

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA FARMAKOGNOSIE

**Bakalářská práce**

# **ODSTRAŇOVÁNÍ EKOLOGICKÝCH ZÁTĚŽÍ POMOCÍ ROSTLIN**

Pavλίna Zálešáková

Vedoucí katedry: Doc. RNDr. Jiřina Spilková, CSc.

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Anna Polášková

Oponent: PharmDr. Marie Kašparová, Ph.D.

## Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala RNDr. Anně Poláškové za odborné vedení v průběhu vypracování bakalářské práce, za poskytnutí literárních zdrojů a mnoho cenných rad.

Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal, řádně cituji. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Datum

podpis

# Obsah

1. Úvod.....	5
2. Teoretická část.....	7
2.1 Princip a typy fytořemediace.....	7
2.1.1. Význam dekontaminace pomocí rostlin.....	7
2.1.2. Typy fytořemediace.....	7
2.2 Rostliny používané v ČR.....	11
2.2.1. Volba vhodných rostlin podle typu prostředí.....	11
2.2.2. Porovnání akumulacních schopností rostlin.....	13
2.2.3. Příklady prakticky používaných systémů.....	14
2.2.4. Nebezpečí hyperakumulujících rostlin.....	15
2.3 Metabolismus (biotransformace) škodlivin v rostlinách.....	15
2.3.1. Mechanismus poškození rostlin v důsledku oxidačního stresu.....	16
2.3.2. Mechanismus poškození rostlin toxickými kovy.....	16
2.3.3. Mangan jako „moderní“ kontaminant.....	17
2.3.4. Obranné systémy rostlin – biotransformace škodlivin.....	18
2.3.5. Antioxidační aktivita fenolických látek.....	19
2.3.6. Účinek fenolických látek na zdraví.....	19
3. Fytořemediace a tvorba antioxidantů v rostlinách.....	20
3.1 Model fytořemediace – <i>Betula sp.</i> .....	20
3.1.1. Lékopisná charakteristika.....	20
3.1.2. Obsah flavonoidů a dalších antioxidantů v závislosti na znečištění ovzduší.....	23
3.1.3. Charakteristika vzorků <i>Betulae folium</i> z různě zatížených lokalit v ČR.....	24
3.2 Praktická část.....	26
3.2.1. Výběr lokalit.....	26
3.2.2. Měřítka zatížení – těžké kovy.....	27
3.2.3. Metoda stanovení obsahu celkových fenolů.....	29
Diskuse.....	32
Závěr.....	34
Zdroje.....	35

# 1. Úvod

Naše planeta existuje asi 4,6 miliardy let, přičemž člověk na ní žije 100 až 200 000 let. V pravěku byl člověk součástí biosystémů, které se vyznačovaly uzavřeným koloběhem látek a energie. Postupem času se udály změny civilizační i kulturní, zlepšily se životní podmínky, prodloužila se průměrná doba života. V novodobé historii pak nastoupila zemědělská a průmyslová revoluce, avšak na úkor vyřazení člověka z přírodních ekosystémů. Aby se člověk uživil, začal uměle zakládat pole a i nové technologie v získávání zdrojů potravy či energie měly být ku prospěchu lidstva. Spolu s tím se však také zvýšily emise v ovzduší a produkce mnoha dalších odpadních látek.

Kdo z nás by si uměl představit život bez dopravy, energetiky či odpadních vod? Díky těmto vymoženostem však vznikají kontaminanty životního prostředí. Odpad dnes vzniká jak při produkci tak i při samotné spotřebě výrobků a je jasné, že tento jednosměrný proud není trvale udržitelný. Dochází k vyčerpání zdrojů a k zahlcení planety Země odpadními látkami.

Celková hospodářská činnost má vliv na životní prostředí, na ohrožení lidského zdraví a též celého klimatického systému. Naše generace má na bedrech nelehký úkol. Jakým směrem by se produkce a odstraňování odpadních látek mělo ubírat? Pomůže nám alespoň částečně od těchto problémů fytofarmacie? Touto otázkou bych se chtěla zabývat v této práci. [1]

V první části jsou uvedeny obecné principy fytofarmacie, nejčastěji používané systémy (kontaminant – rostlina).

Protože oblast fytofarmacie je velmi široká, zaměřila jsem se v druhé a třetí části práce na ty aspekty, které souvisí s farmakologií.

Především je to reakce rostlin na stres: při fytofarmaci se mohou uplatnit jen ty rostliny, které jsou schopny úspěšně přežít v kontaminovaném prostředí a vytvářet biomasu, ve které se škodliviny akumulují nebo metabolity, které mohou cizorodé látky zneškodnit.

Třetí část práce je věnována specifické problematice – vlivu kontaminovaného prostředí na produkci farmaceuticky významných látek – antioxidantů u druhu *Betula*

*pendula*, který se často vyskytuje v prostředí zatíženém těžkými kovy i jinými polutanty a na druhé straně je využíván jako zdroj rostlinné drogy *Betulae folium*, obsahující antioxidanty fenolického typu (hlavně flavonoidy).

Produkce farmaceuticky účinných látek, které se zároveň řadí k obranným prostředkům rostlin proti oxidativnímu stresu, byla dosud na katedře farmakognosie studována hlavně u rostlinných explantátových kultur, kdy byly studované kontaminanty (např. těžké kovy) aplikovány a použity jako elicitory (například v práci [35])

Předložená práce znamená jiný pohled na problematiku produkce farmaceuticky významných látek v reálných podmínkách – v lokalitách různě zatížených kontaminanty, zejména z dopravy.

I když práce byla zadána spíše jako rešeršní, byl pro ilustraci proveden a vyhodnocen konkrétní odběr rostlinné drogy *Betulae folium* z míst různě zatížených dopravou.

## 2. Teoretická část

### 2.1 Princip a typy fytořemediace

Fytořemediace používá zelené rostliny k odstraňování xenobiotik z okolního prostředí, půdy a vody. Technologie, ve které se kovy či jiné polutanty akumulují v rostlinách, je šetrná k životnímu prostředí a nákladově efektivní. V poslední době se intenzivně vyvíjí, aby pomohla dekontaminovat znečištěná místa v ČR i zahraničí.

Mezi látky, které samotné nebo ve formě sloučenin nejvíc postihují životní prostředí, patří As, Cd, Cu, Hg, Pb a Zn a radioaktivní, toxické Sr, Cs a U. Z hlediska fytořemediace jde o fytořemediáty, které se snažíme z kontaminovaných míst odstranit. [2]

#### 2.1.1. Význam dekontaminace pomocí rostlin

Fytořemediace využívá skutečnosti, že rostlina v podstatě funguje jako řízené solární čerpadlo, které lze extrahovat a spolu s ním i jednotlivé naakumulované prvky z prostředí. Sklizené rostlinné tkáně bohaté na kontaminanty jsou využívány k produkci bioplynu či se bezpečně zpracovávají sušením, zpopelněním nebo kompostováním nejlépe bez použití těžké techniky. [2]

Metoda má však i své nevýhody. Patří mezi ně dlouhodobý dekontaminační proces, který se nedá uskutečnit za jedno vegetační období a ne každá rostlina se dá použít. [3] Nejlepší jsou ty, které rychle rostou, mají rozsáhlý kořenový systém a snadno se sklízí. [4]

#### 2.1.2. Typy fytořemediace

Existuje mnoho xenobiotik, které rostliny fytořemediací odstraňují, například různé kovy, radionuklidy, organické a anorganické látky.

