



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

ANALÝZA REZIDUÍ LÉČIV VE VODÁCH Z MENŠÍCH ČISTÍREN ODPADNÍCH VOD

ANALYSIS OF DRUG RESIDUES IN WATERS FROM SMALL WASTEWATER TREATMENT PLANTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Karolína Pešková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1646/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Karolína Pešková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Analýza reziduí léčiv ve vodách z menších čistíren odpadních vod

Zadání diplomové práce:

1. Vypracovat literární rešerši se zaměřením na domovní a kořenové čistírny odpadních vod, soustředit se na problematiku odstranění léčiv.
2. Vybrat vhodné analyty a optimalizovat metodu stanovení pomocí LC/MS/MS.
3. Analýza reálných vzorků odebraných přímo na konkrétních čistírnách.
4. Zpracování a diskuze výsledků.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

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

Bc. Karolína Pešková
studentka

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu reziduí léčiv v odpadních vodách z čistíren odpadních vod sloužících pro menší zdroje znečištění (do 2000 ekvivalentních obyvatel). Léčiva dostávající se do životního prostředí jsou velmi diskutovaným tématem, zejména kvůli vzniku antibiotické rezistence, negativním vlivům na necílové organismy, rostlinstvo apod.

Práce se v teoretické části věnuje menším čistírnám odpadních vod či kořenovým čistírnám, které dosahují vynikajících výsledků v oblasti odstraňování organického znečištění. Věnuje se jejich detailnějšímu popisu, fungování či rozdělení. Pozornost je věnována léčivům obecně, mechanismům jejich odstranění a metodám jejich stanovení v odpadních vodách. Pro analýzu bylo vybráno celkem 24 léčiv ze skupiny betablokátorů, makrolidových antibiotik, nesteroidních protizánětlivých léčiv, antiepileptik, antidepresiv a sulfonamidů.

V experimentální části diplomové práce byly provedeny odběry vzorků odpadní vody z domovních čistíren odpadních vod (typ AT 6, AT 12 Plus, AT 30 a AT 150) a z dražovické kořenové čistírny. Vzorky byly zpracovány nejprve pomocí optimalizované extrakční metody (extrakce tuhou fází) a následně analyzovány pomocí optimalizované metody UPLC-ESI-MS. Ve všech analyzovaných odpadních vodách byla potvrzena přítomnost reziduí léčiv. Nejvyšší koncentrace byly detekovány u nesteroidních protizánětlivých léčiv – ibuprofenu a diklofenaku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Domovní čistírny odpadních vod, kořenové čistírny odpadních vod, léčiva, extrakce tuhou fází, kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on the analysis of pharmaceuticals residues in wastewater from wastewater treatment plants used for smaller sources of pollution (up to 2000 population equivalent). Pharmaceuticals entering the environment are a highly discussed topic, especially due to the emergence of antibiotic resistance, negative effects on non-target organisms, vegetation etc.

The theoretical part of the thesis deals with smaller wastewater treatment plants or root sewage treatment plants, which achieve excellent results in the field of organic pollution removal. It deals with their detailed description, functioning or division. Attention is paid to pharmaceuticals in general, mechanisms of their removal and methods of their determination in wastewater. In total of 24 drugs from the group of beta-blockers, macrolide antibiotics, non-steroidal anti-inflammatory drugs, antiepileptics, antidepressants and sulfonamides were selected for analysis.

In the experimental part of this diploma thesis, wastewater samples were taken from domestic wastewater treatment plants (type AT 6, AT 12 Plus, AT 30 and AT 150) and from the root sewage treatment plant of Dražovice. The samples were first processed using optimized extraction method (solid phase extraction) and then analyzed using optimized UPLC-ESI-MS method. The presence of pharmaceuticals residues was confirmed in all analysed wastewater. The highest concentrations were detected for the non-steroidal anti-inflammatory pharmaceuticals – ibuprofen and diclofenac.

KEY WORDS

Domestic wastewater treatment plants, root water treatment plants, pharmaceuticals, solid phase extraction, liquid chromatography with mass spectrometry

PEŠKOVÁ, Karolína. Analýza reziduí léčiv ve vodách z menších čistíren odpadních vod. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139323>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

..... podpis studenta

DECLARATION

I declare that the diploma thesis has been worked out by myself and that all the quotations from the used literary sources are accurate and complete. The content of the diploma thesis is the property of the Faculty of Chemistry of Brno University of Technology and all commercial uses are allowed only if approved by both the supervisor and the dean of the Faculty of Chemistry, BUT.

..... student's signature

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování diplomové práce věnovala. Dále děkuji Ing. Janu Fučíkovi, který mi vždy ochotně pomáhal a radil a Ing. Tereze Tulkové za cenné rady. V závěru bych ráda poděkovala Výzkumnému ústavu vodohospodářskému T. G. Masaryka v Brně za poskytnutí odebraných vzorků k analýze.

OBSAH

ÚVOD	9
TEORETICKÁ ČÁST.....	10
1 Kvalita odpadních vod	10
2 Malé čistírny odpadních vod (1-50 EO).....	10
2.1 Bezodtokové jímky (žumpy).....	11
2.2 Domovní čistírny odpadních vod	12
2.3 Jiné způsoby likvidace odpadních vod.....	12
2.3.1 Septiky.....	12
2.3.2 Zemní filtry	13
3 Malé čistírny odpadních vod (50-5000 EO).....	13
3.1 Způsoby čištění	14
3.1.1 Mechanické čištění	14
3.1.2 Biologické čištění.....	14
3.1.3 Chemické čištění	15
4 Kořenové čistírny odpadních vod	15
4.1 Rozdělení kořenových čistíren	15
4.1.1 Rozdělení podle druhu vegetace	16
4.1.2 Rozdělení podle výskytu vodní hladiny	16
4.1.3 Rozdělení podle směru průtoku vody.....	16
4.2 Výstavba a princip kořenových čistíren	17
4.2.1 Předčištění vody	17
4.2.2 Kořenové pole	17
4.2.3 Zemní filtr	18
4.2.4 Rozvod vody	18
4.2.5 Regulace výšky hladiny	18
5 Léčiva na čistírnách odpadních vod	19
6 Léčiva (farmaka)	19
6.1 Definice pojmů.....	19
6.2 Základní kategorie léčiv:.....	21
6.3 Zdroje léčiv	21
6.4 Mechanismy odstranění léčiv	24
6.4.1 Fotodegradace	24
6.4.2 Sorpce.....	24
6.4.3 Biodegradace	24
6.4.4 Pokročilé oxidační procesy	25
6.4.5 Membránové metody.....	25
6.4.6 Aktivní uhlí	25
6.5 Vybraná léčiva.....	26

