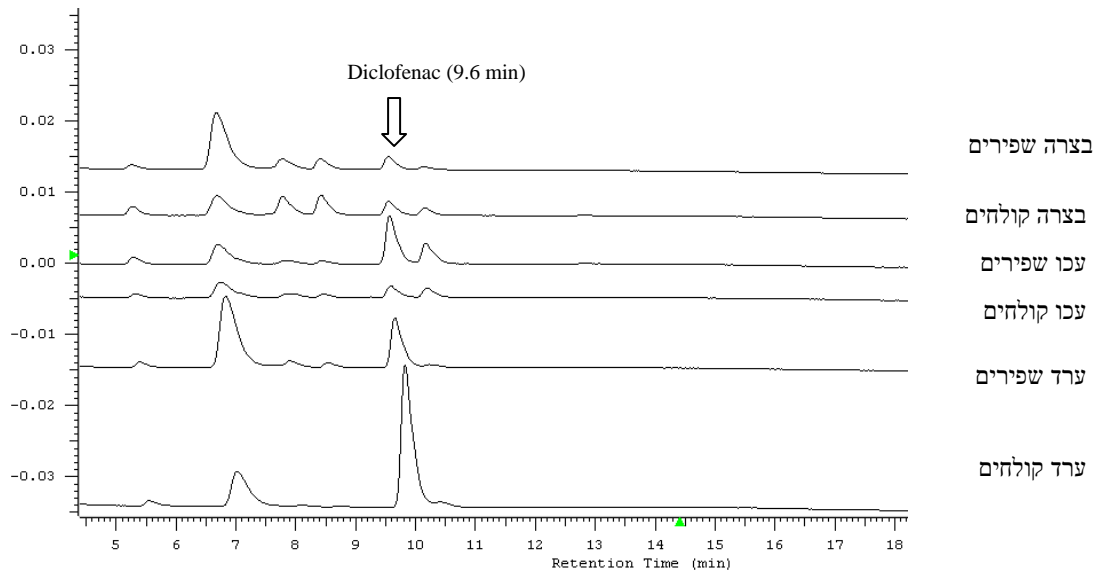
איור 5. פירוק של התרופה דיקלופנאק (diclofenac) בתחריפי קרקע (למעלה שמאל, קרקע עכו; למעלה ימין, קרקע בצרה; שמאל, קרקע ערד). הקו הכחול עבור קרקע שהושקתה במים שפירים והקו האדום עבור קרקע שהושקתה בקולחים.



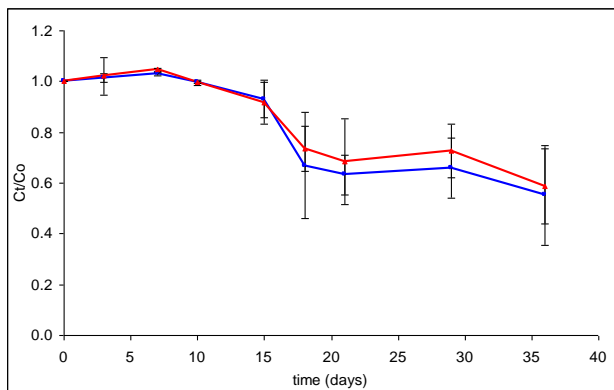
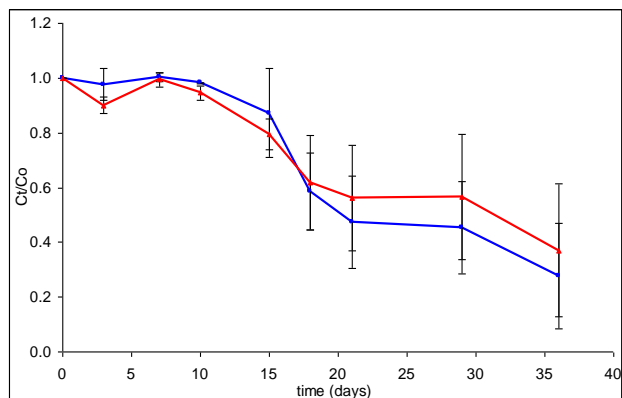
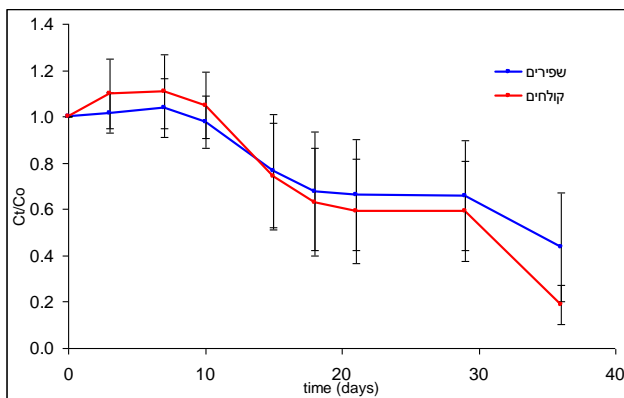
איור 6. השתנות ריכוז הדיקלופנאק בזמן אינקובציה בקרקע.

