



PROGRAM PROSTŘEDÍ PRO ŽIVOT

ODBORNÁ ZPRÁVA O ŘEŠENÍ PROJEKTU ZA ROK 2023

ČÍSLO PROJEKTU: **SS06020173**

NÁZEV PROJEKTU: **Metody snižující rizika cirkulace veterinárních léčiv
v životním prostředí**

DOBA ŘEŠENÍ: **04/2023 – 12/2025**

ZÁKLADNÍ INFORMACE O PROJEKTU

Cíl projektu:

Cílem projektu je vyvinout relevantní technologie pro stanovení obsahu vybraných léčiv v organických hnojivech a rostlinách a definovat rizika oběhu veterinárních léčiv a jejich reziduí v životním prostředí. Dalším cílem je poskytnout komplexní informace o translokaci těchto látek z kořenů do nadzemních částí rostlin, jejich biotransformaci či akumulaci mateřských látek a jejich metabolitů v různých typech pletiv. Tyto poznatky poslouží k vytvoření technologie využití energetických plodin pro fytořemediaci takto znečištěných půd. Výsledky projektu uvedou do praxe technologie pro nakládání s chlévskou mrvou ošetřených zvířat způsobem bez negativních dopadů v systému hnojivo-půda-rostlina.

Účastníci projektu:

Hlavní příjemce: Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.

Další účastník: Agrovýzkum Rapotín, s.r.o.

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

VÚCHS Rapotín, s.r.o.

Výsledky projektu:

SS06020173-V1

Úprava a nakládání s chlévskou mrvou zaléčeného skotu, Ztech - Ověřená technologie, 12/2025

Realizace probíhá

SS06020173-V2

Technologie stanovení anthelmintik a jejich reziduí v půdě a rostlinných pletivech, Ztech -
Ověřená technologie, 12/2025

Realizace probíhá

SS06020173-V3

Fytořemediační technologie k odstranění anthelmintik z životního prostředí, Ztech – Ověřená
technologie, 12/2025

Realizace probíhá

- popis řešení projektu se zdůrazněním podstatných činností, které jste během sledovaného období provedli, popř. zdůvodnění různých zpoždění a změn v plnění naplánovaného harmonogramu projektu a dosahování výsledků projektu;

1. Sběr vzorků ve stájích (Agrovýzkum Rapotín s.r.o)

1.1. Experimentální zvířata

V reálných provozních podmínkách byla sbírána chlévská mrva od skupiny zvířat odčervěných anthelmintiky v porovnání se skupinou zvířat bez podání léčiv, tzn. neodčervěnými. První a druhý sběr proběhl na jaře, kdy byly podány zvířatům dva druhy anthelmintik. Třetí sběr chlévské mrvy proběhl na podzim. Zvířatům nebyla 3 měsíce před odčervěním podána žádná jiná léčivá látka.

Zvířata byla krmena krmnou dávkou složenou z travní senáže, kukuřičné siláže, slámy a šrotu s minerální směsí.

Skupina zvířat byla složena z krav, jalovic a telat různého stáří a hmotnosti. Skot je chován v systému BTPM (bez tržní produkce mléka), tzn. jako masný skot. Zvířata jsou kříženci především plemen Limousine, Český strakatý, Wagyu, Charolais.



Foto 1: Stáj se skupinou zvířat, u kterých nebyla aplikována léčiva (skupiny neodčervěných zvířat)



Foto 2: Stáj se skupinou zvířat, u kterých byla aplikována léčiva (skupiny odčervených zvířat)

