

אמנון גרוסברגר

החוג לאיכות הסביבה ומשאבי טבע
בחקלאות, הפקולטה למדעי
החקלאות, מזון וסביבה, ע"ש רוברט
ה. סמית, האוניברסיטה העברית
בירושלים

בני חפץ

המחלקה למדעי הקרקע והמים,
הפקולטה למדעי החקלאות, מזון
וסביבה, ע"ש רוברט ה. סמית,
האוניברסיטה העברית בירושלים

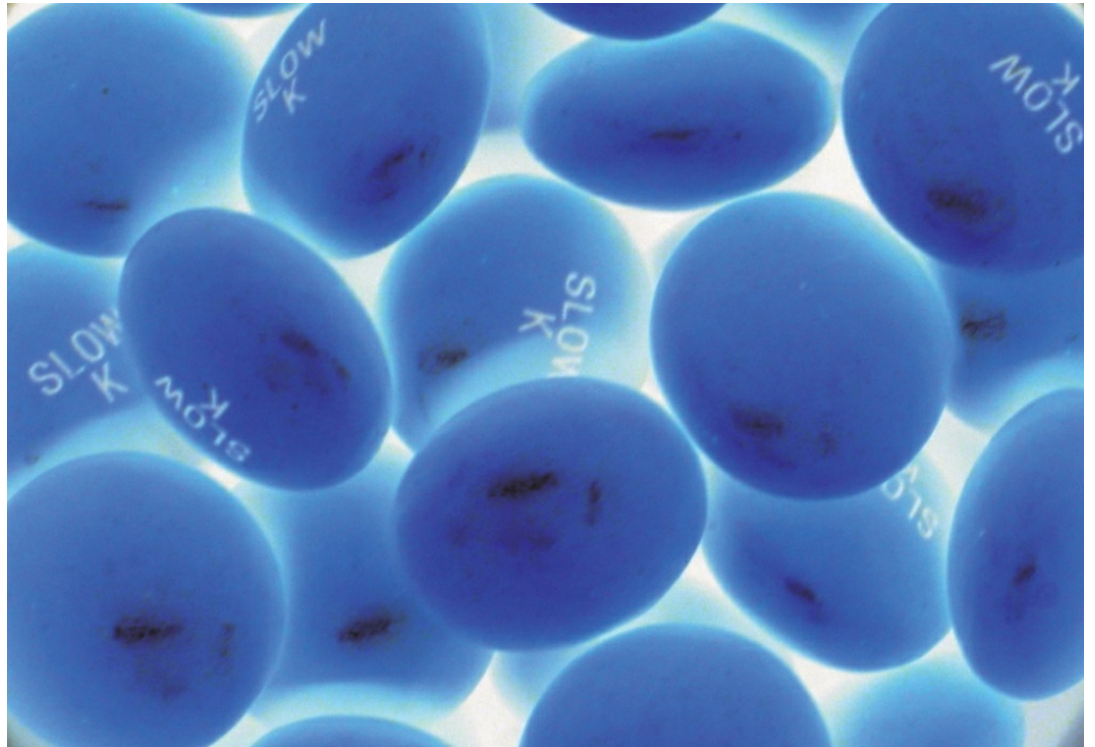
יצחק הדר

המחלקה למיקרוביולוגיה ומחלות
צמחים, הפקולטה למדעי החקלאות,
מזון וסביבה, ע"ש רוברט ה. סמית,
האוניברסיטה העברית בירושלים

מאמר זה עבר שיפוט עמיתים

ציטוט מומלץ

גרוסברגר א, חפץ ב והדר י. 2013.
פירוק מיקרוביאלי של חומרים
רפואיים בקרקעות לס המושקות
בקולחים. *אקולוגיה וסביבה* 4(1):
56-62.