בניסויים עם ה-diclofenac נצפו שיאים חדשים בכרומטוגרמה של ה-HPLC. נתונים אלו מופיעים באיור 7. המטבוליט הראשי הידוע של diclofenac הוא 4-hydroxydiclofenac. כ- 30-50% מהמנה שנצרכת

מופרשים כמטבוליט זה (17). השיאים שהתקבלו היו דומים בשני טיפוסים הקרקעות (קולחים ושפירים), דבר זה מצביע כנראה על מנגנון פירוק דומה. אולם, עד שלא יבדקו המטבוליטים וזוהו כימית לא נוכל להסיק מסקנות בנדון. נתון זה של זיהוי מטבוליטים הינו חשוב בפני עצמו מכיוון שלאחרונה פורסם ש-Diclofenac מתפרק בקרקע ועובר מינרליזציה מלאה למים ופחמן דו-חמצני. תוצאות הפרויקט הזה מצביעות כי בקרקעות חקלאיות אין מינרליזציה מלאה של החומר וכי בקרקע צפויים להימצא תוצרי הטרנספורמציה של החומר.

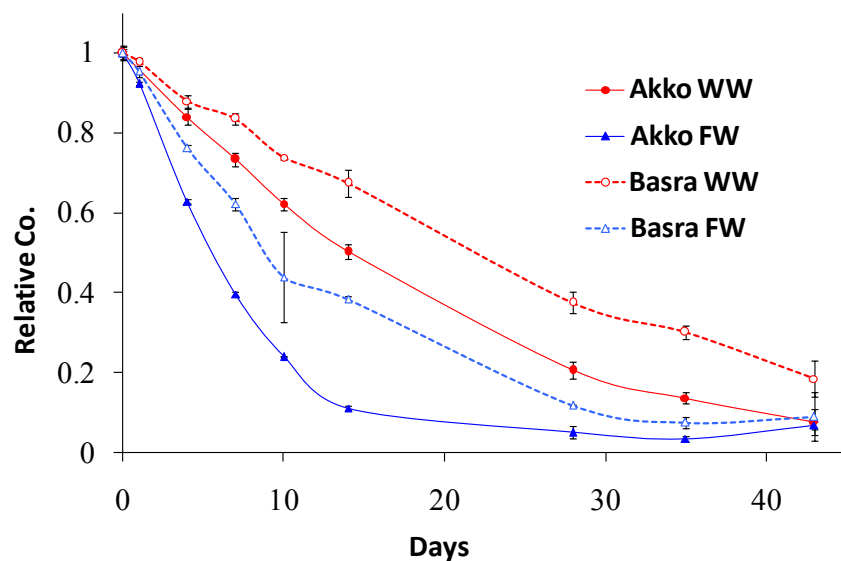


איור 7. כרומטוגרמת HPLC לזיהוי diclofenac ותוצרי פירוק שלו לאחר 20 ימי טלטול בתרחיף קרקע.



איור 8. פירוק של התרופה gemfibrozil בתרחיפי קרקע (למעלה שמאל, קרקע עכו; למעלה ימין, קרקע בצרה; שמאל, קרקע ערד). הקו הכחול עבור קרקע שהושקתה במים שפירים והקו האדום עבור קרקע שהושקתה בקולחים.