Fytoremediace se dělí na tyto typy: [5]

- Fytotransformace
- Fytostabilizace
- Fytoextrakce
- Rhizofiltrace
- Fytovolatilizace

## **Fytotransformace**

Jak už název napovídá, jedná se o transformaci, čili přeměnu xenobiotika na látku více polární, více rozpustnou a většinou méně toxickou než byla látka původní. Na tomto procesu se podílí enzymy i mikroorganismy, které můžeme nalézt v kořenovém systému rostliny. V nejideálnějším případě jsou polutanty úplně degradovány a použity jako živiny. [6]

Fytotransformace, označovaná také jako fytodegradace, je zneškodnění organických kontaminantů prostřednictvím metabolismu rostlin nebo enzymy, které jsou produkovány rostlinami. Organické kontaminanty jsou degradovány na jednodušší sloučeniny, které interagují s rostlinnou tkání, což podporuje růst rostliny.

Sanace lokality je závislá na přímém příjmu kontaminantů z médií a akumulaci v porostu. Příjem chemických látek do rostlinné tkáně prostřednictvím kořenového systému je závislý na účinnosti absorpce, transpiraci, a koncentraci chemické látky v půdní vodě. Absorpce záleží na fyzikálních a chemických vlastnostech polutantů a schopnostech rostlin, zatímco rychlost transpirace závisí na typu rostliny, listech, množství živin, půdní vlhkosti, teplotě, povětrnostních podmínkách a relativní vlhkosti. Potom, co se organická složka přemístí do rostliny, mohou nastat dva různé procesy: [7]

- (1) ukládání chemikálií a jejich fragmentů do rostliny přes zdřevnatělou buněčnou stěnu
- (2) dokončení přeměny v optimálním případě na oxid uhličitý a vodu



## **Fytostabilizace**

Fytostabilizace je zabránění dalšímu pohybu kontaminantů v půdě prostřednictvím absorpce a akumulace kořeny, adsorpcí na kořeny nebo precipitací pomocí kořenové zóny rostlin. Jedná se o proces, který má zastavit šíření kontaminantu do okolí.

Rostliny a kořenové systémy se používají proto, aby se předešlo kontaminaci okolního prostředí větrem, vodní erozí nebo vyplavováním. Aby se snížily náklady a půda se dala znovu využít, je však potřeba splňovat určité požadavky. [8]

Vhodné jsou rostliny s rozsáhlým kořenovým systémem a tolerancí k vysokým koncentracím těžkých kovů. Tyto rostliny rostou například v místě těžby a zpracování rud. Pro fytostabilizaci jsou mimo jiné doporučeny některé rostliny z čeledi lipnicovitých. [9] Fytostabilizace se používá, pokud není možné provést fytoextrakci.

## **Fytoextrakce**

Rostliny pomocí fytoextrakce extrahují kontaminanty kořeny z půdy do svých tkání, kde se shromažďují a poté jsou sklizeny a zneškodněny. Je to jedna z nejpoužívanějších metod, zejména pro odstraňování kovů.

### **Fytoextrakce kovů**

V současné době existují dvě základní strategie, které se však stále vyvíjí. Fytoextrakce pomocí chelátu (nazývaná též indukovaná) a dlouhodobá kontinuální fytoextrakce. Z těchto dvou procesů je chelátová rozvinutější a více komerčně používaná. Kontinuální fytoextrakcí se zabývá v ČR několik výzkumných skupin (odstranění kovů zinek, kadmium, nikl, selen, arsen a chrom). [10]

#### **1. Indukované fytoextrakce**

Neznáme žádné rostliny schopné přirozeně akumulovat hromadící se toxické kovy jako olovo, kadmium, arsen a radionuklidy. Například vegetace rostoucí na olovem silně zamořených půdách obsahovala jen malé množství olova, což

nepostačovalo pro efektivní fytoextrakci. Dřívější studie ukázaly, že aplikace ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA) do půdy zvyšuje akumulaci olova v rostlinách. Tato studie otevřela cestu úspěšné fytořemediaci olova a rozvoji fytoextrakce jiných toxických kovů pomocí vhodného chelátu, který se vybírá na základě afinity kovu k chelátu. Chelátem asistovaná extrakce je poměrně nová metoda skládající se ze dvou procesů. [10]

V prvním kroku vzniknou chelátové komplexy kovu, jejichž tvorba je indukována nedostatkem železa. Komplexy jsou dále transportovány pomocí speciálních přenašečů přes plazmatickou membránu do rostliny. Kov se může ukládat v kořenech, případně částečně transportovat xylémem do nadzemní části rostliny. [11]

## 2. Kontinuální fytoextrakce

Kontinuální fytoextrakce je založena na genetické a fyziologické schopnosti specializovaných rostlin, hromadit, přemístit a odolávat vysokému množství kovu. Hlavní nevýhodou přirozeně se vyskytujících se hyperakumulátorů je jejich pomalý růst, nízká tvorba této biomasy a nedostatek hyperakumulátorů pro důležité kovy.

Nedávný výzkum odhalil, proč některé rostliny přirozeně shromažďují kovy: je to ochrana před houbovými a bakteriálními patogeny. [10]

## **Rhizofiltrace**

Rhizofiltrace využívá kořenových systémů k odstraňování škodlivin z podzemních vod. Cílovým orgánem na rozdíl od fytoextrakce jsou tedy kořeny. Metoda je vhodná pro dekontaminaci velkých objemů vod avšak s malou koncentrací polutantů. Příkladem může být odstraňování isotopů Cs a Sr z povrchových vod v Černobyli.

## **Fytovolatilizace**

Tato metoda nám napomáhá zbavovat se hlavně organických látek. Látky putují od kořenů ke tkáním rostliny, kde může, ale nemusí proběhnout biotransformace a následná expirace do ovzduší.

Fytovolatilizace neslouží k odstraňování kontaminantů, ale pouze je přesouvá z půdy do vzduchu. [12]

## 2.2 Rostliny používané v ČR

V České republice je provozováno více než 180 skládek s nebezpečným odpadem. Proto je potřeba s ním co nejefektivněji nakládat. Jedna z možností je i fytoremediace. Pro rostliny představují někdy toxické látky zdroj živin a minerálů. Potřebují je pro svůj růst a k dokončení životního cyklu. Proto je také přijímají.