הקצב המהיר ביותר שנמצא לפירוק חומרים רפואיים היה ימים ספורים, אך גם בזמן זה הם עשויים להיקלט בצמחים | מתוך עבודה של האמן Damien Hirst

פירוק מיקרוביאלי של חומרים רפואיים בקרקעות לס המושקות בקולחים

גיליון אביב 2013 / כרך 4(1) / חקלאות, קיימות וסביבה 3 בפברואר, 2013

[חזית המחקר](#)

על קצה המזלג

- ישראל מובילה בפער גדול על שאר ארצות העולם בשיעור השימוש החוזר בקולחים; השימוש העיקרי שנעשה בהם הוא להשקיה חקלאית.
- שאריות חומרים רפואיים נקלטות בצמחים המושקים בקולחים, ואף מוסעות למי התהום. חומרים אלה עלולים לחדור לשרשרת המזון ולמי השתייה.
- קצבי הפירוק המיקרוביאלי של החומרים הרפואיים השווים בקרקע נבדקו באמצעות ניסוי מבוקר, שקרקעות לס הושקו בו בקולחים ובמים שפירים.
- במחקר נמצא כי הגורם העיקרי המשפיע על שיעוריות חומרים רפואיים בקרקע הוא תכונות החומרים עצמם ולא איכות מי ההשקיה או מרקם הקרקע.
- קצבי הפירוק המהירים ביותר שנמצאו הם ימים ספורים, אך אפילו בזמן זה עשויים החומרים להיקלט בצמחים או לעבור פירוק כימי ופיזיקלי. תוצרי הפירוק עשויים להזיק לסביבה אף יותר מן החומרים המקוריים.

המערכת

תקציר

חומרים רפואיים וחומרים הידועים כמשבשי פעילות הורמונלית נמצאו בשפכים מטופלים ובגופי מים עיליים שקולחים מוזרמים אליהם. בישראל, שהקולחים בהם כ-50% ממי ההשקיה, עולה חשש מחשיפת הסביבה החקלאית למזהמים אלה. בהגיעם לקרקע, חשופים החומרים הרפואיים למגוון תהליכים הקובעים את גורלם ואת התנהגותם בסביבה. עבודה זו מתמקדת בחקר קצבי הפירוק המיקרוביאלי של חומרים רפואיים שנמצאו בקולחים המשמשים להשקיה. אנו מניחים כי מידע זה יעזור להעריך את מידת השויות בקרקע ואת הסכנות הסביבתיות והבריאותיות הנגזרות מחשיפת קרקע חקלאית לחומרים רפואיים.

ניסויי הדגרה של חומרים רפואיים נערכו בקרקעות לס שהושקו לאורך זמן בקולחים שהכילו חומרים רפואיים או במים שפירים. קצב היעלמות של החומרים הרפואיים הושפע בעיקר מתכונות החומר, וזמני מחצית החיים של החומרים בקרקע נעו בין ימים בודדים למספר שנים. ממצא חשוב ומעניין היה כי מרבית החומרים התפרקו בקצב דומה בקרקעות שהושקו בקולחים ובקרקעות שהושקו במים שפירים. עוד נמצא כי קצב הפירוק הואץ בקרקעות שנדגמו לאחר עונת חורף גשומה לעומת קצבי הפירוק שנמדדו בדגימות בסיום עונת ההשקיה. מחקר זה מספק בסיס נתונים שיכול לשמש להערכה כמותית של שויות חומרים רפואיים שמקורם בקולחים בקרקעות חקלאיות ולבחון את מידת זמינותם לתהליכים כימיים ופיזיקליים ואת פוטנציאל קליטתם על-ידי גידולים חקלאיים.

מבוא

חומרים רפואיים, חומרים הידועים כמשבשי פעילות הורמונלית ומוצרי טיפוח למיניהם, שלא הורחקו במהלך הטיפול בשפכים, נמצאו בקולחים ובגופי מים עיליים ששפכים מטופלים מוזרמים אליהם [9,2]. בישראל, עקב מחסור במים שפירים, הקולחים הם מקור מים משמעותי להשקיה בחקלאות. משום שחומרים אלה נועדו, מעצם הגדרתם, לפעול על מערכות ביולוגיות, עולה החשש מחשיפת הסביבה החקלאית למזהמים אלה שעלולים אף לחדור לשרשרת המזון. חומרים רפואיים המגיעים לקרקע החקלאית נתונים למגוון תהליכים, כגון חלחול והסעה למי תהום, ספיחה, פירוק מיקרוביאלי וקליטה על-ידי צמחים. חקר של התהליכים, קצבם ועוצמתם יאפשר הבנה מעמיקה לגבי גורל חומרים אלה בסביבה, וכן הערכת סיכונים הקשורים לתופעה.