לגבי החומר gemfibrozil (איור 8) נראה כי הריכוז היחסי של החומר יורד עם הזמן ולא נצפו הבדלים מובהקים בין הקרקעות המושקות בשפירים לאלו המושקות בקולחים. התוצאות מתייחסות לניסוי התרחיפים בלבד). בסוף הניסוי ה-pH בתמיסה היה ~4.4. ערך זה נמוך מערך ה-pKa של החומר (4.15) ולכן על מנת לוודא כי החומר התפרק ולא שקע, הועלה ה-pH בתרחיף ל-9 וריכוז ה-gemfibrozil נבדק שוב לאחר 24 שעות. לאחר תהליך זה חזר ועלה ריכוז ה-gemfibrozil לערכו המקורי (ריכוז תחילי פחות ספיחה) ולכן אנו מסיקים כי הקטנת הריכוז נבעה משקיעה ו/או הגדלת ספיחת החומר בגלל ערכי ה-pH הנמוכים. לאור זאת הוחלט שלא להמשיך את הניסויים עם ה-gemfibrozil. בדיקה דומה של העלאת pH התרחיף נעשתה עם במקרה של ה-diclofenac אולם במקרה זה לא השתנה ריכוז החומר. לכן אנו מעריכים כי ה-diclofenac התפרק פיזיקלית במהלך הניסוי. הנפרוקסן גם הוא התפרק בקרקע (איור 9). גם במקרה זה הפירוק בקרקעות המושקות במים שפירים היה גבוה מזה של הקרקעות המושקות בקולחים. כפי שהוזכר קודם אנו מניחים כי ההבדלים נובעים מתהליכים (יבוש, כתישה, אחסון) שעברו הקרקעות עד מהלך הניסוי שיכול להיות שהשפיעו על מגוון והרכב האוכלוסיה המיקרוביאלית. לכן מסקנתנו היא שיש צורך להעמיד ניסויי הדגרה דומים מיד עם הדיגום מהשטח. בנוסף יכול להיות מאוד שקימת גם השפעה של מועד הדיגום על התוצאה – קרי הרכב האוכלוסיה המיקרוביאלית ויכולתה לפרק חומרים בקרקע. זאת מעבודתו של דר' מינץ ממרכז וולקני שמדווח כי הרכב האוכלוסייה המיקרוביאלית בקרקעות מושקות בקולחים משתנה בזמן עונת הגידול כתלות בגשם.



איור 9. השתנות ריכוז ה-naproxen (נפרוקסן) בקרקע.

סיכום ומסקנות

תוצאות העבודה מוכיחות ש CBZ יכול להיקלט על ידי צמחים ולהצטבר בחלקים אכילים (פירות). תוצאות אלו תואמות לממצאי עבודתם של Winker וחובי (4) שדיווחו על קליטת CBZ על ידי צמחי שיפון שגודלו בקרקע והושקו בשתן הומאני ולמצאי עבודתם של Herklotz וחובי (5) שדיווחו על קליטת CBZ