6.5.1	Betablokátory	30
6.5.2	Makrolidová antibiotika	31
6.5.3	Antidepresiva	32
6.5.4	Antiepileptika	33
6.5.5	Nesteroidní protizánětlivá léčiva.....	33
6.5.6	Sulfonamidy a trimethoprim	34
6.6	Nepříznivý vliv některých vybraných léčiv na necílové organismy	34
6.7	Nepříznivý vliv léčiv na rostliny	36
7	Analytické metody stanovení léčiv ve vodě.....	36
7.1	Extrakce.....	36
7.1.1	Extrakce tuhou fází.....	36
7.2	Kapalinová chromatografie (LC)	40
7.3	Hmotnostní spektrometrie	40
7.3.1	Iontový zdroj (ionizace)	41
7.3.2	Analyzátoary	42
7.3.3	Detektory	42
7.4	Stanovení reziduí léčiv pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí.....	42
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST		45
8	Přístroje a pomůcky.....	45
9	Čistírny odpadních vod	48
9.1	Domovní ČOV (1–20 EO)	48
9.1.1	AT 6 až AT 20 (Plus)	49
9.2	Středně velké ČOV (30–250 EO).....	49
9.2.1	Oválné AT 30 až AT 250	49
9.3	Velké komunální ČOV (300–2000 EO).....	50
10	Kořenová čistírna odpadních vod v Dražovicích	51
11	Filtrace vzorků z čistíren odpadních vod	52
12	Příprava roztoků – interní standardy	52
12.1	Zásobní roztoky ISTD	52
12.2	Směsný zásobní roztok ISTD	52
12.3	Směsný pracovní roztok ISTD	52
13	Příprava roztoků na kalibraci	52
13.1	Směsný roztok	52
13.2	Směsný zásobní roztok.....	52
13.3	Směsný pracovní roztok 1	53
13.4	Směsný zásobní roztok 2	53
13.5	Kalibrace	53
13.6	Kalibrační závislosti jednotlivých léčiv	54

14	SPE – extrakce tuhou fází	55
14.1	Postup	55
15	UPLC-MS/MS	56
15.1	Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ	56
	VÝSLEDKY A DISKUZE	60
16	Optimalizace metody SPE	60
16.1	Optimalizace postupu SPE	60
17	Optimalizace metody UPLC-ESI-TQ	62
18	Výsledná koncentrace vybraných analytů v odpadních vodách	64
18.1	Rezidua léčiv v odpadní vodě z domovních čistíren odpadních vod	72
18.2	Rezidua léčiv v odpadní vodě z kořenové čistírny odpadních vod	72
	ZÁVĚR	74
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	75
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	87
	PŘÍLOHY	89

ÚVOD

Z důvodu měnícího se klimatu dochází k velkému nárůstu počtu lidí, kteří nemají přístup k pitné vodě. Do roku 2030 se předpokládá, že 47 % světové populace bude žít v oblastech, kde bude problém dostat se k pitné vodě. To může vést k nedostatečné produkci plodin, energie, ale i k nepokojům mezi lidmi. Je proto nutno zamyslet se nejen nad šetrnými způsoby využití vody, ale zejména nad její ochranou tzn. neznečišťováním. Celková ochrana vod, ať už povrchových nebo podpovrchových, znamená, že je třeba vyřešit v první řadě problém malých zdrojů znečištění, neboť největší producenti mají čištění odpadních vod vyřešeno [1].

Otázka čištění odpadních vod je už značnou dobu diskutované téma z důvodu stále vyšších požadavků na kvalitu životního prostředí, v tomto případě na čistotu vod podzemních a povrchových. Do oblasti čištění odpadních vod už v minulosti bylo významně investováno a zasahováno různými stavebními pracemi, které měly za následek omezení vypouštěného znečištění z velkých měst, průmyslových zařízení apod. Došlo k pomalému zlepšení kvality vodních zdrojů. V současné době se do popředí zájmu dostávají menší zdroje znečištění, které přicházejí především z menších obcí (cca do 500 ekvivalentních obyvatel), decentralizovaných částí obcí, rekreačních objektů, jakou jsou např. chaty, chalupy, penziony. Jedná se o oblasti, které se potýkají s obtížným problémem, jak naložit s odpadními vodami [2].

Z důvodu zpřísňujících se legislativních požadavků na kvalitu vody na odtoku, od zejména menších producentů znečištění, je třeba se tímto problémem více zabývat. Lidé obývající obce do 500 ekvivalentních obyvatel většinou řeší především ekonomickou stránku, protože vybudování systému hospodaření s odpadní vodou je často velmi finančně náročné, a to jak pro jednotlivce, který vlastní onu nemovitost, tak i pro celou obec. Je proto nutné navrhnout takové řešení, které bude dostatečně účinné, které bude vyhovovat legislativním požadavkům, a které bude respektovat ekonomické možnosti [2].

Znečištění vody léčivý je v současné době velmi palčivým problémem, jelikož spotřeba léčiv dosahuje značně vysokých hodnot. Lidé běžně užívají několik druhů léčiv, které obsahují něco kolem tří set různých účinných látek. Nejčastěji užívanými léčivými jsou analgetika, antibiotika, antidepresiva, hormonální antikoncepce, betablokátory a mnoho dalších. Účinné látky těchto léčiv jsou v lidském těle metabolizovány, a poté je část z nich z těla vyloučena v aktivním stavu. Často se stává, že se lidé léčiv s prošlou dobou použitelnosti zbavují např. spláchnutím do toalety nebo je vyhazují do odpadu. Zhruba dvě třetiny léčiv s prošlou expirační dobou skončí v odpadu a až jedna pětina končí v odpadní vodě. Ke znečištění vody léčivými však může dojít i dalšími způsoby, např. prostřednictvím úniků z výroby humánních či veterinárních léčiv, průsaků ze skládek, zejména černých, které nejsou nijak zabezpečeny proti únikům nežádoucích látek do půdy a dále do podzemních i povrchových vod popřípadě jsou zabezpečeny velmi špatně [3].

TEORETICKÁ ČÁST

1 Kvalita odpadních vod

Hlavním parametrem pro vyjádření znečištění je tzv. ekvivalentní obyvatel (EO). Jde o znečištění, které bylo vyprodukováno 1 obyvatelem a odpovídá průměrnému množství 120 až 150 litrů odpadní vody za den (konkrétní hodnoty jsou uvedeny viz Tabulka 1). Pokud potřebujeme stanovit potřebný výkon čistírny, především části biologické, je kapacita často uváděna v EO. Mezi nejdůležitější parametry posuzující kvalitu odpadní vody řadíme BSK₅, CHSK, NL, Nc, Pc a pH. Rychlost biochemických reakcí v odpadní vodě je do značné míry ovlivněna její teplotou. V našich podmínkách se průměrná roční teplota vody, která přitéká z čistíren, pohybuje v rozmezí 10–20 °C. Malé čistírny odpadních vod jsou na rozdíl od těch městských výrazně citlivější na kolísání teplot, které má nepříznivý vliv na čistící procesy, proto je nutno s touto skutečností počítat například snížením nitrifikačních procesů v zimním období [4, 5].