התמרה (transformation) ומינרליזציה בתהליך מיקרוביאלי הם מנגנונים מרכזיים להרחקה של חומרים רפואיים מהסביבה [8]. זמן מחצית החיים שמחושב מניסויי הדגרה של מזהמים בקרקע הוא מדד כמותי לקצב היעלמות המזהם בסביבה הנחקרת. יתרה מזאת, המדד הכמותי יכול לשמש כלי עזר להערכת שויות החומר וזמינותו לתהליכים אחרים בסביבה. לדוגמה, בכל הקרקעות זמני מחצית החיים של משככי הכאבים ibuprofen, naproxen ו-diclofenac קטנים מ-20 יום. עם זאת, זמני מחצית החיים שלהם היו ארוכים יותר עם העלייה בתכולת החרסית בקרקע במהלך ההדגרה [7,11]. לעומת זאת, עבור מווסת השומנים בדם gemfibrozil דווח על זמן מחצית חיים של כ-18 יום ללא תלות משמעותית בתכולת החרסית [4].

מחקרים מעטים בחנו את פירוק המיקרוביאלי של חומרים רפואיים בקרקעות חקלאיות, ולמיטב ידיעתנו טרם פורסמו עבודות שבחנו פירוק של חומרים רפואיים בקרקעות המושקות בקולחים. בעבודה זו נבחנו ההשפעה של איכות מי ההשקיה, של מרקם הקרקע ושל מחזור הגידול על קצבי הפירוק בקרקע. השערות המחקר העיקריות הן שקצב הפירוק יושפע מהתכונות הכימיות והפיזיקליות של החומר הרפואי, וכן שחשיפה ארוכת טווח של הקרקע לחומרים אלה (עקב השקיה ממושכת בקולחים המכילים חומרים רפואיים) תביא להאצה בקצב פירוקם, בדומה לידוע על שימוש עקבי בחומרי הדברה [12]. לצורך ניסויי ההדגרה נדגמו קרקעות לס מצפון הנגב, בעלות מרקמים שונים, שנחשפו לחומרים רפואיים דרך השקיה בקולחים, וכן קרקעות זהות שהושקו במים שפירים ללא חשיפה מוקדמת לחומרים רפואיים.

חומרים ושיטות

בניסויי ההדגרה נעשה שימוש בקרקעות לס שמקורן בצפון הנגב, אזור המושקה בקולחים. הקרקעות נדגמו ממערך ליזימטרים (חביות קרקע המדמות תנאי שדה) הממוקם במו"פ לכיש. הקרקעות נבדלות בתכולת החרסית שלהן (13, 7 ו-31%, להלן ייקראו H-L, M, בהתאמה). הדגימות נערכו בשלושה מועדים: (א) בזמן קציר כרוב סיני שהושקה בקולחים שניוניים או במים שפירים (פברואר 2011); (ב) לאחר עונה גשומה ללא גידול (מאי 2011); (ג) בסיום גידול גזר שהושקה בקולחים שניוניים או במים

שפירים (ספטמבר 2011). הקרקעות שהושקו בקולחים נחשפו לחומרים הרפואיים בריכוז אופייני למים אלה (1 מיקרוגרם לליטר) [2]. קרקעות שהושקו במים שפירים לא נחשפו מעולם לחומרים הרפואיים. מיד לאחר הדגימות מהשטח החל ניסוי הדגרה של החומרים הרפואיים: החומר carbamazepine הנפוץ בטיפול בפרנסים, החומרים נוגדי הדלקות – naproxen, ibuprofen ו-diclofenac וחומרים לוויסות שומנים בדם – gemfibrozil ו-bezafibrate. החומרים הוספו לקרקע בריכוז התחלתי של 5 מיקרוגרם/גרם, המאפשר ניתוח מדויק של קצב הפירוק. הקרקעות הודגרו בחדר חשוך, בטמפרטורה של 25 מעלות צלזיוס ובתכולת רטיבות קבועה לכל קרקע. החומרים מוצו מהקרקע על-ידי טלטול עם מתנול ועם 0.0125 M NaOH). המיצוי נערך פעמיים לקבלת יכולת השבה גדולה מ-95%. ריכוז החומרים בתמיסת המיצוי נבדק בכרומטוגרפיית נוזלים תוך שימוש בסטנדרטים חיצוניים. זמן מחצית חיים ($t_{1/2}$) חושב לפי מודל פירוק מסדר ראשון על סמך הנוסחה:

$$C_t = C_0 \times e^{-kt}$$

כאשר C_t הוא הריכוז בזמן מסוים (מיקרוגרם/גרם קרקע), C_0 הוא הריכוז ההתחלתי (מיקרוגרם/גרם קרקע), k הוא קבוע הקצב (1/ימים) ו- t הוא הזמן (ימים).