### 2.2.1. Volba vhodných rostlin podle typu prostředí

Následující tabulka shrnuje typické rostliny používané při fytoremediačních aplikacích: [12]

Aplikace	Médium	Kontaminanty	Typické rostliny
Fytotransformace	Půda, podzemní voda, výluhy ze skládek, aplikace odpadních vod na půdy	Herbicidy; chlorované alifatické uhlovodíky; aromatické uhlovodíky; explosiva; živiny (dusičnany, amoniak, fosfáty)	Topol, vrba žito, jetel
Rhizosferní bioremediace	Půda, sedimenty, aplikace na půdu, omezené skládky	Biodegradovatelné organické látky (pesticidy)	Traviny s vláknitými kořeny (žito), moruše, jabloň
Fytostabilizace	Půda	Kovy (Pb, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Se, U)	Trávy s vláknitými kořeny
Fytoextrakce	Půda, sedimenty	Kovy (Pb, Cd, Zn, Ni, Cu)	Hořčice sareptská, slunečnice
Rhizofiltrace	Podzemní voda, odpadní voda	Kovy (Pb, Cd, Zn, Ni, Cu), radionuklidy, hydrofobní organické sloučeniny	Vodní rostliny
Fytovolatilizace	Půdy a sedimenty	Se, As, Hg, těkavé organické sloučeniny	Mokřadní rostliny

Dle tabulky je možno metodou fytořemediace odstraňovat:

- těžké kovy ( Cd, Pb, Cr, As,..)
- radionuklidy
- explosiva
- barviva a jejich prekurzory
- pesticidy
- polycyklické aromatické uhlovodíky

### 2.2.2. Porovnání akumulčních schopností rostlin

Existují rostliny schopné přijímat těžké kovy, které jsou esenciální pro jejich růst a vývoj. Mezi tyto kovy patří železo, mangan, zinek, měď, hořčík, molybden, nikl, kobalt a selen. Některé rostliny přijímají i kovy, u kterých se nezjistily žádné biologické funkce jako například chrom, kadmium, olovo a stříbro.

Rostliny se schopností akumulovat významné množství těžkých kovů či jiných škodlivin byly definovány jako hyperakumulátory. První popsanou hyperakumulující rostlinou byla violka žlutá (*Viola lutea*) obr. 1 a penízek rolní (*Thlaspi arvense*) obr. 2.



Obr. 1 *Viola lutea* [28]



Obr. 2 *Thlaspi arvense* [29]

### 2.2.3. Příklady prakticky používaných systémů

Známe dvě možnosti, jak se rostliny vypořádávají s těžkými kovy. Jedna možnost je, že se kov udržuje v nízké koncentraci v nadzemní části rostliny (jeho transport z půdy je omezen), ve druhé se jedná o akumulaci do nadzemní části rostliny, která se nachází na půdách s vysokou koncentrací kovů.

Většina rostlin akumuluje pouze jeden druh kovu, rostou pomalu a vyskytují se jen vzácně. Výjimkou může být penízeček modravý (*Thlaspi caerulescens*), který může akumulovat až 3 kovy, zinek, kadmium a olovo. [11]

Příklady použití fytořediačních systémů můžeme nalézt i v chemické továrně v Semtíně v Pardubicích. Nejčastěji se vyskytující výbušnina ve vojenských prostorách, trinitrotoluen (TNT), je degradován pomocí rostlin *Arabidopsis*. V rostlinách byla měřena distribuce TNT. Největší koncentrace TNT byla zjištěna v kořenech rostliny.

Tým pracovníků VŠCHT se kromě výzkumu v Semtíně zaměřoval na fytořemediaci polychlorovaných bifenyly, což jsou látky, které se mohou ukládat v tukových ložiscích a jsou karcinogenní. Dále se zabývali otázkou degradace farmak jako je Ibuprofen, Diklofenak a Acetaminofen. [23]

V jaderné elektrárně Temelín se vědci zabývají radiofytořemediací radionuklidů. Sledují schopnosti rostlin akumulovat uran a radium a srovnávají je na vybraných testovacích místech. Při radiofytořemediaci se používají rostliny jako například slunečnice nebo bříza. [33]

#### **2.2.4. Nebezpečí hyperakumulujících rostlin**

Příjem těžkých kovů rostlinou je obvykle první krok při jejich vstupu do zemědělského potravinového řetězce. Je závislý na: 1. pohybu prvků z půdy do kořenů rostliny, 2. přestupu prvků přes epidermální membránu buněk kořene, 3. transportu prvků z epidermálních buněk do xylému, ve kterém probíhá přechod prvků z kořene do výhonků rostliny, 4. mobilizace z listů do pletiv, kde se prvky skladují a mohou se stát nebezpečnými kontaminanty potravin a krmiv.

Jestliže se kovy dostanou do rostliny, jsou k dispozici pro býložravce a lidi. Aby se to nestávalo, musí být zamezen příjem kovu kořeny. To lze ovlivnit změnou pH, lokálními fyzikálními a chemickými podmínkami, například obsahem vody v půdě a dalšími. [13]

### **2.3 Metabolismus (biotransformace) škodlivin v rostlinách**

Na rostliny působí různé stresové faktory. Vysoká koncentrace těžkých kovů v rostlině může způsobit oxidační stres, dále jsou vystaveny změnám klimatu, mrazu, tepla, suchu, záplavám, nerovnováhám v dostupnosti živin. Některé z těchto stresových faktorů mohou výrazně kolísat v intenzitě a trvání. [16] To by mohlo vést až k poškození rostliny, poruše příjmu vody a minerálů, ovlivnit celou řadu procesů, [14] výrazně měnit a ovlivňovat růst rostlin. Rostliny jsou přisedlé organismy, proto jsou vybaveny mechanismy zajišťujícími přežití v měnících se životních podmínkách. [16]

Brání se biosyntézou obranných sloučenin za účelem detoxikace stresových faktorů. [14]

### **2.3.1. Mechanismus poškození rostlin v důsledku oxidačního stresu**

Existuje mnoho důkazů, že vysoká koncentrace těžkých kovů jako je železo a měď, způsobují u rostlin oxidativní stres. [13]

Rostliny se brání buď adaptací nebo spouštějí tzv. stresovou reakci. Jde o řetězec změn, při níž se rostlina snaží zapojit mechanismy aktivní odolnosti. Lze ji rozčlenit do čtyř fází:

1. poplachová fáze – stresový faktor začíná působit na rostlinu a stává se signálem, že se něco děje
2. restituční fáze – pokud faktor nepůsobí na rostlinu letálně, začínají se přesouvat kompenzační mechanismy do místa působení stresového faktoru
3. fáze rezistence – rostlina se díky kompenzačním mechanismům stává odolnější vůči stresovým faktorům
4. fáze vyčerpání – pokud faktor dlouhodobě působí na rostlinu, může dojít k vyčerpání kompenzačních kapacit a k úhynu rostliny

Často na rostlinu působí více stresových faktorů současně nebo příliš dlouho a faktory spolu mohou interagovat - může docházet k antagonistickým nebo synergickým efektům. [15]

Polutanty v rostlinách se vážou fyzikálně, chemicky nebo biochemicky. Do chemických mechanismů patří kovalentní nebo chelátové, iontové a srážecí reakce. Biochemické procesy podporují připojení nízkomolekulárních organických molekul k méně reaktivním, nebo se polutanty mikrobiálně rozkládají. [21]



### 2.3.2. Mechanismus poškození rostlin toxickými kovy

V tabulce (viz odstavec 2.2.1.) je uvedena řada kovů, které se staly nebezpečnými kontaminanty prostředí, například olovo, kadmium, zinek, měď, selen a další.