1.2. Podání léčiv – anthelmintik

1. Podání léčiv – skupina 20 kusů zvířat (krávy) byla odčervena lékem **Biomec** s léčivou látkou **Ivermectin** (IVM), který byl podán subkutánně (0,2 mg ivermectinu/kg ž.hm.). Skupina 20 kusů zvířat (krávy) byla ponechána bez odčervení, tzn. jako kontrolní vzorek. Léčivo bylo podáno 3.4. 2023. Sběr chlévské mrvy byl uskutečněn 5.4. 2023. Chlévská mrva byla sbírána zvlášť od léčených zvířat a zvlášť od zvířat bez podání léčiva.
2. Podání léčiv – skupina 17 kusů (krávy a telátka) byla odčervena lékem **Aldiverm** 100 mg/ml perorální suspenzí s účinnou látkou **Albendazol** (ABZ). Dávka účinné látky je 7,5 mg albendazolu/kg ž.hm. Přípravek byl podán aplikátorem přímo do tlamy zvířete držného ve fixační kleci. Skupina 19 kusů zvířat (krávy a telátka) byla ponechána bez odčervení, tzn. kontrolní skupina. Léčivo bylo podáno 19.4.2023. Sběr chlévské mrvy proběhl ve dvou termínech – 20.4. a 24.4.2023.

3. Podání léčiv – skupina 42 kusů (jalovice) byla odčervena lékem **Aldiverm** 100 mg/ml perorální suspenzí s účinnou látkou *Albendazol*. Dávka účinné látky je 7,5 mg albendazolu/kg ž.hm. Přípravek byl podán aplikátorem přímo do tlamy zvířete drženého ve fixační kleci. Skupina 18 kusů zvířat (krávy a jalovice) byla ponechána bez odčervení, tzn. kontrolní skupina. Léčivo bylo podáno 12.10.2023. Sběr chlévské mrvy proběhl ve dvou termínech – 13.10. a 17.10.2023.

1.3. Odběr chlévské mrvy

Chlévská mrva byla odebírána přímo ze stáje. Chlévská mrva byla shrnuta a manuálně rozdělena do 5 směsných vzorků z odčervěných a do 5 směsných vzorků z neodčervěných zvířat. Jeden vzorek vážil zhruba 1 kg. V jarních odběrech byla součástí chlévské mrvy podestýlka (sláma), ale u podzimních odběrů byla podestýlka vynechána z důvodu snadnější manipulace u následných analýz. Vzorky mrvy byly odebrány u zvířat ošetřených albendazolem po 24 hodinách a po 5 dnech. V případě ivermectinu byla mrva odebrána po 48 hodinách od aplikace léčiva.

U chlévské mrvy byly stanoveny základní parametry – pH, živiny (Tabulka 1, analýzy provedeny dle Zbiral et al., 2016). Analýzy odběrů chlévské mrvy z podzimního termínu nebyly v době uzávěrky odborné zprávy plně zpracovány. Výsledky rozborů tak budou zveřejněny v PEZ za rok 2024.

Tabulka 1: Základní parametry chlévské mrvy

Datum odběru	Způsob ošetření	pH	N g/kg suš.	P g/kg suš.	K g/kg suš.
05.04.2023	neodčervená bez léčiv	8,66	14,95	1,64	15,10
05.04.2023	odčervená s léčivy	8,54	13,41	1,34	14,42
20.04.2023	neodčervená bez léčiv	8,17	12,92	1,83	19,79
20.04.2023	odčervená s léčivy	7,55	13,94	3,17	10,00
24.04.2023	neodčervená bez léčiv	9,16	14,79	1,67	17,66
24.04.2023	odčervená s léčivy	9,09	14,95	2,13	15,95

Po odběru byla chlévská mrva zmrazena a uskladněna k pozdějšímu převozu do laboratoří. Dále byla mrva uložena do nádob (Foto 3). V nádobách byla mrva promíchávána a kompostována po dobu 3 měsíců. Další část mrvy byla uzavřena v nádobách bez přístupu vzduchu a zrála 8 týdnů do výsledného produktu hnoje. Nádoby byly umístěny ve stájích, kde byla stálá teplota.



Foto 3: Skladování chlévské mrvy – kompost (otevřené nádoby), hnůj (uzavřené nádoby)

V Tabulce 2 jsou uvedeny odběry chlévské mrvy a její následné zpracování. Varianty (odčervená a neodčervená) byly vždy odebrány v 5 směsných vzorcích.