Látky, které jsou přítomny v odpadní vodě pocházejí z:

- pitné vody, kterou je obyvatelstvo zásobeno,
- produktů metabolismu od živých organismů,
- produktů lidské činnosti v domácnostech (např. prací a čisticí přípravky, zbytky jídel apod.),
- produktů průmyslových a zemědělských činností,
- balastních vod,
- odpadních srážkových vod [4].

Tabulka 1: Hodnoty znečištění na 1 EO [6]

BSK ₅ [G·OS ⁻¹ ·D ⁻¹]	CHSK [G·OS ⁻¹ ·D ⁻¹]	NL [G·OS ⁻¹ ·D ⁻¹]	Nc [G·OS ⁻¹ ·D ⁻¹]	Pc [G·OS ⁻¹ ·D ⁻¹]
60	120	55	11	2,5

2 Malé čistírny odpadních vod (1-50 EO)

Pitnou vodu využíváme v domácnosti při spoustě činností, např. při osobní hygieně, praní, vaření, umývání nádobí, splachování toalety a mnoho dalších. Všechnu vyprodukovanou odpadní vodu je nutno odvádět a nějakým způsobem buď zlikvidovat nebo vyčistit. Odpadní vody nemohou být vypouštěny volně do terénu, do silničních příkopů ani do dešťové kanalizace. Pokud není možné připojení k veřejné kanalizaci s centrální čistírnou odpadních vod, je třeba přemýšlet nad tím, jak problém nejlépe vyřešit, a to právě i v souladu s legislativou. Vzhledem k tomu, že ten, kdo potřebuje odpadní vodu odvádět, může být limitován vlastní ekonomickou situací, umožňuje stávající legislativa (zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů) řadu možností:

- bezodtokovou jímku (žumpu),
- čistírnu odpadních vod,
- jiné způsoby likvidace odpadních vod (septik, zemní filtr atd.) [4].

Důležitou roli při rozhodování by měly hrát referáty životního prostředí. Tyto referáty by měly mít představu o jisté koncepci pro řešení každé lokality s ohledem na budoucnost. V místech, kde je velmi nákladné realizovat kanalizační síť a centrální čistírnu, je lepší objekty sdružit na několik malých čistíren nebo pro každý objekt zrealizovat samostatnou čistírnu, než aby docházelo k akumulaci odpadní vody v bezodtokových jímkách. Je však nutno zvážit reálnost vazby na centrální čistírnu kvůli kapacitě a možným technologickým problémům při společném vývozu daného obsahu jímek. Také je nutno brát v potaz lidský faktor, jelikož v případě bezodtokových jímek u rodinných domů, chat, chalup apod. je známo, že nebývají pravidelně vyváženy. Může tedy dojít k poruše jejich voděodolnosti, ať už úmyslným porušováním nebo nedbalým přístupem. Speciálním případem jsou potom objekty, které se nachází v chráněné oblasti, oblasti se zdroji pitné vody aj. Tam je kladen specifický důraz na způsoby likvidace odpadní vody [4].

2.1 Bezodtokové jímky (žumpy)

V dnešní době je ve většině domácností vodovodní přípojka, koupelna a WC. Při takové výbavě je spotřeba vody zhruba 150 litrů na osobu a den. V tomto případě je nutné, aby jímka měla objem okolo 15–20 m³ pro čtyřčlennou rodinu, při frekvenci vyvážení jednou za měsíc. Obsah jímky musí být pravidelně vyvážen a není možné její obsah vypouštět do vodních toků, příkopů, ani jím přihnojovat pole, louky a zahrady v době vegetace. Je velmi důležité, aby množství odpadní vody bylo kontrolováno kvůli přeplnění jímky. Pokud odpadní voda překročí určitou výšku hladiny, je potřeba odstavit vnitřní kanalizaci. Náklady na odvoz naakumulované odpadní vody například pro čtyřčlennou domácnost činí cca 3500 Kč/měsíc (viz Tabulka 2). Odpadní voda je odvážena do nejbližší centrální čistírny odpadních vod, kde je volná kapacita. Náklady na pořízení samotné jímky, ať už plastové nebo betonové, činí zhruba 55–85 tisíc korun. Plastové jímky představují výhodu v rychlosti stavební práce a její snadné montáže. Půdorys je často zvolen ve tvaru kruhu nebo obdélníku a jímka je usazena pod úroveň terénu. Každá jímka má minimálně jeden otvor o rozměrech 600x600 mm. Jímku je vhodné umístit tak, aby manipulace s odpadní vodou při vyčerpání jímky byla co nejsnazší, a aby případné průsaky nezpůsobily znečištění vodních zdrojů. Aby bylo možné dokonale vyčerpat jímku, je doporučováno, aby dno jímky mělo sklon alespoň 2 % k místu čerpání. Minimální vzdálenost mezi jímkou a stěnou budovy je volena 1 metr [4, 6].

Výpočet velikosti žumpy:

$$V = n \cdot q \cdot t \text{ [m}^3\text{] ,}$$

kde n je počet obyvatel, q je specifická spotřeba vody a t je interval vyvážení.

Jímky je vhodné použít v případě rekreačních objektů nebo domů bez vodovodů, obytných domů nebo rekreačních objektů, které nemají možnost napojení na centrální čistírnu. Dále pro obytné domy a rekreační objekty, kde chybí recipient pro vypouštění vyčištěné odpadní vody nebo pro obytné domy, které budou v blízkém časovém horizontu napojeny na centrální čistírnu. Je nutno zvážit i nevýhody jímek jako např. vysoké pořizovací náklady, provozní náklady, docela velký zastavěný prostor, možnost zápachu při manipulaci s odpadní vodou [4].

Tabulka 2: Náklady na odvoz naakumulované odpadní vody z jímky [6]

Velikost jímky	Počet osob	Počet vývozů za rok	Cena za 1 vývoz	Cena za rok
5 m ³	2	15	1 500 Kč	22 500 Kč
10 m ³	3	12	2 200 Kč	24 200 Kč
12 m ³	4	11	3 500 Kč	42 000 Kč

2.2 Domovní čistírny odpadních vod

Domovní čistírny odpadních vod se v České republice vyskytují převážně v kontejnerovém provedení. Jsou vyráběny z plastů, např. polypropylenu, laminátů anebo z nerezů. U domovních čistíren rozlišujeme dva základní způsoby čištění odpadních vod, zejména anaerobní, aerobní nebo jejich kombinace. V obou případech je princip čištění založený na biologickém odbourávání přivedeného znečištění pomocí mikroorganismů. Proces anaerobní je proces bez přístupu kyslíku a jeho účinnost čištění je nižší než v případě aerobního procesu, který potřebuje dodávat kyslík do aktivační směsi, a to prostřednictvím např. dmychadla, biokontaktu, čerpadla s injektorem aj. Metodický postup pro vybudování vlastní domovní čistírny je následující. Je potřeba prověřit podmínky a možnosti vypouštění předčištěných odpadních vod, zajistit návrhové parametry (množství a kvalita odpadních vod), zvolit typ technologie, vybrat čistírnu, zajistit projektové dokumentace, vyřídít vodoprávní řízení, vyřídít povolení, provést stavební připravenost, instalovat ČOV, kolaudovat stavbu, uvést do zkušebního a následně trvalého provozu a teprve poté je možné nechat čistírnu pracovat [4].