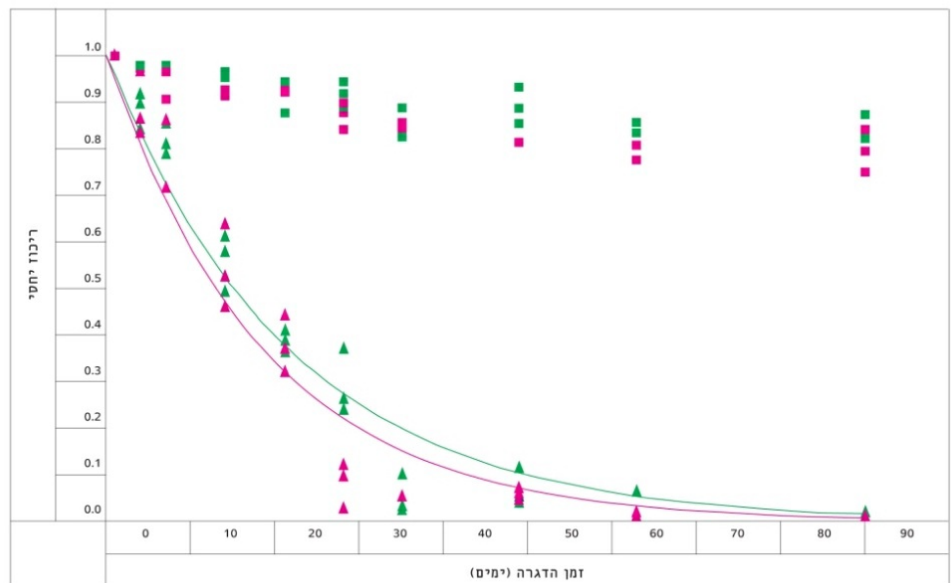


זוות הליזימטרים במ"פ לכיש | צילום: תומר מלחי

תוצאות ודיון

החומר carbamazepine הראה יציבות לפירוק מיקרוביאלי בכל הקרקעות, בכל טיפולי ההשקיה ובכל הדגימות. יציבות עומדת בניגוד לחומרים האחרים שהתפרקו במהלך ההדגרה, כפי שניתן לראות עבור החומר bezafibrate (איור 1). חשוב לציין כי היעלמות החומרים מהקרקע היא תוצאה של פעילות מיקרוביאלית, וזאת משום שבעקבות הדגרה בתנאים אלה אין בקרקעות מעוקרות, לא נצפתה ירידה בריכוז החומרים. הירידה בריכוז carbamazepine לאחר הדגרה ממושכת של 90 יום מיוחסת לתהליכי קיבוע בלתי הפיכים (aging) בקרקע, שחלק מהם נגרם הודות לחברה המיקרוביאלית בקרקע. יציבות של החומר carbamazepine לפירוק ביולוגי (בעל זמן מחצית חיים של למעלה משנה) כפי שהיא מוצגת באיור 1 מתאימה להגדרתו כסמן לזיהום אנושי [5, 10]. עקב יציבותו של החומר, התנהגותו בקרקעות השונות לא מוצגת עם שאר החומרים, וזמן מחצית החיים שלו לא חושב על פי מודל הפירוק לפי סדר ראשון. לעומת עמידותו לפירוק מיקרוביאלי בקרקע כפי שנמצא בעבודה זו, דווח כי ניתן לפרק אותו בעזרת תרבית נקיה של פטריות ממשפחת הריקבון הלבן, כדוגמת *Pleurotus ostreatus*.

איור 1. פירוק מיקרוביאלי של חומרים רפואיים במהלך הדגרה בקרקע לס carbamazepine המשמש לטיפול בפרוכוסים (ריבועים), bezafibrate המווסת שומנים בדם (משולשים), קרקע שהושקתה בקולחים (ורוד כהה) וקרקע שהושקתה במים שפירים (ירוק). ההתאמות למודל פירוק מסדר ראשון עבור bezafibrate מחוורות בקווים רציפים.