Tabulka 2: Přehled odběrů a zpracování chlévské mrvy v roce 2023

datum odběru	chlévká mrva - varianty		kompost - varianty		hnůj - varianty	
05.04.2023	neodčervená		neodčervená		-	-
05.04.2023	odčervená	ivermectin	odčervená	ivermectin	-	-
20.04.2023	neodčervená		neodčervená		-	-
20.04.2023	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol	-	-
24.04.2023	neodčervená		neodčervená		-	-
24.04.2023	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol	-	-
13.10.2023	neodčervená		neodčervená		neodčervená	
13.10.2023	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol
17.10.2023	neodčervená		neodčervená		neodčervená	
17.10.2023	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol	odčervená	albendazol

2. Sběr vzorků zeleniny pěstované na půdě s anthelmintiky (Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.)

Zelenina byla pěstována v zemině obohacené *Ricobendazolem*, případně *Albendazolem* s cílem posoudit možnost vstupu anthelmintik do užitkových částí vybraných druhů zeleniny. Koncentrace ricobendazolu (RBZ) a albendazolu (ABZ) byly stanoveny na základě dostupné literatury (Dimunová et al., 2022; Porto et al., 2021). Protože ricobendazol (albendazol sulfoxid, ABZ.SO) je primárním metabolitem albendazolu, lze předpokládat jeho vysokou koncentraci v exkrementech skotu po průchodu léčiva, obsahujícího albendazol, zažívacím traktem.

Pro pokusy byly vybrány druhy zeleniny lišící se v rostlinné části určené ke spotřebě: **ředkvička** „Faraon“ (*Raphanus sativus* var. *Sativus*), **mrkev** „Korina“ (*Daucus carota*), **salát hlávkový** „Cassini“ (*Lactuca sativa* var. *capitata*) a **rajče** „Terion“ (*Solanum lycopersicum*). Rostliny byly pěstovány v květnících ve skleníku, s konstantní dobou osvětlení 16 hod/den a teplotou neklesající pod 20 °C. Květníky obsahovaly 150 g suché zeminy, v případě rajčat 1 kg suché zeminy. Rostliny byly pěstovány vždy v pěti experimentálních skupinách lišících se koncentrací ricobendazolu příp. albendazolu. Jednu skupinu tvořily kontroly, kterým bylo aplikováno rozpouštědlo (DMSO nebo metanol) v příslušné koncentraci. V každé skupině bylo použito 5 květníků s výjimkou rajčat, kde byly použity dva velké květníky, každý s dvěma rostlinami. Aplikace anthelmintik probíhala každý týden současně se zálivkou. Ředkvičky a saláty byly sklizeny po čtyřtýdenním cyklu, plody rajčete byly odebírány postupně po čtyř-, osmi- a dvanáctitýdenní aplikaci a kořeny mrkve byly sklizeny po dvanáctitýdenní aplikaci.

Koncentrace anthelmintik v květníku v době sklizně dosahovaly hodnot ($\mu\text{g/g}$ suché zeminy) uvedených v Tabulce 3.

Tabulka 3: Maximálně možný obsah anthelmintik v zemině v době sklizně.

doba aplikace:	obsah anthelmintik ($\mu\text{g/g}$)					
	4 týdny		8 týdnů		12 týdnů	
	RBZ	ABZ	RBZ	ABZ	RBZ	ABZ
exp. skup. 1	7		14		21	
exp. skup. 2	0.7		1.4		2.1	
exp. skup. 3	0.07		0.14		0.21	
exp. skup. 4	0.7	0.35	1.4	0.7	2.1	1.05

Všechny vzorky po odběru byly usušeny lyofilizací a uchovávány v temnu, aby nedošlo k degradaci sledovaných látek. Vzorky byly transportovány k analýze na FaF UK v Hradci Králové.



Foto 4: Testovaná zelenina pěstovaná ve skleníku

3. Analýza a zpracování vzorků (Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova)

3.1. Extrakční metoda QuEChERS

3.1.1 Výběr vhodné extrakční metody pro chlévskou mrvu a kompost

V předkládaném projektu bylo cíleno na extrakční metodu QuEChERS, respektive na její dva formalizované podtypy. QuEChERS je robustní a reprodukovatelná metoda vhodná pro multireziduální analýzu pesticidů, veterinárních léčiv a dalších kontaminantů v potravinách a v jiných komplexních vzorcích jako jsou například zemědělské produkty. Pro každý z podtypů buď AOAC 2007.01 (dále jen AOAC) nebo EN 15662:2008 (dále jen EN) existuje charakteristická extrakční směs pro dané použití.