2.3 Jiné způsoby likvidace odpadních vod

2.3.1 Septiky

V septiku dochází k anaerobnímu rozkladu zachycených pevných a plovoucích látek. Jde o průtočnou nádrž (přítok, odtok), která se dělí na dvě nebo tři komory. Co se velikosti septiku týče, závisí na počtu připojených obyvatel. Doba zdržení odpadní vody v septiku je doporučována cca 3–5 dní, která zajišťuje minimální účinnost odstranění organického znečištění až 30 %. Kvůli nízké účinnosti čištění lze jen výjimečně předčištěnou odpadní vodu vypustit do recipientu bez dalšího dočištění (pouze do 5 EO) [4].

Pro čtyřčlennou rodinu s produkcí odpadní vody 0,6 m³ za den je potřeba septik o účinném objemu 3 m³ (jedná se o minimální objem podle ČSN 75 6402). Finanční náklady na septik s pískovým filtrem se pohybují okolo 60–85 tisíc korun. Je doporučeno vyvážet septik minimálně jednou za rok. Množství kalu, které je určené k odvozu je cca 90 litrů na osobu a rok. Zhruba 0,15 metrů kalu je při odvozu ponecháváno v septiku kvůli jeho zaočkování. Vždy je septik vybaven pevným stropem, který obsahuje kontrolní otvory v každé komoře, aby bylo zajištěno dokonalé odvětrání. Stejně jako u jímek se doporučuje minimální vzdálenost 1 metr mezi stěnou budovy a septikem. Přivádět dešťovou vodu do septiku není dovoleno [4].

Výpočet velikosti septiku

$$V = a \cdot n \cdot q \cdot t. \quad [\text{m}^3],$$

kde a je součinitel vyjadřující kalový prostor (1,5), n je počet obyvatel, q je specifická spotřeba vody a t je doba zdržení (3–5 dní).

Septiky jsou vhodné pro rekreační objekty nebo pro domy bez teplé vody a pro obytné domy, které budou v blízké době napojeny na centrální čistírnu. Výhodou septiků jsou jejich nízké provozní náklady, není potřeba žádná elektrická energie a jsou provozně nenáročné. Nevýhodou je potom omezená životnost filtrů (cca 15 let), nízká účinnost čištění a vysoký spád na filtru cca 0,9–1,2 metrů [4].

2.3.2 Zemní filtry

Funkce zemních filtrů je založena na schopnosti porézního materiálu podporovat chemické, fyzikální a biologické procesy, které probíhají při odstraňování znečištění. Lze je použít na čištění předčištěné odpadní vody (septik) nebo po čištění biologicko-mechanickém (domovní čistírna). Jedná se o objekt, který zahrnuje horní rozváděcí drenáž, filtrační lože a dolní sběrnou drenáž. Zemní filtr je od okolního terénu oddělen vodotěsnou folií. Je třeba, aby horní část zemního filtru byla vodorovná. Filtrační lože (vrstva 0,6–1 m) filtru bývá vyplněno pískem nebo podobným materiálem s průměrem částic v rozmezí 2–4 mm (např. materiály s obsahem iontů železa). Rozvodná potrubí jsou uložena ve štěrkovém obsypu a jsou navrhována s minimální světlostí DN 100. Sběrný drén je vybaven odvětrávacím potrubím, které je vyvedeno alespoň 50 cm nad terén. Délka jednoho přítokového a odtokového potrubí by neměla přesahovat 30 m [4, 7].

Zemní filtry jsou vhodné jako třetí stupeň čištění po mechanicko-biologickém přečištění odpadních vod a pro dočištění po mechanickém předčištění odpadních vod. Výhodou zemních filtrů jsou jejich nízké provozní náklady, nulová spotřeba elektrické energie a poměrně vysoká účinnost čištění. Nevýhodou je potom omezená životnost filtrů (cca 15 let), vysoký spád filtru cca 0,9–1,2 metrů a zastavěná plocha [4].

3 Malé čistírny odpadních vod (50-5000 EO)

Rozhodujícím znakem čistíren odpadních vod je zejména požadovaná kvalita vyčištěné vody. Je proto třeba, aby tomuto požadavku byla podřízena i volba způsobu čištění a obecně celá struktura technologické linky. K problému může dojít v případě, kdy je potřeba návrh blíže upřesnit, protože pohled provozovatele a ekonoma bude odlišný. Je tedy nutno z pohledu nákladů zvážit, jestli je třeba výstavba kanalizační sítě a centrální čistírny odpadních vod (tzv. centralizovaný systém) nebo provozovat více stokových sítí, které by byly zakončeny menšími čistírnami (tzv. decentralizovaný systém). Z pohledu obce může být kvůli rozptýlené zástavbě druhá varianta lepší. Budoucí provozovatel čistírny dá nejspíš přednost systému centralizovanému, protože nese nižší počet strojních zařízení, a tudíž i menší pravděpodobnost vzniku poruch, větší stabilitu provozu než u větších čistíren odpadních vod atd. Všechny čistírny odpadních vod by měly být navrženy tak, aby vyhovovaly pro danou potřebu. Při navrhování je třeba pokaždé přihlížet k zátěžovým parametrům, ale také k charakteru stokové sítě. To znamená, že pro stejný počet EO technologická linka nebude vypadat stejně na oddílné a jednotné kanalizaci, protože je zde kladen důraz na bezpečnější návrh hrubého předčištění, dosazovací nádrže a na akumulaci dešťových vod [4].

Návrh řešení technologické linky by měl začít požadavkem na kvalitu vyčištěné vody. Ten musí být v souladu s legislativou, zejména s nařízením vlády 61/2003 Sb., o emisních a imisních limitech. Místně příslušný vodohospodářský orgán, který nařizuje odtokové limitní

hodnoty, musí především zohlednit místní podmínky, zvláštní zájmy, význam recipientu apod. [4].

3.1 *Způsoby čištění*

Technologických způsobů odstranění znečištění odpadních vod je několik a lze je vzájemně kombinovat [4].

3.1.1 *Mechanické čištění*

Mechanické neboli primární čištění vody je nejjednodušším způsobem, jak odstranit znečištění. Jedná se o mechanickou separaci znečišťujících látek. Často je prováděna ve dvou krocích, kde v prvním kroku dochází na česlích a v lapácích písku k oddělování hrubšího materiálu. Dále ve druhém kroku dochází k odstranění látek, které se usazují prostou sedimentací. Rychlost sedimentace částic závisí na jejich velikosti, tvaru, hustotě a viskozitě. Těmito kroky je možné snížit koncentraci organického znečištění v komunálních odpadních vodách zhruba o 15–30 %. Je zjevné, že takové snížení je nedostatečné, a tudíž je mechanické čištění používáno především pro tzv. předčištění. Tento krok je velice důležitý, protože tímto chráníme další části čistíren, u kterých by mohlo dojít k poškození [4, 8].