איור 1

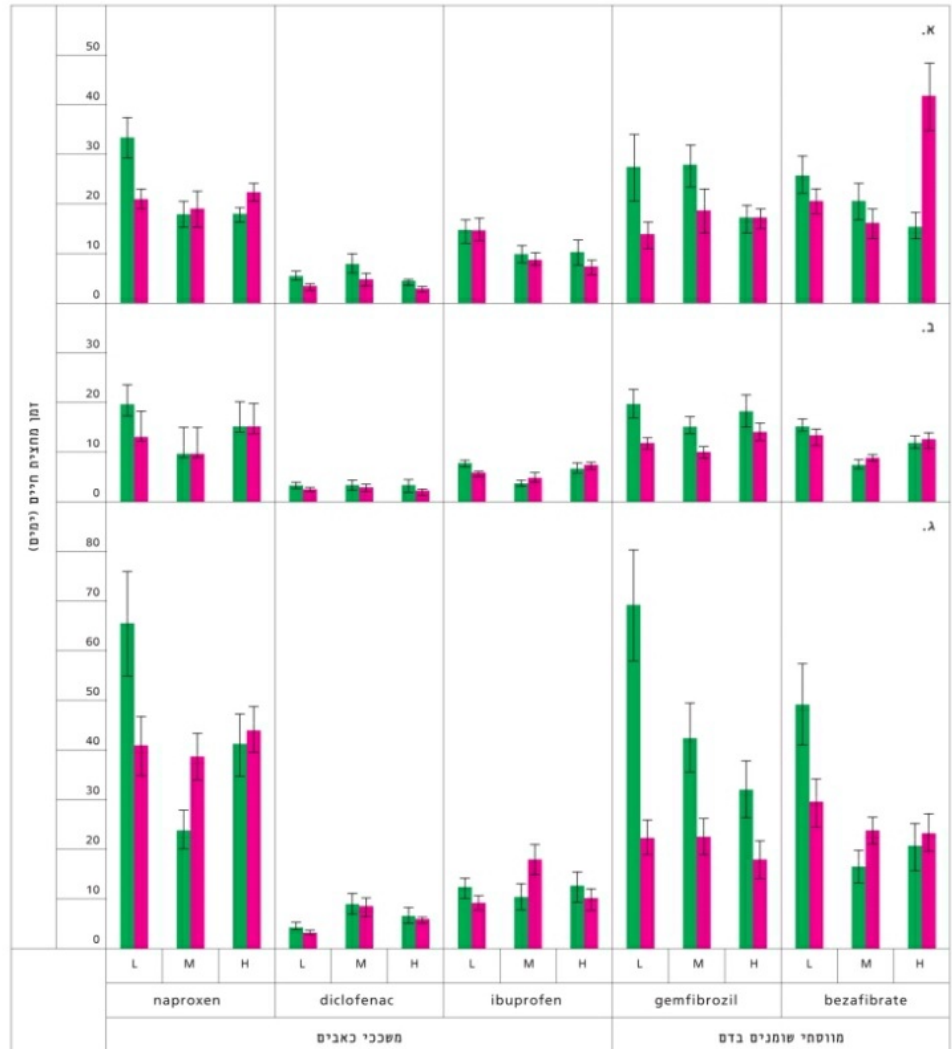
פירוק מיקרוביאלי של חומרים רפואיים במהלך הדגרה בקרקע לס

carbamazepine המשמש לטיפול בפרוכוסים (ריבועים), bezafibrate המווסת שומנים בדם (משולשים), קרקע שהושקתה בקולחים (ורוד כהה) וקרקע שהושקתה במים שפירים (ירוק). ההתאמות למודל פירוק מסדר ראשון עבור bezafibrate מתוארות בקווים רציפים.