Pro přípravu jedné směsi pro EN extrakci je potřeba 4 g bezvodého síranu hořečnatého, 1 g chloridu sodného, 1 g dihydrátu citronanu sodného a 0,5 g citronanu sodného seskvihydrátu a pro AOAC extrakci je potřeba 6 g bezvodého síranu hořečnatého a 1,5 g bezvodého octanu sodného. Obě extrakční směsi byly přímo připravovány v laboratoři. S ohledem na charakteristiku matrice vzorku byl zařazen purifikační krok, disperzní SPE (d-SPE), zajišťující odstranění nečistot a zabarvení z acetonitrilového extraktu matrice. Jako d-SPE byla zkoušena kombinace 150 mg PSA (primární-sekundární amin; N-propyl ethylendiamin; záchyt mastných kyselin, cukrů a polárních pigmentů), 50 mg bezvodého síranu hořečnatého a 50 mg Carbon-S (grafitovaný uhlík; záchyt sterolů a pigmentů) nebo 50 mg Z-sep+ (část oxidu křemičitého pokrytého zirkonem; záchyt lipidů a pigmentů).

3.1.2 Postup extrakce a přečištění vzorků

Stejným postupem byly připraveny reálné i „blankové“ vzorky pro výpočet výtěžnosti reakce. Originální metody QuEChERS pracují se vzorky obsahujícími >90 % vody. Vzorky chlévské mrvy anebo kompostu obsahují nižší množství vody a zároveň i zbytky rostlinné vegetace. Vzorky bylo potřeba rehydratovat přidáním vody.

Do 50 ml centrifugační zkumavky bylo k 5 g chlévské mrvy/kompostu přidáno 10 ml redestilované vody a 10 ml acetonitrilu. K „blankovým“ vzorkům před přidáním acetonitrilu byl napipetován zásobní roztok standardů anthelmintik (1 mg/ml), aby finální koncentrace odpovídala kalibračním bodům K4 a interní standard ABZ-d₃ („blankové“ vzorky před přidáním acetonitrilu se nechaly stát 30 min. při laboratorní teplotě pro inkorporování analytů do matrice). Po 10 minutách třepání byla ke vzorku přisypána extrakční směs (AOAC nebo EN)

ve dvou krocích a 1 minutu třepána v ruce „hlava pata“ (exotermní reakcí solí s vodou se vzorek samovolně zahřívá). Směs byla dále třepána 5 minut na třepačce a poté centrifugována po dobu 10 minut, při 4 200 rpm, kdy dochází k oddělení jednotlivých fází extraktu. Cílové analyty (léčiva) jsou vysoleny do horní acetonitrilové fáze, zatímco polární matriční koextrakty (např. cukry nebo aminokyseliny) zůstanou ve fázi vodné. Alikvotní podíl 2 ml horní fáze obsahující acetonitril byl odebrán do čisté zkumavky se sorbentem (50 mg bezvodého síranu hořečnatého, 150 mg PSA, 50 mg Carbon S nebo Z-sep+). Po 10 minutách třepání a 10 minutách centrifugace (4 200 rpm) bylo 100 μ l supernatantu odpařeno ve vakuovém koncentrátoru při 35 °C v čisté mikrozkuhavce. Konečný odparek byl rekonstituován v 1 ml směsi acetonitril/voda v poměru 50:50 pomocí sonikace a zfiltrován do skleněné vialky přes mikrofiltr (0,22 μ m). Takto připravený vzorek je připraven pro následující LC-MS analýzu. Vzorky jsou před měřením skladovány při 4 °C.