3.1.2 *Biologické čištění*

V případě biologického, resp. sekundárního čištění je využíváno schopností mikroorganismů rozkládat ono organické znečištění ve vodách. V praxi je v aktivační nádrži jisté množství biomasy, která rozkládá pomocí svého metabolismu organické látky v odpadních vodách až na vodu a oxid uhličitý. Redukované anorganické látky a zoxidované sloučeniny organických látek slouží jako energie pro mikroorganismy. V důsledku toho potom mikroorganismy rostou a dochází tím k odstranění substrátu z roztoku a ke zvýšení množství kalu v systému. Narůstající množství kalu je třeba pravidelně odebírat a udržovat při zhruba stejném množství po celou dobu. Kal je následně odvážen a zpracován v kalovém hospodářství. Aplikace odvodněných kalů (např. v zemědělství) s sebou nese jisté potíže vzhledem k možnosti nejen mikrobiálního znečištění, ale také znečištění organickými látkami jako jsou léčiva, konkrétně antibiotika. Tyto látky se dostávají do půdy a plodiny vypěstované z dané půdy se dostanou do potravního řetězce a mohou být původcem například antibiotické rezistence [4, 9].

Proces rozkladu je velmi komplikovaný a rychlost tohoto procesu je závislá na několika faktorech jako je např. teplota, typ znečištění, pH, obsah kyslíku ve vodě, přítomnost látek toxických atd. Při biologickém čištění dochází k odstraňování určitého množství znečištění (živin), které je následně užito na další stavbu buněčné hmoty. Předpoklad je takový, že se odstraní úměrný poměr parametrů BSK₅ : N : P (uhlík : dusík : fosfor) na přítoku 100 : 5 : 1. Tyto údaje znamenají, že každých 5 mg dusíku (N) a 1 mg fosforu (P) je možno odstranit biologickou cestou 100 mg BSK₅. V principu se jedná o zvýšení účinnosti samočisticích procesů, které probíhají ve vodách povrchových. Klíčovým rozdílem je rychlost odbourání. Ta je ve srovnání s čistírnou poměrně malá. Z toho důvodu je možné dosáhnout v čistírně stejného efektu, ale za značně kratší dobu. Důvodem je rozdílná koncentrace mikroorganismů, které se vyskytují ve vodách povrchových a v čistírnách. Pro zachování biologických procesů

je nutno vytvořit dostatečné podmínky. Při biologickém čištění je využíváno několik různých metod jako je např. aerobní, anaerobní anebo jejich kombinace [4, 8].

3.1.3 Chemické čištění

Způsoby chemického (též terciárního) čištění sestávají ze směšovacího kroku, ve kterém je míseno srážedlo s vodou za vzniku chemického kalu neboli vloček. V tomto stupni dochází k odstranění anorganických iontů vápníku a hořčíku, dusíku a fosforu. U komunálních odpadních vod, kde nedochází k průmyslovému znečištění, jsou používány např. metody srážení fosforu za pomoci solí hliníku nebo železa, ozonizace, filtrace (membránová, písková či přes aktivní uhlí). Tento krok je velmi důležitý a je na něj kladen stále větší důraz kvůli možnosti vzniku negativních účinků řady látek na životní prostředí [4, 10].

4 Kořenové čistírny odpadních vod

Kořenové čistírny, též nazývané vegetační kořenové čistírny, jsou v České republice v současné době běžně využívány k čištění odpadní vody z malých obcí a rodinných domů. Jedná se o čistírny, které se řadí do skupiny extenzivních způsobů čištění odpadních vod. Jsou vhodné zejména pro menší obce zhruba do 2000 EO a pro rekreační objekty jakou jsou chaty nebo chalupy. Jsou ovšem použitelné i pro mnohem vyšší počty EO. Jedná se o čistírny, které čistí odpadní vodu se stejnou účinností jako klasické čistírny. Princip čištění kořenové čistírny je totožný s principem čištění u klasických čistíren odpadních vod. Na snížení znečištění se zde podílejí převážně bakterie. Ty využívají látky, které vodu znečišťují ke svému metabolismu. Kromě těchto biologických procesů dochází k procesům chemickým, kdy dochází k reakci látek se substrátem a dalšími látkami a také dochází k procesům fyzikálním, při kterých dochází k filtraci různých nečistot. Další součástí kořenové čistírny je určitý typ vegetace (rákos obecný, chrastice rákosovitá, orobinec širokolistý, kosatec žlutý aj.). Vegetace zde plní podpůrnou funkci a na čištění se podílí jen z části (asi 10 %). To je důvodem, proč kořenové čistírny fungují bez problémů i v zimním období, když jsou rostliny ve fázi vegetačního klidu [4, 11, 12].

Jedna z hlavních výhod těchto čistíren spočívá v nároku na elektrickou energii. Kořenové čistírny na rozdíl od těch klasických vyžadují pouze minimálně nebo vůbec žádnou elektrickou energii k čištění odpadní vody. Výhodou jsou také nízké provozní náklady, ke kterým přispívá nižší náročnost na kvalifikaci obsluhy, která může být zajištěna v rámci běžného provozu objektu nebo obce. Tyto čistírny zvládají i velmi nízké koncentrace znečištění, což bývá problém u čistíren klasických. A v neposlední řadě fungují i za přerušovaného provozu s rozdílným organickým i hydraulickým zatížením [12].

Co se týče dalšího využití těchto čistíren, jsou využívány například v petrochemickém a důlním průmyslu, kde jsou pomocí nich čištěny skládkové vody nebo odpadní vody ze zemědělské výroby apod. [12].

4.1 Rozdělení kořenových čistíren

Kořenové čistírny rozdělujeme na základě různých parametrů. Běžně je rozdělujeme podle druhu vegetace, výskytu vodní hladiny a podle směru proudění vody [12].