ניכר כי קצב היעלמות של החומרים naproxen-ו ibuprofen, diclofenac, bezafibrate, gemfibrozil מושפע בראש ובראשונה מתכונות החומר, שכן תבנית זמני מחצית החיים דומה בין קרקעות (L, M, H; [איור 2](#)) ואף בין מועדי הדגימות (א, ב, ג; [איור 2](#)). סדר היעלמות החומרים במהלך ההדגרה בקרקעות השונות נשמר, והוא כדלהלן – החומרים קלי הפירוק ($t_{1/2}$ של ימים בודדים): diclofenac-ו ibuprofen; העמידים יותר ($t_{1/2}$ של מספר שבועות): bezafibrate, gemfibrozil-ו naproxen; החומר העמיד ביותר ($t_{1/2}$ של carbamazepine של מספר שנים).

איור 2. זמני מחצית החיים עבור החומרים הרפואיים בניסויי הדגרה שנערכו בקרקעות לאחר גידול כרוב סיני (א), לאחר עונה חורפית גשומה ללא גידול (ב) ובסוף גזר קיצי (ג)

עמודות בוורוד כהה מייצגות נתונים מקרקעות שהושקו בקולחים, ועמודות בירוק – מקרקעות שהושקו במים שפירים. החומרים עברו הדגרה בקרקעות לס בעלות תכולת חרסית נמוכה (L), בינונית (M) וגבוהה (H). קו השגיאה בשחור מסמן רווח בר-סמך (95%).



איור 2

זמני מחצית החיים עבור החומרים הרפואיים בניסויי הדגרה שנערכו בקרקעות לאחר גידול כרוב סיני (א), לאחר עונה חורפית גשומה ללא גידול (ב) ובסוף גזר קיצי (ג)

עמודות בוורוד כהה מייצגות נתונים מקרקעות שהושקו בקולחים, ועמודות בירוק – מקרקעות שהושקו במים שפירים. החומרים עברו הדגרה בקרקעות לס בעלות תכולת חרסית נמוכה (L), בינונית (M) וגבוהה (H). קו השגיאה בשחור מסמן רווח בר-סמך (95%).

תופעה מעניינת נוספת היא שעבור מרבית החומרים הנבדקים לא נמצאה תלות ישירה בין זמן מחצית החיים ואיכות ההשקיה. כלומר, עבור אותו חומר נמצא זמן מחצית חיים דומה אם נחשף לקרקע בעלת היסטוריה של השקיה בקולחים או לקרקע מאותו סוג שהושקתה במים שפירים. תוצאות אלה מדגישות כי חשיפה מוקדמת לחומר רפואי בריכוז סביבתי (עם השקיה בקולחים) לא האיצה את היעלמותו. תופעה זו שונה מהידוע על חומרי הדברה, ששימוש עקבי בהם מאיץ את היעלמותם מהקרקע עקב העשרת הקרקע באוכלוסיות מיקרוביאליות האחראיות לפירוק^[12]. ייתכן שמשך הזמן שהקרקעות נחשפו בו לחומרים רפואיים לא היה מספיק לצורך העשרת אוכלוסיות מפרקות, וכן כי ריכוז החשיפה היה מתחת לסף הרגישות הדרוש ליצירת ההשפעה על החברה המיקרוביאלית בקרקע. יוצא מן הכלל הוא החומר gemfibrozil, שעבורו חושבו זמני מחצית חיים צרים יותר בקרקעות שהושקו בקולחים.



ידול של גזר בליזימטר, במ"פ לכיש | צילום: תומר מלחי

בניגוד למחקרים דומים [7,11], נראה כי תכולת החרסית בקרקע לא השפיעה על קצב היעלמות החומרים (הפירוק בקרקעות, L, H-I היה דומה, [איור 2](#)), ודווקא התנאים הסביבתיים (מחזור הגידול) השפיעו יותר על קצב הפירוק. ניכר כי לאחר עונה חורפית גשומה ללא גידול ([איור 2](#)) היה קצב היעלמות החומרים מהיר יותר, וכן אחיד יותר בין הדוגמאות מהליזימטרים השונים. אנו משערים כי קציר הכרוב הסיני (סוף עונת ההשקיה הראשונה) הותיר בקרקע נפח שורשים גדול שהפך לחומר אורגני זמין וקל פירוק, ועודד חילוף חומרים משולב (cometabolism) של החומרים הרפואיים. שילוב נפח השורשים, כאמור, עם ההתחממות העונתית, עם העלייה בתכולת הרטיבות ועם הדחת המלחים מהקרקע הגביר ככל הנראה את הפעילות המיקרוביאלית הכללית ואת קצב הפירוק.