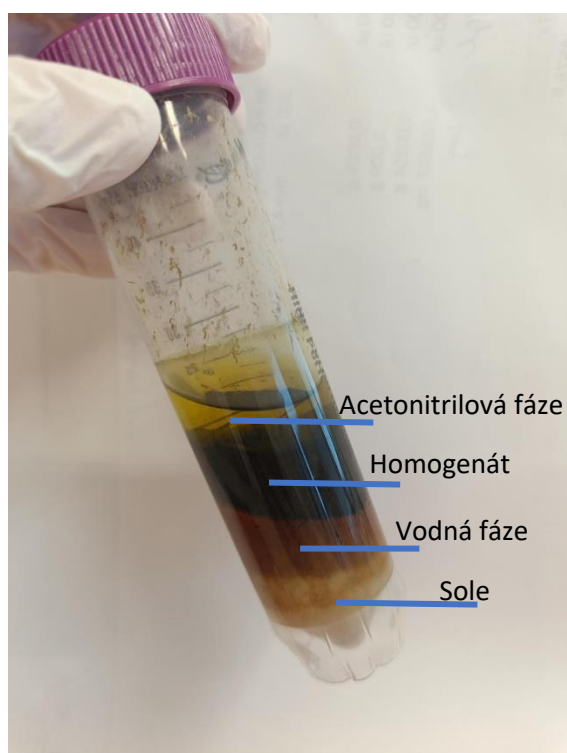


Foto 4: Extrakce tuhou fází QuEChERS

3.2 Identifikace a kvantifikace léčiv ve vzorcích

Pro kvantitativní stanovení sledovaných analytů byla použita metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS/MS). Pro separaci analytů byl použit vysokoúčinný kapalinový chromatograf (LC-20AD Nexera,

Shimadzu, Japonsko) a pro detekci hmotnostní spektrometr (LC-MS 8030, Shimadzu, Japonsko).

Kvůli rozdílným fyzikálně-chemickým vlastnostem sledovaných anthelmintik jsou analyty stanovovány s využitím různých podmínek nastavení kapalinové chromatografie a hmotnostní detekce.

3.2.1 Kapalinová chromatografie

Separace analytů je prováděna za podmínek (Tabulka 4) níže popsané kapalinové chromatografie na koloně Zorbax Bonus-RP 50×2.1 mm, 1,8 μm (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) (Stuchlikova et al., 2016).

Mobilní fáze je připravována vždy čerstvě před vlastní analýzou. Pro analýzu byla zvolena gradientová eluce s mobilní fází 0,5 mM octanu amonného (A) a acetonitrilu (B), obě fáze s přídavkem 0,1 % kyseliny mravenčí pro zajištění lepší ionizace stanovovaných analytů.

Před vlastní analýzou se provádí stabilizace systému promytím kolony alespoň 30 minut mobilní fází startovacím poměrem do ustálení teploty kolony v termostatu. Následně probíhá nástřik dvou až tří směsí standardů pro verifikaci systému a k ověření retenčních časů stanovovaných analytů.

Tabulka 4: Parametry separace kapalinové chromatografie pro benzimidazolová léčiva

Parametry			
Teplota kolony	40 °C		
Objem nástřiku	2 μl		
Průtok	0,4 ml/min.		
Doba analýzy	12,51 min.		
Gradient	Čas [min.]	A	B
	0,30	90	15
	10	50	50
	10,2	90	10
	12,5	90	10
	12,51	stop	stop

3.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Pro detekci sledovaných analytů byl použit hmotnostní spektrometr s elektrosprejovou ionizací (pozitivní mód, ESI+) a trojitým kvadrupólem (QQQ).

Sledované analyty jsou identifikovány na základě charakteristických fragmentačních přechodů mateřských iontů na ionty dceřiné, tzv. MRM přechody (multiple reaction

monitoring). Jednotlivé MRM přechody byly naladěny při vývoji metody pomocí základních standardů anthelmintik (Stuchlikova et al., 2016). Optimální parametry detekce jsou popsány níže v Tabulce 5.

Tabulka 5: Parametry hmotnostní detekce pro benzimidazolová léčiva

Parametry	
Ionizace	ESI +
Detekční mód	MRM
Napětí na kapiláře	4.5 kV
Teplota DL kapiláry	250 °C
Teplota vyhřívaného bloku	400 °C
Zmlžující plyn, průtok	N ₂ , 12 l/min.
Sušící plyn, průtok	N ₂ , 3 l/min.