4.1.1 *Rozdělení podle druhu vegetace*

Podle druhu vegetace rozdělujeme kořenové čistírny na čistírny s vynořenou vegetací, ponořenou vegetací a vegetací s plovoucími listy. Prvním typem jsou kořenové čistírny s vynořenou vegetací, které jsou nejběžnějším a nejpoužívanějším typem kořenových čistíren jak u nás v České republice, tak i ve světě. Použitá vegetace je zde zasazena do filtračního materiálu (např. šterk) nebo do substrátu a značná část rostliny vyčnívá nad povrch filtračního lože nebo popřípadě nad vodní povrch. Dalším typem jsou kořenové čistírny s ponořenou vegetací, které se začínají uplatňovat ve stále větší míře po celém světě. Pro tento typ čistíren je třeba vzhledem k fyziologii rostlin zajistit, aby ve vodě nebyly vysoké koncentrace nerozpuštěných látek, a aby tím nedocházelo k limitaci fotosyntézy z důvodu nedostatečného světla. Dále ponořené rostliny dávají přednost vodě, kde je vyšší obsah rozpuštěného kyslíku. Zejména z těchto důvodů je tento typ kořenových čistíren využíván na čištění odpadních vod s nízkým obsahem organických látek nebo slouží k dočišťování odpadních vod. Tento typ není v České republice ještě běžný. Posledním typem je kořenová čistírna s plovoucí vegetací. I tento typ není běžně využíván u nás, ale především v tropických a subtropických oblastech [12, 13].

4.1.2 *Rozdělení podle výskytu vodní hladiny*

Podle výskytu vodní hladiny rozdělujeme kořenové čistírny na čistírny s volnou hladinou a na čistírny s podpovrchovým průtokem. Kořenové čistírny s volnou hladinou jsou dosti podobné přirozeným mokřadům a klasickým rybníkům v České republice. Lze je kombinovat s různými typy vegetací. Tyto mokřady patří mezi nejvíce rozšířené typy kořenových čistíren. Jsou nejvíce náročné na plochu bez použití provzdušňování nebo jiných intenzifikačních metod. Kořenové čistírny s podpovrchovým průtokem patří mezi nejrozšířenější typ těchto čistíren jak v České republice, tak i ve světě. Principem zde je, že voda protéká pod povrchem filtračního materiálu bez přítomnosti vodní hladiny. Výhodou je velký povrch filtračního materiálu pro nárůst biofilmu. Tento druh čistíren má tedy většinou větší účinnost čištění než čistírny s volnou hladinou [12, 13].

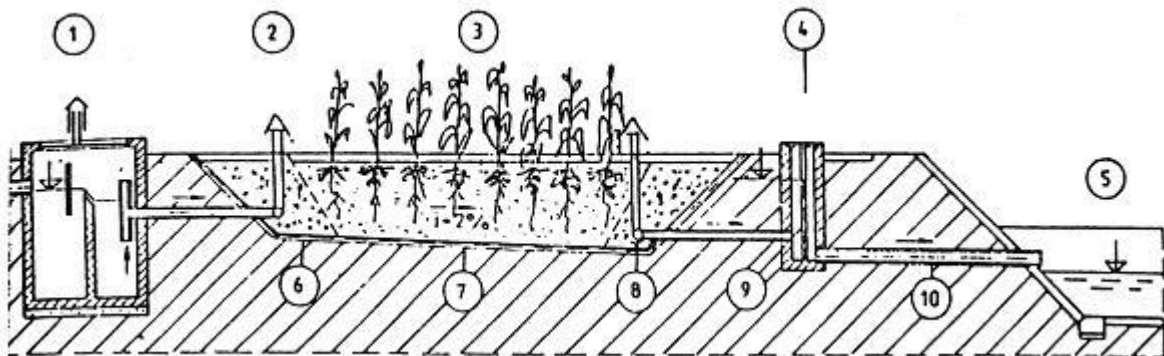
4.1.3 *Rozdělení podle směru průtoku vody*

Podle směru průtoku vody rozdělujeme kořenové čistírny na čistírny s horizontálním průtokem a vertikálním průtokem [12].

Kořenové čistírny s horizontálním průtokem patří mezi nejrozšířenější typ kořenových čistíren v České republice i ve světě. A to z toho důvodu, že u mokřadů s volnou hladinou se jiný směr průtoku nepoužívá. Ovšem problémem u tohoto typu je zajištění co možná nejvíce jednotného rozdělení vody na přítoku i na odtoku. V případě opačném pak může dojít k vytvoření tzv. zkratových proudů. Tyto proudy snižují dobu zdržení vody v nádrži, tudíž i účinnost čištění odpadní vody. Dalším problémem je značné počáteční zatížení znečištěním jen na malé části z celkové plochy filtru a tím pádem může docházet k zanášení filtračního materiálu [12–14].

Kořenové čistírny s vertikálním průtokem lze použít jen u podpovrchově protékaných filtrů s vynořenou vegetací. Průtok vody je možný oběma směry, resp. shora dolů i zdola nahoru, ovšem první způsob je častější. Chybí zde souvislá vodní hladina, a to umožňuje mnohem lepší přístup vzduchu do volných pórů ve filtračním materiálu, a tudíž i účinnější čištění odpadní vody. Vertikální průtok zpravidla vyžaduje tzv. dávkové napouštění vody, což v případě

kořenových čistíren s horizontálním průtokem není třeba. Voda je za pomoci rozvodného potrubí rozdělována po celé ploše filtračního pole a u dna (popř. při povrchu) je sbírána drenážním odtokovým potrubím [12–14].



Obrázek 1: Možné uspořádání KČOV

1 – biologický septik, 2 – přívod odpadní vody, 3 – vegetační kořenové pole, 4 – kontrolní odtoková šachta, 5 – vodní tok či dočišťovací rybník, 6 – šterkový filtr, 7 – těsnicí fólie, 8 – drén, 9 – odpad, 10 – výust' [15]

Tyto tři základní typy kořenových čistíren je možné kombinovat a tím lze získat velký počet různých typů kořenových čistíren jako např. kořenové čistírny s horizontálním podpovrchovým průtokem, vertikálním podpovrchovým průtokem atd. [12].

4.2 Výstavba a princip kořenových čistíren

Kořenové čistírny odpadních vod řadíme mezi čistírny přírodní, které využívají přirozených biochemických procesů, probíhajících v mokřadním a vodním prostředí, k odstranění polutantů z vod. Principem je průtok odpadní vody skrze porézní substrát a za spoluúčasti rostlin (rákos obecný, orobinec širokolistý, stulík žlutý, kosatec žlutý apod.) a různých mikroorganismů. Vlivem toho dochází kombinací chemických, biologických a fyzikálních procesů k odstranění znečištění [16].

4.2.1 Předčištění vody

Mechanické předčištění vody je třeba proto, aby se dostatečně odstranily nerozpuštěné látky, které by následně mohly ucpávat filtrační lože. Bývá zařazeno před kořenovou čistírnou. Mechanické předčištění je nutné zařadit před vlastní kořenovou čistírnou. Pro domovní čistírnu je často využíván pouze jednoduchý septik či usazovací nádrž apod. Pro malé obce je většinou využito kombinace česlí a šterbinové nádrže. Často jsou využívány prefabrikáty, které značně usnadní realizaci. Používány jsou konstrukce z nejrůznějších lehkých materiálů např. sklolaminát či plast. Při výběru je dobré dát přednost samonosným konstrukcím, u kterých není třeba další betonování. Je-li zvolena technologie s obetonováním, je nutno dodržet technologický postup, protože při nedodržení by mohlo dojít k deformaci nádrže [13, 17, 18].