Společným rysem u mnoha stresových faktorů včetně těžkých kovů je, že následkem jejich působení se zvyšuje obsah reaktivního kyslíku. Při postupné redukci molekulárního kyslíku na vodu vznikají meziprodukty, které mohou být pro rostlinu toxické. Produkce kyslíkových radikálů může vést k oxidaci proteinů a membránových lipidů, nebo mohou způsobit změny v DNA. Mezi typy kyslíkových radikálů se řadí singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ), superoxid ( $\text{O}^{\cdot-}_2$ ), peroxid vodíků ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hydroxylový radikál ( $\text{OH}^\cdot$ ).

Protože však právě kyslíkové radikály ničí patogeny, není dobré, když se jich rostlina zcela zbaví. [16]

### 2.3.3. Mangan jako „moderní“ kontaminant

Železo a mangan jsou pro rostlinu důležité jako stopové prvky. Mangan slouží jako indikátor kyselosti půd. [22] Rozsáhlé testování účinků manganu ukázalo, že jeho použití snižuje emise oxidu dusíku. [24] Avšak těžké kovy nejsou pro rostlinu jen přínosné, ale mohou způsobit řadu změn v metabolismu.

Těžké kovy vyvolávají oxidační stres v rostlinách (viz odstavec 2.3.2.) Kromě toho však zejména mangan patří k polutantům s nově odhalenými nebezpečnými účinky i pro obyvatele lokalit znečištěných díky vysokému automobilovému provozu. [25]

Mangan se přidává do benzínu místo olova, kde zvyšuje oktanové číslo. Mangan přidávaný místo olova do benzínu i nafty začíná představovat riziko tvorby kontaminujících látek nebezpečných pro život. Mangan se přidává – po zavedení bezolovnatého benzínu – ve formě MMT (trikarbonyl(methylcyklopentadienyl)mangan) jako antidetonační přísada. U nás je obsah upraven normou – ČSN EN 16135 (656175).

Na nebezpečí poukazuje i výzkum profesorky fyziologie v Kanadě, která si všimla, že i lidé, kteří nepřišli do přímého styku s manganem, mají vysoký obsah manganu v krvi. Lidé, kteří vdechovali kontaminovaný vzduch, trpěli problémy podobnými Parkinsonově chorobě. Při vdechování se mohou tyto látky dostat do

krevního oběhu přes plíce a dodávat nebezpečné dávky manganu do mozku, kde nahromadění může vést k Parkinsonově chorobě včetně ztráty ovládní motoriky, k ztrátě paměti, nevyzpytatelnému chování a buněčné smrti mozku. Není známa žádná léčba nebo lék. Dokonce i pediatři doporučují postupně skončit s přidáváním manganu do benzínu. [25] Obzvláště nebezpečný je pro kojence a děti. Proto musí být použití manganu nově zhodnoceno s ohledem na ochranu zdraví dětí i dospělých. [26]

V Kanadě a Kalifornii se zpřísnily normy pro koncentraci manganu v pohonných hmotách. Kalifornie také přidala mangan do seznamu toxických látek znečišťující ovzduší. Mangan je neurotoxin a těžký kov. Spalování MMT v benzínu uvolní fosfáty, sulfáty a oxidy manganu do vzduchu. Automobilky však také chtějí odstranit MMT v palivech z technických důvodů. [26]

#### **2.3.4. Obranné systémy rostlin – biotransformace škodlivin**

Rostliny mají účinné obranné systémy, kterými se brání před aktivními formami kyslíku a chrání buňky před oxidačním poškozením. Do systému se řadí enzymové i neenzymové antioxidanty, které jsou specificky zastoupené v buněčných organelách. Patří k nim zejména superoxidodismutáza (SOD): superoxidové radikály jsou eliminovány za vzniku peroxidu vodíku. Peroxid vodíku je rozkládán na kyslík a vodu.

Monodehydroaskorbát, jehož redukce probíhá v plastidech, se samovolně přeměňuje na dehydroaskorbát. Ten reaguje s glutathionem za vzniku askorbátu a oxidovaného glutathionu. Glutathionovou cestou se eliminuje singletový kyslík. Vitamin E a karotenoidy, patřící mezi neenzymové antioxidanty, napomáhají zmírnění účinku po poškození singletovým kyslíkem. Antioxidační kapacita je závislá na stáří rostliny, druhu, působení stresových faktorů a stadiu vývoje. [27]

Hlavní antioxidanty u rostlin: [27]

- askorbát (vitamin C)
- redukovaný glutathion
- tokoferol (vitamin E)
- karotenoidy

- polyaminy
- flavonoidy a další polyfenolické látky

### **2.3.5. Antioxidační aktivita fenolických látek**

Flavonoidy mají dva substituované benzenové kruhy a pyranový kruh. V přírodě jsou často vázány na cukr. Tvorba těchto glykosidů-konjugátů je závislá na světle. Nejen, že mají přímé antioxidační vlastnosti, působí i nepřímo na tvorbu některých radikálů a to aktivací či deaktivací antioxidačních enzymů. Jsou také schopny vázat těžké kovy. Fenolické látky se v rostlinné říši vyskytují v hojném zastoupení a vykazují široké spektrum účinku. Avšak jejich nejvýznamnější účinek je antioxidační. Tyto látky likvidují volné radikály a mimo to jsou schopny také podporovat antioxidační účinky vitamínu C, který je jinak snadno znehodnocen. [17]

Fenolické látky zvyšují biologickou hodnotu rostlin jako potravy a krmiv a to díky antioxidační aktivitě, která je účinnější než antioxidační aktivita vitamínu C, E a karotenoidů. [18]

### **2.3.6. Účinek fenolických látek na zdraví**

Fenolické látky působí protivirově, protizánětlivě, protibakteriálně a protialergicky. U Francouzů se vyskytuje méně kardiálních a cévních onemocnění. Předpokládá se, že je to díky místnímu pití vín, ve kterých se také nachází množství fenolických látek.

Díky své antioxidační schopnosti zabraňují změnám krevních lipidů a snižují vznik aterosklerózy a chrání před rakovinou. [17]

## 3. Fytoremediace a tvorba antioxidantů v rostlinách

### 3.1 Model fytoremediace – *Betula sp.*

Stromy plní řadu funkcí v ekosystému. Jsou bydlištěm pro mnoho organismů, slouží jako topivo, produkují kyslík. Jejich další výhodou jsou jejich remediační účinky, shromažďování těžkých kovů například, (Cd, Pb, Zn). Nejčastěji se používají bříza, olše a topol. Borovice se používá pro monitorování řady látek téměř v celé západní Evropě. Pro remediaci jsou vhodnější menší rostliny, které lze snadněji sklídit, ale v některých oblastech se spíše využívají stromy.

Pro fytoextrakci je vhodná zejména bříza. Pro rešerši v rámci katedry farmakognosie byl zvolen rod *Betula* zejména proto, že spojuje aspekty fytoremediace a tvorby farmaceuticky významných látek. Bříz existuje více typů. Nejčastější u nás je *Betula pendula* obr. 3 a *Betula pubescens* obr. 4.

#### 3.1.1. Lékopisná charakteristika

Oba druhy (*Betula pendula* a *Betula pubescens*) jsou zdrojem rostlinné drogy *Betulae folium*, proto je jejich popis uváděn v lékopisech: (například Český lékopis 1997, 6. Speciální část, 6.1 Léčivé a pomocné látky).