3.3. Vyhodnocení

3.3.1 Vyhodnocení výběru extrakční metody QuEChERS

Volba vhodné extrakční metody QuEChERS byla provedena na základě porovnání dvou metod (AOAC a EN) a tří typů přečištění (d-SPE; složení jednotlivých směsí je uvedeno v kapitole 3.2.1). Vyhodnocení probíhalo na základě srovnání jednotlivých intenzit (poměr signál/šum) sledovaných analytů, čistoty analyzovaných vzorků, časové náročnosti a cenové dostupnosti.

Sledovaná intenzita jednotlivých analytů u chlévské mrvy byla vyšší u metody extrakce AOAC než u EN, zatímco u kompostu tomu bylo naopak. Při porovnání d-SPE metod, se sledovaná intenzita jednotlivých analytů pohybovala obdobně, proto byl ve výsledku brán zřetel především na čistotu vzorků, kdy se ukázala jako nejlepší směs s přídavkem Carbon-S, který zcela zbavil vzorek pigmentů a byl tedy čirý. Jednotlivé skupiny anthelmintik (benzimidazolová léčiva a avermectiny) se chovaly při analýze podobně. Časová náročnost a cena byla u všech porovnávaných metod rovněž obdobná.

3.3.2 Vyhodnocení identifikace a kvantifikace

Identifikace sledovaných analytů se provádí na základě sledování hmot (m/z) specifických MRM přechodů a také porovnáním retenčních časů analytů ve vzorku s příslušnými standardy (Tabulka 6).

Kvantitativní vyhodnocení je založeno na metodě vnitřního standardu porovnáním odezvoových charakteristik kvantifikačních iontů analytů s příslušnými standardy pomocí kalibrační závislosti v koncentračním rozsahu 0,05 – 0,8 µg/ml. V případě velkých sérií vzorků

je řada kalibračních standardů analyzována opakovaně vždy po nástřiku 15-20 reálných vzorků. Kalibrace je zpracovávána v programu Microsoft Excel; linearity kalibračních závislostí jsou kontrolovány pomocí regresního koeficientu (R_2). Při sestavování kalibračních závislostí pro jednotlivé analyty je nutno používat takové koncentrace standardů, aby odezvy analytů ve vzorcích ležely v rozsahu kalibrace (mezi odezvou nejnižšího a nejvyššího bodu kalibrační závislosti). V případě, že odezva není v rozsahu kalibrace, je nutné vzorek naředit.

Vyhodnocení jednotlivých analýz probíhalo v programu Software LabSolution 5.93 (Shimadzu, Japonsko).

Tabulka 6: Výsledné koncentrace sledovaných analytů v chlévské mrvě

Datum odběru	ABZ [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	ABZ.SO [$\mu\text{g}/\text{kg}$]
13.10. 2023	11,13 \pm 0,44	11,93 \pm 2,60
17.10. 2023	3,32 \pm 0,49	3,81 \pm 0,58

VÝSTUPY PROJEKTU

V prvním roce řešení bylo vydáno sdělení v bulletinu Výzkum v chovu skotu, který shrnuje popis zpracování chlévské mrvy. Článek informuje o řešení projektu a je řazen mezi ostatní výsledky. Není zařazen do závazných výsledků/parametrů projektu.

Druh výsledku O – Bilošová, H. (2023): Chlévská mrva – základ kvalitního organického hnojiva. Výzkum v chovu skotu, 65 (3), 31-32.

Literatura:

Zbírál, J., Čižmárová, E., Obdržálková E., Rychlý, M., Vilamová, V., Srnková, J., Žalmanová, A. (2016): Analýza půd I – jednotné pracovní postupy. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, ISBN 978-80-7401-123-8, s. 301.

Dimunová, D., Matousková, P., Navrátilová, M., Nguyen, L.T., Ambroz, M., Vokrál, I., Szotáková, B., Skálová, L., 2022. Environmental circulation of the anthelmintic drug albendazole affects expression and activity of resistance-related genes in the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. Science of the Total Environment 822.

Porto, R.S., Pinheiro, R.S.B., Rath, S., 2021. Leaching of benzimidazole antiparasitics in soil columns and in soil columns amended with sheep excreta. Environmental Science and Pollution Research 28, 59040-59049.