4.2.2 Kořenové pole

Provedení vlastního kořenového pole je založeno na vytvoření zemní jímky, která má hloubku zhruba 60–80 cm. Dno i stěny nádrže je nutno pořádně zhutnit, aby nedošlo k následným deformacím. Další důležitou součástí je izolace (plastová fólie), díky které nedochází

k průsakům do půdy. Na izolaci se u menších kořenových polí používá zejména PVC 803 o tloušťce 1 mm a u větších kořenových polí je vhodnější použít izolační fólie z PE–H o tloušťce 1,5–2 mm. Po svaření je prováděna zkouška těsnosti a následně se vkládá náplň tak, aby nedošlo k porušení. Je třeba vybrat takový substrát, který je dostatečně propustný, aby nedocházelo k ucpání. Filtrační substráty tvoří prostředí pro život mikroorganismů a rostlin, zachytávají rozpuštěné látky, poutají dusík a fosfor atd. V současné době je nejčastěji používán praný štěrk, drcené kamenivo a kačírek se zrnitostí minimálně 4–8 nebo 8–16 mm. Jakmile je do kořenového pole nasypán filtrační materiál, je povrch zaplaven a vodorovně zarovnan podle vodní hladiny. Vyrovnání je nutné, protože jinak dochází ke vzniku míst, kde se hladina vody drží nad povrchem filtračního materiálu, nebo sušších míst, na kterých se šíří nežádoucí vegetace plevelů [13, 17, 18].

4.2.3 Zemní filtr

Zemní filtr je analogií kořenového pole, jen směr proudění vody je vertikální. Jedná se o zemní nádrž, která je izolována stejně jako v případě kořenových polí. Je vyplněna filtračním substrátem, který bývá zpravidla jemnější (nejčastěji písek). Aby byla zajištěna správná funkce zemního filtru, je podstatný výškový rozdíl mezi přítokem a odtokem. Zemní filtr je umístěn tak, aby základová spára byla nad hladinou podzemní vody, nebo tak, aby zemní filtr byl izolován od podzemní vody. Zemní filtr je nutno chránit před částicemi, které by ho mohly ucpat, což by tvořilo problém vzhledem k tomu, že hlavními procesy probíhajícími v zemním filtru jsou procesy biologické a chemické. Dalším parametrem pro dobrou funkci zemního filtru je rovnoměrné rozdělení vody na celé ploše filtru. Tvar filtru je nejčastěji obdélníkový s delším rozměrem ve směru rozvodného potrubí. Přístup vzduchu do filtračních vrstev je zajišťován drény a potrubími, ale i tím, že těleso filtru a sběrného potrubí není zatopené [18].

4.2.4 Rozvod vody

Rozvod vody je zajišťován nejčastěji pomocí plastových potrubí z PE, PVC, která mají velký otvor, aby bylo zabráněno případnému ucpání. Úkolem těchto potrubí je rovnoměrně rozdělit mechanicky předčištěnou odpadní vodu po celé ploše vtokové části filtračního pole. Rozvodná potrubí jsou nejčastěji uložena na povrchu a bývají převrstvena hrubým kamením. Někdy je možné rozvodnou drenáž uložit i pod úroveň filtračních polí. Je nutno zvážit, vzhledem k místním klimatickým podmínkám, realizaci dvou rozvodných potrubí. Jedno sloužící k běžnému provozu umístěno u povrchu či zcela na povrchu pole a druhé, které je umístěno ve větší hloubce pro použití v zimních obdobích při velkých mrazech. Zamezit promrzání lze také pomocí tepelně izolačního obsypu. Je nutná pravidelná údržba a čištění rozdělovacího potrubí a výtokových otvorů kvůli zanesení [13, 17, 18].

4.2.5 Regulace výšky hladiny

Regulace výšky hladiny je zajišťována regulačními šachtovými přelivy, které jsou tvořeny výškově nastavitelnými tzv. flexibilními hadicemi, které jsou zavěšeny na nosné konstrukci (často plastové řetězy) a spodní částí jsou připojeny na výpustní potrubí. Je třeba brát v potaz životnost zavěšení a pravidelně čistit přelivné hrany [18].

5 Léčiva na čistírnách odpadních vod

Problematika odstraňování mikropolutantů z vod je řešena celosvětově stále ve větší míře. Čištění odpadních vod je u nás sice na vysoké úrovni, ale není vždycky možné odstranit z vody všechny nežádoucí látky. Ve vodě byly zaznamenány jisté koncentrace hormonů, nejrozličnějších humánních i veterinárních léčiv, desinfekčních látek, drog či jiných běžně užívaných látek. Výzkumy se soustřeďují na bližší zkoumání vlivu těchto koncentrací na životní prostředí, lidský organismus, necílové organismy nebo rostlinstvo. Protože klasickým čistírnám dělají problémy právě látky jako jsou hormony nebo léčiva, začínají se stále více uplatňovat biologické čistírny odpadních vod jako jsou již zmiňované kořenové čistírny. Ty díky době zdržení, rozmanitosti čisticích procesů a přítomnosti rostlin, dokáží velmi dobře odstraňovat různé chemické látky, léčiva i hormony. Je možné uplatnit je pro všechny typy odpadních vod, ale jsou zatím nejvíce využívány zejména pro menší zdroje znečištění zhruba do 2000 EO [19, 20].

6 Léčiva (farmaka)

6.1 Definice pojmů

Pojmy léčivá látka a léčivý přípravek jsou v České republice podrobně definovány v zákoně o léčivech č. 378/2007 Sb.

Léčivé látky

Jedná se o látky, které jsou určeny k tomu, aby se staly součástí léčivého přípravku. Jsou to látky, které způsobují její účinek, který je zpravidla farmakologický, imunologický či spočívá v ovlivnění metabolismu. Jde především o látky živočišného, rostlinného, chemického a lidského původu [21].