מסקנות

תוצאות מחקר זה מצביעות כי שיוניות של חומרים רפואיים בקרקע נקבעת בעיקר על פי תכונות החומר ולא על פי איכות מי ההשקיה (קולחים או שפירים) או מרקם הקרקע. כמו כן ניתן להסיק כי הפירוק המיקרוביאלי בקרקע מושפע מעונת השנה ומהגידול החקלאי, וייתכן שהוא קשור לשינויים שנמצאו לאחרונה בחברת המיקרואורגניזמים בקרקע בהשפעת ההשקיה בקולחים והאפקט העונתי [3]. הנתונים המופיעים בעבודה זו מלמדים כי הפירוק המיקרוביאלי של החומרים הרפואיים הקלים ביותר לפירוק מתבצע בטווח של ימים אחדים. פרק זמן זה ארוך מספיק כדי לאפשר לחומרים לעבור תהליכים כימיים ופיזיקליים בקרקע ואף תהליכים ביולוגיים, כמו למשל קליטה על-ידי צמחים. בעבודה זו התייחסנו להיעלמות חומר המוצא בלבד, אך יש לנטר גם את תוצרי פירוק [1] שעלולים להיות בעלי השפעה סביבתית העולה על זו של חומר המוצא. התוצאות המוצגות כאן נמדדו במהלך הדגרה של החומרים הרפואיים בריכוז גבוה יחסית בקרקע. כדי להבין את השפעת ריכוז החשיפה על השיוניות אנו בודקים בימים אלה את קצבי הפירוק של חומרים רפואיים בריכוז הקיים בסביבה.



בית מרקחת – מיצג של האמן Damien Hirst | צילום: Joe Fisher ©

תודות

תודות לקרן לבריאות וסביבה על מימון המחקר וליונה חן וחורחה טרצ'צקי על השיתוף הפעולה במערך הליזימטרים במו"פ לכיש.

מקורות

1. דנור י. 2011. פירוק מיקרוביאלי של חומרים רפואיים בקרקעות חקלאיות המושקות בקולחים (עבודת גמר לתואר מוסמך). ירושלים: האוניברסיטה העברית בירושלים.

2. Chefetz B, Mualem T, and Ben-Ari J. 2008. Sorption and mobility of pharmaceutical compounds in soil irrigated with reclaimed wastewater. *Chemosphere* **73**: 1335-1343
3. Elifantz H, Kautsky L, Mor-Yosef M, et al. 2011. Microbial activity and organic matter dynamics during 4 Years of irrigation with treated wastewater. *Microbial Ecology* **62**: 973-981
4. Fang Y, Karnjanapiboonwong A, Chase DA, et al. 2012. Occurrence, fate, and persistence of gemfibrozil in water and soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* **31**: 550-555
5. Gasser G, Rona M, Voloshenko A, et al. 2011. Evaluation of micropollutant tracers. II. Carbamazepine tracer for wastewater contamination from a nearby water recharge system and from non-specific sources. *Desalination* **273**: 398-404
6. Golan-Rozen N, Chefetz B, Ben-Ari J, et al. 2011. Transformation of the recalcitrant pharmaceutical compound carbamazepine by *Pleurotus ostreatus*: Role of cytochrome P450 monooxygenase and manganese peroxidase. *Environmental Science and Technology* **45**: 6800-6805
7. Lin KD and Gan J. 2011. Sorption and degradation of wastewater-associated non-steroidal anti-inflammatory drugs and antibiotics in soils. *Chemosphere* **83**: 240-246
8. Maeng SK, Sharma SK, Abel CDT, et al. 2011. Role of biodegradation in the removal of pharmaceutically active compounds with different bulk organic matter characteristics through managed aquifer recharge: Batch and column studies. *Water Research* **45**: 4722-4736
9. Ternes TA. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* **32**: 3245-3260
10. Walters E, McClellan K, and Halden RU. 2010. Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids-soil mixtures in outdoor mesocosms. *Water Research* **44**: 6011-6020
11. Xu J, Wu LS, and Chang AC. 2009. Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere* **77**: 1299-1305
12. Zabolowicz RM, Weaver MA, and Locke MA. 2006. Microbial adaptation for accelerated atrazinemineralization/degradation in Mississippi Delta soils. *Weed Science* **54**: 538-547