על ידי צמחי כרוב וחרדל בר. בניגוד לעבודות אלו, בעבודה הנוכחית נבדקה גם קליטה של CBZ שמקורו בקולחים עצמם. כמו כן, בעבודה הנוכחית נבדקה הקליטה מריכוזים סביבתיים שכוחים. מהתוצאות המתקבלות מניסוי העציצים בחממה, בו גודלו צמחי מלפפון בשלוש קרקעות בעלות תכולת חומר אורגני שונה, ניתן להסיק שהעלייה בכמות החומר האורגני בקרקע הגבירה את הספיחה של CBZ לקרקע ובשל כך הקטינה את זמינותו לקליטה על ידי הצמח. תוצאה זו מתאימה לאופיו הכימי של ה-CBZ שהינו בעל אופי הידרופובי חלש ($\log K_{ow} 2.45$) לא יוני ולכן צפוי להיקשר לחומר האורגני בקרקע. כתוצאה מכך, קליטתו על ידי צמחים הגדלים בקרקע בעלת תכולת חומר אורגני גבוהה, צפויה להיות נמוכה. לבחינת השפעת איכות מי ההשקיה על מידת הקליטה, נערך ניסוי עציצים נוסף בו גודלו צמחי מלפפון בקרקע לס והושקו במים שפירים או בקולחים, בתוספת או ללא תוספת CBZ. נצפה פחיתה מסוים בקליטתו של CBZ מתמיסת הקרקע בקרקעות שהושקו בקולחים. את העלייה בספיחה של CBZ לקרקע בנוכחות ה-DOM המצוי בקולחים והקטנת זמינותו לקליטה על ידי הצמח ניתן לייחס ליצירת קומפלקסים יציבים בין ה-DOM לבין ה-CBZ אשר מעלים את אפיניות הקישור שלו לקרקע (מנגנון co-sorption) ו/או ספיחת DOM לקרקע שיוצרת אתרי ספיחה נוספים הזמינים לקישור CBZ לקרקע (מנגנון cumulative sorption). לקראת סוף עונת הגידול, חלה עלייה בריכוז ה-CBZ בקרקע, ככל הנראה בשל ירידה ביכולת הספיחה של הקרקע, או בשל ריכוז תמיסת הקרקע עקב אווירציה מוגברת. שני המנגנונים עשויים להסביר את העלייה שהתקבלה בריכוז ה-CBZ בפירות שנקטפו מאוחר יותר.

תוצאות עבודתנו מוכיחות ש-CBZ, ואולי גם חומרים רפואיים אחרים, יכולים להיקלט על ידי צמחים המושקים בקולחים גם כאשר ריכוז החומרים נמוך מאד, כמו הריכוזים השכיחים בקולחים. מתוצאות עבודתנו עולה ש-CBZ הצטבר בעיקר בעלים ולא בפירות לפיכך, מתעורר הצורך לערוך ניסויים נוספים בהם תיבחן קליטת CBZ על ידי גידולים בהם החלק הנצרך למאכל אדם הוא העלים, כגון חסה וכרוב. כמו כן מתעורר הצורך לבחינת השפעת איכות הקולחים (שניוניים או שלישוניים) על הקליטה, בעיקר בתנאי שדה ואף את ההשפעה הסינרגטית של מספר חומרים רפואיים בסביבה היכולים להשפיע אחד על השני ולא רק של חומר בודד.

רשימת ספרות:

1. Kolpin, DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT. 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol.* 36:1202-11.
2. Heberer, T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data. *Toxicology Letters* 131:5-17.
3. Chefetz, B., T. Mualem, and J. Ben-Ari. 2008. Sorption and mobility of pharmaceutical compounds in soil irrigated with reclaimed wastewater. *Chemosphere* 73:1335-1343.
4. Winker, M., J. Clemens, M. Reich, H. Gulyas, and R. Otterpohl. 2010. Ryegrass uptake of carbamazepine and ibuprofen applied by urine fertilization. *Science of the Total Environment* 408:1902-1908.
5. Herklotz, P.A., P. Gurung, B.V. Heuvel, and C.A. Kinney. 2010. Uptake of human pharmaceuticals by plants grown under hydroponic conditions. *Chemosphere* 78:1416-1421.