Stuchlikova, L., Jirasko, R., Skalova, L., Pavlik, F., Szotakova, B., Holcapek, M., Vanek, T., Podlipna, R., 2016. Metabolic pathways of benzimidazole anthelmintics in harebell (*Campanula rotundifolia*). *Chemosphere* 157, 10-17.

• *způsob zapojení jednotlivých členů konsorcia do řešení projektu a popis jejich spolupráce*

Zvírata a stáje, kde probíhalo odčervení a sběr mrvy je majetkem podniku VÚCHS, který také zajišťoval veškerou manipulaci se zvířaty a sběrem chlévské mrvy. Chov skotu a odběr chlévské mrvy od kontrolních a anthelmintiky ošetřených zvířat byl koordinován Agrovýzkumem Rapotín, s.r.o., stejně tak její kompostování a produkce hnoje. Dále Agrovýzkum zajišťoval skladování, distribuci a základní rozbor vzorků. Všechny tyto komodity byly ve zmrazeném stavu transportovány na pracoviště Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové, kde byla testována vhodná metoda pro kvantifikaci anthelmintik v těchto matricích. Současně na pracovišti ÚEB AVČR byla pěstována zelenina v zemině obohacené anthelmintiky s cílem posoudit možnost jejich akumulace v užitkových částech vybraných druhů zeleniny.

První koordinační on-line schůzka všech řešitelů proběhla 17. 4. 2023. Na schůzce byl řešen harmonogram prací a celkové nastavení řešení projektu. Dne 6.6.2023 proběhlo prezenční setkání řešitelského týmu v Rapotíně. Zde proběhla obhlídka stáje se zvířaty a dále byly shrnuty práce v rámci řešení projektu. Ve dnech 4.10. 2023 a 5.12.2023 proběhly opět on-line koordinační schůzky. Veškeré materiály a podklady týkající se řešení projektu jsou přístupné všem řešitelům na sdílené platformě, kde jsou pravidelně aktualizovány a doplňovány informace.

• *zdůvodnění případných změn ve složení řešitelského týmu a plánovaných úvazků za sledované období*

Složení řešitelských týmů na další období zůstává stejné, pouze v týmu UK došlo ke změně jedné klíčové osoby. Postgraduální studentka Mgr. Navrátilová se v dalším roce už nebude podílet na řešení projektu. Do projektu bude místo ní zapojena RNDr. Lucie Raisová Stuchlíková, Ph.D. se stejným úvazkem, tj. 0,4. Bude se věnovat analýze anthelmintik a jejich metabolitů pomocí UHPLC/MS/MS.

• *zdůvodnění skutečně vynaložených nákladů v rámci sledovaného období (rovněž i se zdůvodněním případných změn oproti plánu atd.)*

ÚEB AVČR:

Osobní náklady (470 tis. Kč) byly čerpány na mzdy odborných pracovníků Radky Podlipné, Petra Soudka a Lenky Langhansové a technického pracovníka Kateřiny Mořkové podle plánu. Ostatní přímé náklady (150 tis. Kč) byly použity především na nákup vybavení pro pěstování rostlin (semena, květníky, zavlažování), drobný laboratorní materiál (sklo a plast), chemikálií (albendazol, NADPH, GSSH, acetonitril), náplně plynových bomb (dusík, argon), suchý led, kancelářské potřeby včetně obalového materiálu pro uchovávání vzorků, opravu hlubokomrazicího boxu a repase kompresoru generátoru dusíku atd. Dále byly čerpány prostředky na zaplacení cest R. Podlipné na společnická pracoviště a transport vzorků. Nepřímé (režijní) náklady tvořily zejména poplatky za el. energii – topení či klimatizaci skleníků a laboratoří. Nevyčerpané prostředky byly převedeny do NUUP a budou využity v příštím roce na spotřební materiál.