„Listy obou druhů na svrchní straně tmavě zelené, na spodní straně světlejší, šedozelené, s charakteristickou síťovitou žilnatinou. Žilky jsou světle hnědé až téměř bílé.

*Betula pendula*. List lysý, na obou stranách žláznatě tečkovaný. Je 3 cm až 7 cm dlouhý a 2 cm až 5 cm široký, dlouze řapíkatý. Čepel listu trojúhelníkovitá až kosníkovitá, zašpičatělá, na bázi široce křehovitá nebo uťatá, na okraji dvakrát pilovitá.

*Betula pubescens*. List menší, oválný až vejčité kosníkovitý, krátce zašpičatělý, na obou stranách slabě pýřitý, s roztroušenými žláznatými chlupy. Na spodní straně listu v paždí žíle k malé chomáčky žlutošedých chlupů. Čepel drsnější, na okraji pilovitá.“



Obr. 3 *Betula pendula* [30]



Obr. 4 *Betula pubescens* [31]

Rozlišení mezi dvěma druhy břízy je důležité, chceme-li porovnávat obsah látky – mohou existovat druhové rozdíly v příjmu a akumulaci. U vzorků použitých v této práci bylo potvrzeno, že jde o druh *Betula pendula* (konzultace - RNDr. Věra Samková, Ph.D., Muzeum východních Čech).

#### **Farmaceuticky významné obsahové látky *Betulae folium***

K nejdůležitějším obsahovým látkám v bříze patří flavonoidní glykosidy.

Jde o polyfenolické látky, jejichž produkce bývá připisována obraně rostliny proti oxidačnímu stresu.

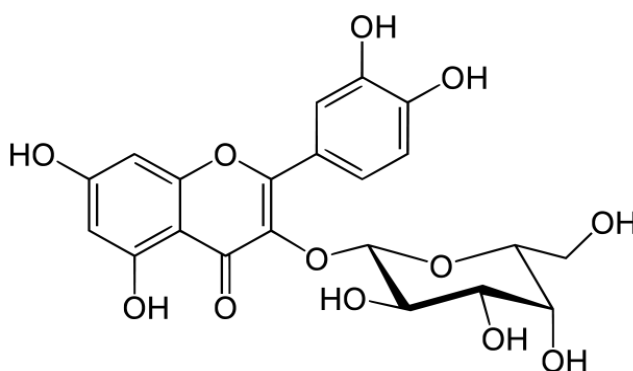
Rostlinná droga *Betulae folium* má obsahovat podle lékopisu nejméně 1,5 % flavonoidů, počítáno jako hyperosid ( $C_{21}H_{20}O_{12}$ ; Mr 464,4), vztaženo na vysušenou

drogu, saponiny, glykosidy, pryskyřice, třísloviny, vitamin C, minerální látky, karoteny a fytoncidy.

Listy břízy (*Betulae folium*) mají močopudné účinky a působí protizánětlivě a hojí rány.

Tyto látky mají ochrannou funkci i u rostlin - při fytoemediaci slouží jako ochrana břízy před oxidačním stresem v nepříznivých podmínkách, kontaminované půdě a ovzduší.

Proto byla jako praktické vyústění této práce prozkoumána tvorba polyfenolů, zejména flavonoidů v bříze, v prostředí různě zatíženém těžkými kovy.



Obr. 5 Flavonoidní glykosid - hyperosid

### 3.1.2. Obsah flavonoidů a dalších antioxidantů v závislosti na znečištění ovzduší

Flavonoidy patří mezi fenolické látky s významným antioxidačním účinkem. Chrání rostliny před volnými radikály, inhibují klíčení spór patogenů a chrání před UV zářením. Problematika antioxidantů je však širší – zahrnuje jak různé zdroje oxidačních činidel (radikálů), tak širší škálu rostlinných látek s antioxidačním účinkem. (viz odstavec 2.3.3.)

Pokud působí na rostliny vyšší množství UV záření, dochází také k oxidačnímu stresu a zvyšuje se také syntéza flavonoidů. [20]

Je zřejmé, že se bude obsah polyfenolických látek v závislosti na místě měnit. Na

lokality s vysokým a dlouhodobým znečištěním by se měl obsah flavonoidů a dalších polyfenolů pomalu zvyšovat, kdežto na místě s nižším výskytem znečištění, bychom měli v listech břízy stanovit nižší obsah flavonoidů. Několik příkladů je uvedeno v praktické části.

### **3.1.3. Charakteristika vzorků *Betulae folium* z různě zatížených lokalit v ČR**

Bříza je považována za průkopníka ve zlepšení půdy v lesních ekosystémech. Na začátku osmdesátých let, po odumírání smrku ztepilého v Krušných horách, se bříza stala nejdůležitějším druhem, který vytváří lepší podmínky pro život rostlin a živočichů v lese a připravuje podmínky pro budoucí obnovení smrkových a bukových lesů.

V oblasti severních Čech a východní části Děčína se stanovoval obsah kontaminujících prvků a jejich dopad na lesy. Krušné hory se nachází v nadmořské výšce 700-1000 m. Území je pod dlouhodobým účinkem SO<sub>2</sub>, které pochází jak z Podkrušnohoří, tak ze zahraničních zdrojů. Půdy vykazovaly mírný přísun celkového dusíku, fosforu, draslíku a hořčíku. Bříza byla zvolena jako bioindikátor stupně znečištění. Chemická analýza asimilačních orgánů poskytuje informace o stupni poškození a stavu porostů. Tyto faktory přinesly zvýšený zájem o studium břízy.

Stanovoval se obsah přírodních prvků (S, N, P, Ca, Mg, K, Mn, Zn, Cu) a obsah prvků jako je (Pb, Cd, Al) v listech bříz rostoucích v Krušných horách, na území znečištěném SO<sub>2</sub>. Byl hodnocen s ohledem na věk břízy a lokalitu (nadmořskou výšku) sběru.

Množství S, Ca, Mg, Zn a Pb bylo největší v místech s nadmořskou výškou 900-1000 m. Naproti tomu, ve vyšších nadmořských výškách se množství Cd, Al a Mn snižovalo. Množství prvků v listech většinou nezáviselo na věku stromu. Z hlediska výživy a růstu břízy bylo množství Cu nedostatečné, množství Ca, Mg, N, P a K bylo optimální a množství S, Zn a Mn bylo vyšší. Avšak údaje o složení živin a prvků v březovém listí nejsou zatím dostačující a liší se podle použitých analytických metod. Množství prvků závisí na typu půdy, nadmořské výšce, typu a intenzitě zatížení ovzduší a na individualitě stromu (věku, světelných podmínkách a stupni odumírání). Cílem



studie bylo popsat prvky a jejich množství v listech břízy rostoucí ve znečištěné oblasti severních Čech a východní oblasti Děčína ve vztahu k věku porostu a zhodnotit jejich stav a vliv vnějšího prostředí.

Vzorky byly pořízeny z dobře osvětlené koruny břízy ze tří věkových tříd. (I 1-20 roků, II 21-40 let, III 41-60 let). Vápník, hořčík, draslík, mangan, zinek, měď, olovo, kadmium a hliník se stanovují plamenovou emisní spektrofotometrií po mineralizaci vzorků. Získaná data byla zpracována pomocí statistických metod. [19] Pro naši práci byla významná zejména informace o zvýšené koncentraci Mn v listech břízy a o závislosti koncentrace Mn na nadmořské výšce: lze předpokládat menší znečištění ve vyšších polohách.