6. Boxall, A.B.A., P. Johnson, E.J. Smith, C.J. Sinclair, E. Stutt, and L.S. Levy. 2006. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:2288-2297.
7. Clara, M., B. Strenn, and N. Kreuzinger. 2004a. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: Investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research* 38:947-954.
8. Miao, X.S., J.J. Yang, and C.D. Metcalfe. 2005. Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environmental Science and Technology* 39:7469-7475.
9. Tixier, C., H.P. Singer, S. Oellers, and S.R. Müller. 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibrac acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental Science and Technology* 37:1061-1068.
10. Andreozzi, R., M. Raffaele, and P. Nicklas. 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50:1319-1330.
11. Joss, A., E. Keller, A.C. Alder, A. Göbel, C.S. McArdell, T.A. Ternes, and H. Siegrist. 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research* 39:3139-3152.
12. Ternes, T.A. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 32:3245-3260.
13. Zhang, Y., S.U. Geißen, and C. Gal. 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73:1151-1161.
14. Seol, Y., and L.S. Lee. 2000. Effect of dissolved organic matter in treated effluents on sorption of atrazine and prometryn by soils. *Soil Science Society of America Journal* 64:1976-1983.
15. Williams, C.F., M. Agassi, J. Letey, W.J. Farmer, S.D. Nelson, and M. Ben-Hur. 2000. Facilitated transport of napropamide by dissolved organic matter through soil columns. *Soil Science Society of America Journal* 64:590-594.
16. Maoz, A., and B. Chefetz. 2010. Sorption of the pharmaceuticals carbamazepine and naproxen to dissolved organic matter: Role of structural fractions. *Water Research* 44:981-989.
17. Webster, R., M. Pacey, T. Winchester, P. Johnson and S. Jezequel. 1997. Microbial oxidative metabolism of diclofenac: production of 4'-hydroxydiclofenac using *Epiccocum nigrum* IMI354292. *Applied Microbiology and Biotechnology* 49:371-376.

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת בדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.
מטרות המחקר המרכזיות של פרויקט זה היו לבחון קליטה של חומרים רפואיים ע"י צמחים ולבחון את שרידותם בקרקע. לאחר מערך הניסויים הראשון החלטנו להתמקד בניסויי הקליטה בחומר הרפואי carbamazepine (CBZ) שהראה יציבות גדולה מאוד בקרקע.
עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.
בחלקה הראשון של העבודה חקרנו את הקליטה של החומר הרפואי היציב קרבמזפין (CBZ) על ידי צמחי מלפפון. הדבר נעשה בשלבים הבאים: 1) תמיסות מזון בתוספת CBZ בטווח רחב של ריכוזים לבחינת השפעות על הגידול, קליטה וחלוקה בין אברי הצמח; ו-2) ניסויי עציצים עם צמחי מלפפון לבחינת השפעת סוג הקרקע, והשפעת איכות מי ההשקיה על מידת הקליטה בריכוזים סביבתיים נפוצים של CBZ. בחלק השני של העבודה חקרנו את הפירוק הביזטי של מספר חומרים רפואיים בקרקע. העבודה בוצעה בקרקעות בתרחיפי קרקע. בשני המקרים ביצענו השוואה בין קרקעות שנחשפו לקולחים וקרקעות שהושקו במים שפירים.
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח.
קרבמזפין הינו חומר רפואי יציב מאוד בקרקע. הומר נקלט ומצטבר בצמחי מלפפון בעיקר בעלוה.
הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן. האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר.
עקב היציבות של הקרבמזפין הוחלט להתמקד בו בכל העבודה הקשורה לקליטה על ידי הצמח. העבודה הקשורה לקליטה הורחבה גם לבחינת השפעת איכות המים ונעשתה גם בריכוז "סביבתי" של החומר
האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח – יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים – יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון – יש לפרט מקום ותאריך.
הרצאות בנושא ניתנו במסגרות שונות: 6. יום עיון של הקרן לבריאות וסביבה בנושא "השפעת כימיקלים בסביבה על פוריות, הריון והתפתחות העובר" 7. דניאלה הרוש. 2010. קליטת carbamazepine על ידי צמחי מלפפון. עבודת גמר, האוניברסיטה העברית בירושלים. 8. 15 th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, Bari, Italy, October 7--11, 2009. 9. EmCon2009 Colorado State University, Fort Collins, USA. August 4-7, 2009. 10. Shenker, M., D. Harush, J. Ben-Ari and B. Chefetz. 2010. Uptake of carbamazepine by cucumber plants - a case study related to irrigation with reclaimed wastewater. Chemosphere (in press, doi:10.1016/j.chemosphere.2010.10.052).
פרסום הדו"ח: אני ממליץ לפרסם את הדו"ח: (סמן אחת מהאופציות)
רק בספריות ↙
ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) ✓ ↙
חסוי – לא לפרסם ↙