Agrovýzkum Rapotín s.r.o.:

Celkové náklady výzkumné organizace byly čerpány dle plánu. Osobní náklady byly čerpány na mzdy řešitele (H. Bilošová), člena řešitelského týmu (O. Látal) a na další dva technické zaměstnance. Další přímé náklady byly použity dle plánu na materiál související s řešením projektu. Do přímých nákladů byly v roce 2023 účtovány osobní náklady řešitelského týmu (517 tis. Kč), laboratorní materiál a chemikálie (61 tis. Kč), anthelmintika (14 tis. Kč), chladič boxy na přepravu vzorků (6 tis. Kč), ochranné pracovní pomůcky (6 tis. Kč), fixace hlavy pro skot (19 tis. Kč). Nepřímé náklady tvořily náklady na el. energii v kancelářích, laboratořích, vodné, stočné, nákl. na admin. a pomocný personál, popl. za telefon, internet a sl. neuvedené výše.

VÚCHS s.r.o.:

Celkové náklady výzkumné organizace byly čerpány dle plánu. Osobní náklady byly čerpány na dalšího řešitele (V. Molnár) a technika. Do přímých nákladů byly v roce 2023 účtovány osobní náklady řešitelského týmu (190 tis. Kč), desinfekční prostředky (24 tis. Kč), ochranné pracovní pomůcky (6 tis. Kč) a veterinární služby (11 tis. Kč). Nepřímé náklady tvořily náklady na el. energii, vodné, stočné, nákl. na admin. a pomocný personál, popl. za telefon, internet a sl. neuvedené výše.

FaF UK

Náklady na projekt na FaF UK byly čerpány podle plánu. Osobní náklady byly čerpány na mzdy společnické (B. Szotáková), členky řešitelského týmu (M. Navrátilová) a postgraduální studentky (N. Rychlá). Další přímé náklady byly použity dle plánu na materiál související s řešením projektu – laboratorní plastik (PP zkumavky na extrakci vzorků 15 ml a 50 ml, pipetovací špičky 0,5-5ml), chemikálie pro extrakci vzorků, rozpouštědla pro UHPLC-MS,

materiál pro přípravu vzorků pro LC analýzu (skleněné vialky, stříkačkové filtry), analytické standardy pro vývoj metody UHPLC-MS (Albendazol-2-aminosulfon, Levamisol hydrochlorid, Thiabendazol, Eprinomectin, Selamektin, Moxidectin), ochranné a úklidové prostředky. Režijní náklady tvořily náklady na elektrickou energii, vytápění laboratoří, vodné, stočné, internet a služby neuvedené výše.

• *jak byl ve sledovaném období naplňován program Prostředí pro život (popř. jeho podprogram, ve kterém byl Váš projekt podpořen) z hlediska jeho (zejména specifického) zaměření*

Řešený projekt se zabývá problematikou, která odpovídá výzkumnému cíli 2.8. Ověření nových metodických přístupů na ochranu fyzikálních, chemických či biologických vlastností zemědělské půdy“. Organické hnojení statkovými hnojivy přispívá k zúrodnování půdy a zvyšování zemědělské produkce, je však třeba monitorovat a minimalizovat riziko cirkulace veterinárních léčiv či jejich reziduí v půdním prostředí a zabránit jejich vstupu do potravního řetězce.

Ve sledovaném období došlo k založení prvotních pokusů a nastavení metodiky měření anthelmintik v chlévské mrvě. Dále byla mrva upravována dle běžné zemědělské praxe, aby bylo možné zjistit koncentraci anthelmintik v organickém hnojivu za reálných podmínek. V prvním roce řešení započaly práce na dosažení výsledku týkajícího se technologie upravující nakládání s mrvou ošetřených zvířat.

• *V případě, že je Váš projekt financován z NPO, potvrďte v odborné zprávě, že nedochází k dvojímu financování, a že nedochází ke střetu zájmů ve smyslu článku 61 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/1046 ze dne 18. července 2018, tj. informace uvedené v Čestném prohlášení ke střetu zájmů jsou stále aktuální.*

Jako hlavní příjemce výše uvedeného projektu čestně prohlašuji, že žádný výdaj či jeho část v projektu nebyla hrazena vícenásobně z několika zdrojů, tedy že nedochází k tzv. dvojímu financování ve smyslu metodických pokynů pro Národní plán obnovy na období 2021-2026.