Jiné studie však uvádí, že došlo k znečištění ovzduší i na nejvyšších místech Krušných hor. Koncentrace oxidů síry dosáhla nadlimitní hodnoty a to se poté projevilo na zdravotním stavu břízy – funkční poruchy, abnormality v morfologii listu. Tyto poruchy se odráží do značné míry i na fyziologických procesech. Epidermis je poškozena jako první v důsledku vlivu vnějších faktorů na rostliny. Kvůli snížení epikutikulárních vosků, se snižuje odolnost a do rostliny proniká více plynů (oxidu siřičitého, dusičitanů).

V posledních deseti letech došlo ke změně ve spektru znečištění ovzduší v České republice ve vysokohorských oblastech.

V současnosti je ozon považován za jeden z nejškodlivějších plynů, ovlivňujících zdravotní stav lesů v Evropě.

## 3.2 Praktická část

### 3.2.1. Výběr lokalit

Pro výběr vzorků byly zvoleny dvě lokality v Hradci Králové nedaleko sebe. Avšak jeden vzorek byl sbírán u rybníka Biřička v lese, druhý těsně u frekventované silnice (výpadovka na Brno). Lokality byly zvoleny tak, aby se daly srovnávat mezi sebou. Lišily se jen stupněm zatížení dopravou. Zajímalo nás, zda má opravdu vliv prostředí na tvorbu antioxidantních látek.

Celkově bylo analyzováno 6 vzorků, 3 od silnice (B) a 3 z lokality bez dopravy (A).



*Obr. 6 Místo odběru vzorků [32]*

*A - lokalita bez dopravy – okraj lesa u rybníka Biřička*

*B - lokalita s hustou dopravou – okraj lesa u výpadovky na Brno*



Obr. 7 Místo odběru - Vzorek A



Obr. 8 Místo odběru - Vzorek B

### 3.2.2. Měřítko zatížení – těžké kovy

Pro vyhodnocení zatížení prostředí dopravou byly vzorky *Betulae folium* (A i B) předány k analýze těžkých kovů do akreditované laboratoře firmy Empla s.r.o., HK (obr. 9). Jako vhodné indikátory byly zvoleny koncentrace Fe a Mn, u kterých lze předpokládat významné rozdíly mezi lokalitami v závislosti na hustotě dopravy. Mn je navíc dosud opomíjeným „moderním“ polutantem.

Parametr	Jednotka	Vzorek A	Vzorek B
mangan	mg/kg suš.	1390	1180
železo	mg/kg suš.	93,5	235

Ve vzorku B (od silnice) byl naměřen významně vyšší obsah železa než v kontrolním vzorku A. Obsah Mn byl v porovnání s obsahem Fe v obou vzorcích, velmi vysoký: zatížení manganem z dopravy je velké, jeho těkavá forma (MMT) proniká i do větší vzdálenosti od silnice.



## PROTOKOL O ZKOUŠCE Č. 6218/12

Výsledky analýzy vzorku sušeného listu břízy

**Zákazník:** Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta  
Heyrovského 1203  
500 05 Hradec Králové

**Vzorek:** objednávka: zak. EMPLA AG č.1471/12 (obj.č.2121800044) z 27.11.2012  
místo odběru: Nový Hradec Králové- viz průvodka zákazníka  
datum odběru: 03.10.12  
odebral: zákazník  
způsob odběru: volný sběr - viz průvodka zákazníka  
datum přijetí: 30.11.12  
datum analýzy: 30.11.2012 - 10.12.2012  
pořadí č.vzorku: 15152-15153  
číslo vzorku označení zákazníka a popis vzorku  
15152 sušený list břízy (Betulae folium) - vz.Betula 12 A  
15153 sušený list břízy (Betulae folium) - vz.Betula 12 B

**Požadavek na analýzu:** dle objednávky - železo a mangan - viz tabulka výsledků

**Metodika analýzy:**  
A 35\_1.1 SOP O 2\_1.1 Kovy v sušině

**Výsledky:**

Parametr	jednotka	15152	15153
mineralizace		ANO	ANO
mangan	mg/kg suš.	1390	1180
železo	mg/kg suš.	93,5	235

Uvedené výsledky zkoušek se vztahují pouze k předmětu analýzy.  
Hodnoty nejistot stanovení jsou na vyžádání k dispozici v laboratoři.

Bez písemného souhlasu Ekologických laboratoří EMPLA se nesmí  
protokol reprodukovat jinak než celý.

V Hradci Králové 11.12.2012  
Zpracoval: Ing. L.Roubalová

Ing. Stanislav Eminger, CSc.  
vedoucí ekologických laboratoří

### 3.2.3. Metoda stanovení obsahu celkových fenolů

Spektrofotometrická metoda stanovení celkového obsahu fenolů byla nově vyvinuta na katedře farmakognosie - jde o úpravu lékopisné metody dle ČL 2002, 2.8.14., která poskytuje vhodné měřítko obsahu antioxidantů. Celkové fenoly byly stanoveny spektrofotometricky po reakci s Folin-Ciocalteuovým činidlem.

#### Přístroje a pomůcky

- analytické váhy Sautorius, Gottingen
- ultrazvuková lázeň Sonorex, Německo
- spektrofotometr HALO DB – 20S Dynamica, Rakousko

#### Chemikálie

- ethanol 60 % (Penta Chrudim, ČR)
- uhličitan sodný 7,5 % (Penta Chrudim, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (směs fosfomolybdenové a fosfowolframové kyseliny)
- Kyselina gallová (Sigma, Německo)

#### Postup stanovení:

Základní roztok: 0,5 g práškové drogy se ve 100ml kádince smíchá s 20 ml lihu R 60% (V/V) a zahřívá se 10 minut v ultrazvukové vodí lázni při 50°C – 60°C. Po ochlazení se zfiltruje přes chomáček vaty do 50ml odměrné baňky. Chomáček vaty se vloží ke zbytku drogy v baňce, přidá se 20 ml lihu R 60% (V/V) a zahřívá se 10 minut v ultrazvukové vodní lázni při 50°C – 60°C. Po ochlazení se zfiltruje do téže odměrné baňky. Odměrná baňka se doplní na 50 ml. Roztok se zcentrifuguje.

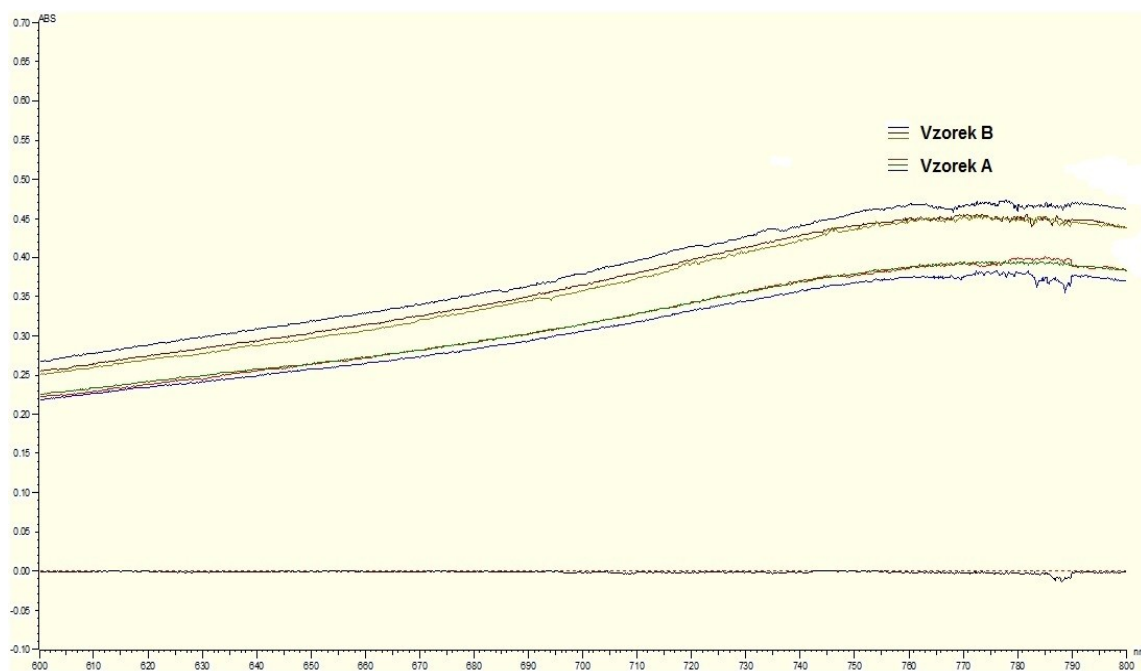
1 ml získaného extraktu se doplní do 10 ml destilovanou vodou a promíchá. 0,4 ml tohoto roztoku se smíchá s 2 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Poté se přidá 1,6 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a promíchá.

Slepý vzorek: 0,4 ml destilované vody se smíchá s 2 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Poté se přidá 1,6 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a promíchá.

Po 2 hodinách se měří absorbance zkoušeného roztoku proti slepému vzorku při 765nm.

### Parametry spektrofotometrického stanovení:

Company	FaF farmakognosie
File Name	betula A, B 27-03-2013. mwscn
Date	27.3.2013 14:42
Instrument Model	DB-20S
Measurement Mode	WL Scan
Data Mode	ABS
Start WL	800.0
End WL	600.0
Scan Speed	200 nm/min
Slit Width	1.0
Path Length	10.0



*Graf 1 Absorbční spektrum komplexu fenolických látek s Folin-Ciocalteuovým činidlem*

Po vyhodnocení na spektrofotometru bylo zjištěno, že vzorek A obsahoval méně celkových fenolických látek než vzorek B z břízy rostoucí u silnice, která musí odolávat vyššímu oxidativnímu stresu. [34]

# Diskuse

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout informace o fytořemediaci a zaměřit se na možnosti využití břízy jako akumulující rostliny. Bakalářská práce se zabývá základními metodami fytořemediační technologie. Fytořemediace se dělí na několik základních technik, které jsou v práci popsány. Dále práce studuje kontaminanty životního prostředí a popisuje jejich hyperakumulaci v rostlinách a jejich obranné mechanismy.

V první části práce je popsán význam a základ metod fytořemediace kontaminovaných půd. Podle typu polutantů je nutno volit vhodné rostliny a mechanismus odstraňování dané kontaminující látky. Metoda má velmi široké použití, často se využívá „kořenových čistíren“ odpadních vod z průmyslu (například z výroby výbušnin), z odkališť obsahující radioaktivní látky... Probírat podrobně všechny mechanismy a aplikace v rámci bakalářské práce nebylo možné, proto byl zvolen typický příklad – fytořemediace těžkých kovů pomocí břízy.

V druhé části práce byla pozornost zaměřena na specifický příklad – možnosti využití *Betula pendula* pro účely fytořemediace v lokalitách znečištěných těžkými kovy (bříza bývá vysazována na skládkách), hlavně pro její dostupnost a proto, že kromě fytořemediační funkce hraje významnou roli ve fytofarmacii jako zdroj rostlinné drogy s antioxidačními účinky (*Betulae folium*). Z těžkých kovů, vyvolávajících oxidační stres, jsem se zaměřila hlavně na mangan, protože se nově zjistily jeho negativní účinky na zdraví člověka.

Prvním krokem k úspěšnému naplnění praktické části bylo nalezení jak vhodného místa odběru, tak i metody stanovení celkových fenolů. Jako nejlepší se ukázal odběr ze dvou míst, první od lesa a druhý od frekventované silnice.

V praktické části byl hodnocen obsah fenolických látek v listech břízy a byly porovnávány vzorky ze dvou lokalit. Podle upraveného návodu dle Českého lékopisu a po změření výsledné absorbance vzorků, bylo zjištěno, že vzorek z míst více znečištěných dopravou obsahoval více fenolických látek než vzorek z čistšího prostředí. Souvisí to s akumulací těžkých kovů, které společně s působením dalšího typického

kontaminantu míst zatížených dopravou, ozonu, pravděpodobně vedly k oxidativnímu stresu a zvýšené tvorbě antioxidantů. Mangan však v tomto případě k rozdílům nepřispíval – koncentrace byla velmi vysoká v obou vzorcích; používaná sloučenina MMT (viz 2.3.3.) zřejmě proniká i do větší vzdálenosti od silnice.

Bakalářská práce byla napsána spíše jako rešeršní, závěrečný experiment byl proveden jen pro ilustraci, bez podrobného statistického vyhodnocení.



## Závěr

Během několika desetiletí se několik výzkumných skupin zabývalo metodami, které by mohly účinně pročistit životní prostředí od kontaminace. Mezi tyto metody patří i fytoremediace, která tu má jedno z výsadních postavení. Fytoremediace šetrně odstraňuje ekologické zátěže prostředí pomocí metabolických schopností rostlin. Metoda má své výhody i nevýhody. Rozhodně se však ale jedná o metodu šetrnou k životnímu prostředí a jednu z nejlevnějších technologií. Metoda fytoremediace se stále vyvíjí a zkoumají se možnosti nejlepšího využití.

V této práci jsem se zabývala jedním z nejvýznamnějších dekontaminantů - lehce dostupnou rostlinou, břízou. Pro ilustraci je tato rešeršní práce doplněna konkrétním příkladem odběru a hodnocení rostlinné drogy z lokalit různě zatížených dopravou.

Bříza bývá využívána jako fytoremediační rostlina například na skládkách průmyslového odpadu – zajímali jsme se o její schopnost akumulovat těžké kovy a o mechanismus obrany před jejich působením. Bříza bývá využívána jako zdroj lékopisné drogy *Betulae folium*, obsah účinných látek může záviset na místě sběru. V našem případě byly jako účinné látky měřeny celkové fenolické látky a jako příklad kontaminantu mangan. Na místech zatížených dopravou je sice obsah fenolických látek vyšší, současně je ale také díky hyperakumulaci vyšší obsah těžkých kovů.

V praktické části jsem proto stanovovala množství celkových fenolických látek v závislosti na kontaminaci lokality sběru. Dosažené výsledky sloužily spíše pro dokreslení práce.

Závěrem bych chtěla říci, že jsem se během psaní bakalářské práce, dozvěděla řadu cenných informací o fytoremediaci, o metodách, které nám pomáhají odstraňovat problémy, už tak významně zatíženého prostředí.

## Zdroje

- [1] MOLDAN, Bedřich. Globální problémy životního prostředí. *Centrum pro otázky životního prostředí* [online]. 18.5.2005. Dostupné z: [http://www.czp.cuni.cz/knihovna/publikace/global/kap\\_1.htm](http://www.czp.cuni.cz/knihovna/publikace/global/kap_1.htm)
- [2] RASKIN, Ilya. SMITH, Robert. SALT, David. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current opinion in biotechnology* [online]. 1997. Dostupné z: [http://www.ufv.br/dbv/pgfvg/BVE684/htms/pdfs\\_revisao\\_estresse/phytoremediat.pdf](http://www.ufv.br/dbv/pgfvg/BVE684/htms/pdfs_revisao_estresse/phytoremediat.pdf)
- [3] SMRČEK, Stanislav. *Fytoremediace – metoda dekontaminace půd a vod znečištěných organickými látkami, kovy a radionuklidy*. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, 2003
- [4] SOUDEK, Petr. Xenobiochemie rostlin II. *Laboratoř rostlinných biotechnologií*. [online]. Dostupné z: <http://lpb.ueb.cas.cz/prednaska02.pdf>
- [5] LIŠKOVÁ, Veronika. *Transformace ječmene genem bph C pro fytoremediaci PCB*. Diplomová práce. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2011
- [6] SOUKUPOVÁ, Miroslava. *Fytoremediační účinnost kultury Lupina bílá*. Diplomová práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2008
- [7] Phytotransformation. [online]. Dostupné z: <http://www.hawaii.edu/abrp/Technologies/phytran.html>
- [8] WHITE, Ken. Phytostabilization. *Argonne National Laboratory*. [online]. 2000. Dostupné z: <http://www.bnl.gov/erd/Peconic/Factsheet/Phytostab.pdf>
- [9] VYSLOUŽILOVÁ, Markéta. Dekontaminace půd zatížených rizikovými prvky – stanovení fytoextrakční účinnosti rostlin pěstovaných v rotačním osevním postupu. *Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy Praha*. [online]. 2005.
- [10] RASKIN, Ilya. SMITH, Robert. SALT, David. Phytoremediation. *Annual review of plant biology*. Str. 221-223. 1998.
- [11] LÁBUSOVÁ, Jana. *Fytoremediace: biochemické charakteristiky rostlin hyperakumulujících těžké kovy*. Bakalářská práce. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, 2010
- [12] SOUDEK, Petr. PETROVÁ, Šárka. BENEŠOVÁ, Dagmar. KOTYZA, Jan. VANĚK, Tomáš. Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. *Chemické Listy 102*, str. 346-352. 2008

- [13] JOHN, D.A., LEVENTHAL J.S.: Bioavailability of metals. [online] 13. 2. 2008. Dostupné z: <http://pubs.usgs.gov/of/1995/ofr-95-0831/CHAP2.pdf>
- [14] KŘÍŽKOVÁ, Soňa. ADAM, Vojtěch. KIZEK, René. Fytotoxicita stříbrných iontů. *Chemické Listy* 103, str. 559-568. 2009
- [15] KRYŠTOFOVÁ, Olga. *Vliv POPs na modelové rostliny, jejich akumulace v tkáních a efekty*. Diplomová práce. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2008
- [16] SCHÜTZENDÜBEL, Andres. POLLE, Andrea. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of experimental botany*. Vol. 53, No. 372. str. 1351-1365. 2002
- [17] DADÁKOVÁ, E. VRCHOTOVÁ, N. CHMELOVÁ, Š. Květenství bezu černého (*Sambucus nigra* L.) - bohatý zdroj rutinu a chlorogenové kyseliny. *Léčivé rostliny – časopis z herby*. [online] 17.3.2010. Dostupné z: <http://www.liecive.herba.sk/index.php/rozne-clanky-o-liecivych-rastlinach/80-clanky-o-liecivych-rastlinach/527-kvetenstvi-bezu-cerneho-sambucus-nigra-l-bohaty-zdroj-rutinu-a-chlorogenove-kyseiny.html>
- [18] ZLOCH, Zdeněk. Zdravotní efekt polyfenolů z hlediska jejich příjmu a využitelnosti. *Vojenské zdravotnické listy*. roč.72 č. 5. str. 226-228. 2003
- [19] HRDLIČKA, P. KULA, E. Element content in leaves of birch (*Betula verrucosa* Ehrh.) in an air pollutek area. *Trees* 13.2. str. 68-73
- [20] ŠULC, Miroslav. PIVEC, Vladimír. LACHMAN, Jaromír. Obsah fenolických látek v révě vinné ve vztahu k působení stresových faktorů. Česká zemědělská univerzita v Praze. [online] 17.5.2006. Dostupné z: <http://www.vurv.cz/files/Publications/ISBN80-86555-85-2.pdf#page=49>
- [21] KOLÁŘOVÁ, I. *Transport vybraných kovů z půdy do rostlin*. Bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009.
- [22] ŠIŠÁK, L. Mangan v letokruzích smrku ztepilého jako indikátor proběhlých chemických změn v půdě. *Zprávy lesnického výzkumu* 145, č. 4. str. 319-333. 2005
- [23] SOUDEK, Petr. Fytoremediace V. Laboratoř rostlinných biotechnologií. Dostupné z: <https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:9aeuKgHiPtWJ:lpb.ueb.cas.cz/soudek/pdf/Fytoremediace05-organika.pdf>
- [24] LYNAM, D. R. Environmental effects and exposures to manganese from use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. *Neurotoxicology* 20 (2-3). str. 145-150. 1999 Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10385878>

- [25] <http://archiv.neviditelnypes.lidovky.cz/canlist/1206canl.htm>
- [26] BLUMBERG, Katherine. WALSH, Michael P. Status report concerning the use of MMT in gasoline. *International Council on Clean Transportation*. [online]. 2004. Dostupné z: <http://healthandcleanair.org/mmt/icct.pdf>
- [27] PITERKOVÁ, Jana, et al. Oxidativní stres: lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chemické Listy* 99. str. 455-466. 2005
- [28] [www.biolib.cz](http://www.biolib.cz) (foto Jiří Šumbera)
- [29] [www.biolib.cz](http://www.biolib.cz) (foto Ondřej Zicha)
- [30] [www.garten.cz](http://www.garten.cz)
- [31] [www.habitas.org.uk](http://www.habitas.org.uk)
- [32] [www.mapy.cz](http://www.mapy.cz) © GEODIS BRNO, spol. s r.o.
- [33] SOUDEK, Petr. Xenobiochemie rostlin V. Laboratoř rostlinných biotechnologií. [online]. Dostupné z: <http://lpb.ueb.cas.cz/prednaska05.pdf>
- [34] TICHÁ, Monika. *Korelace koncentrací přízemního ozonu a produkce antioxidantů v rostlinách*. Bakalářská práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2013.
- [35] JINDŘIŠKOVÁ, Z. *Studium sekundárních metabolitů v explantátové kultuře *Trifolium pratense* L.* Diplomová práce. Hradec Králové: Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2012.