Léčivý přípravek

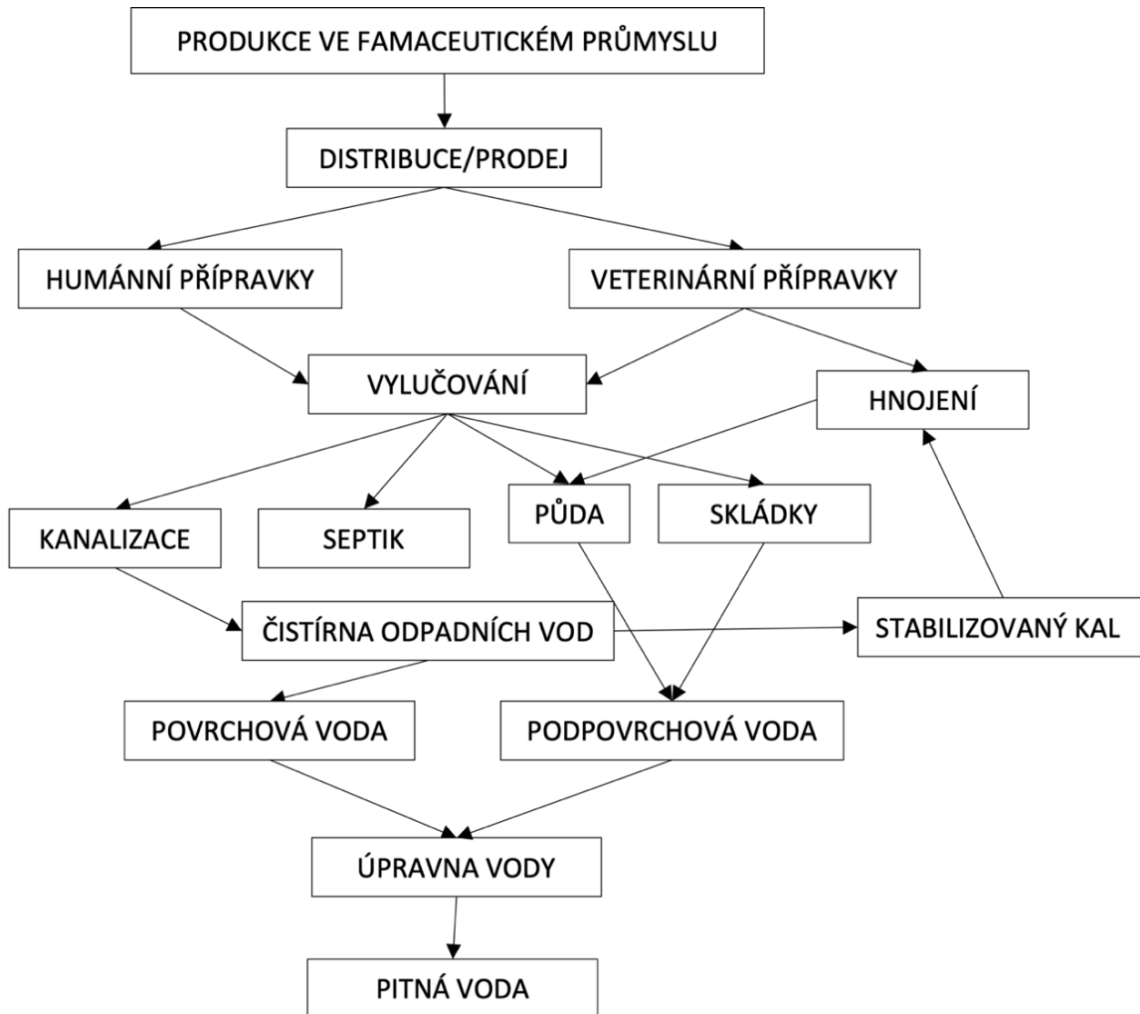
Za léčivý přípravek lze považovat látku či kombinaci látek, která má léčebné nebo preventivní vlastnosti v případě onemocnění lidí nebo zvířat. Léčivým přípravkem se dále rozumí látka nebo kombinace látek, kterou je možno použít u lidí či zvířat anebo podat lidem či zvířatům za účelem obnovy, úpravy nebo ovlivnění jejich fyziologických funkcí prostřednictvím farmakologického, imunologického nebo metabolického účinku nebo za účelem stanovení lékařské diagnózy [21].

Léčiva, respektive farmaka, jsou řazena do skupiny tzv. „nových“ environmentálních polutantů. Jedná se o látky, které jsou do životního prostředí uvolňovány řádově několik desítek let, nicméně o jejich osud a celkové působení na životní prostředí se lidé začali zajímat poměrně nedávno [22].

Z pohledu ochrany životního prostředí lze léčiva dělit na:

- látky biologicky lehce odbouratelné, kam řadíme např. kyselinu acetylsalicylovou,
- látky stálé a hydrofilní, kam řadíme např. látky ovlivňující hladinu lipidů,
- látky stálé a lipofilní, kam řadíme látky protizánětlivé (jedná se o nejvíce nebezpečnou skupinu látek),
- antibiotika,
- endokrinní disruptory [22].

I přesto, že se některá léčiva významně adsorbují na usazeniny a půdní částice, zároveň zůstávají dostatečně mobilní na to, aby znečistily vodu. Jistá část léčiv se adsorbuje na půdní částice a jelikož je recyklovaná voda často využívána při zavlažování, dochází tak ke zvýšení koncentrace přímo v půdě, popřípadě také dochází ke kontaminaci zemědělských plodin, které lidé konzumují. Tím dochází například ke zvýšení antibiotické rezistence či nežádoucím vlivům na necílové organismy apod. Mobilnější léčiva mohou dále prosakovat až do spodních vod a působit stejné potíže jako v půdě. Aktivní látky byly nalezeny ve skutečnosti ve všech složkách prostředí v širokém rozsahu koncentrací (od 1 ng/l až po 1 mg/l). Obrázek 2 popisuje schéma toku léčiv a jejich metabolitů v životním prostředí [22].



Obrázek 2: Tok léčiv a jejich metabolitů do životního prostředí [22, 23]

6.2 Základní kategorie léčiv:

- Antibiotika
- Analgetika
- Hormony
- Cytostatika
- Antipyretika
- Antirevmatika
- Kancerostatika
- Kontrastní látky používané při rentgenovém vyšetření [22]

6.3 Zdroje léčiv

- Přírodní (biologické)

Vznikají při biochemické syntéze prostřednictvím některých druhů mikroorganismů (tento zdroj kontaminace lze považovat za naprosto zanedbatelný) jako jsou např. plísně druhů *Aspergillus*, *Penicillium* a *Cephalosporium*. Tyto rody produkují jedny z nejstarších antibiotik – peniciliny. K výrobě penicilinů je v dnešní době používáno *Penicillium chrysogenum*, ze kterého jsou získávány volné kyseliny nebo sodné a draselné soli penicilinů [22].

- Antropogenní (vznikající činností člověka)

Mezi antropogenní zdroje patří zdroje průmyslové a neprůmyslové. Průmyslové zdroje jsou ty, kterou jsou běžně obsaženy v odpadních vodách z průmyslových odvětví jako je např. farmaceutický průmysl nebo živočišná výroba, resp. veterinární přípravky. Neprůmyslovými zdroji jsou např. zdravotnická zařízení a domácnosti [19, 22].

Léčiva užívaná populací jsou z organismu vylučována v původní formě (např. karbamazepin, hydrofilní betablokátory, 10 % ibuprofenu, část sulfonamidů, hydrofilní antibiotika), ale značná část je z těla vylučována především ve formě metabolitů (např. lipofilní betablokátory, 90 % ibuprofenu, více jak 90 % ketoprofenu, část sulfonamidů, lipofilní antibiotika). Tyto metabolity jsou podstatně méně biologicky aktivní než jejich volné formy. Nicméně už v průběhu transportu odpadních vod kanalizací dochází k dekonjugaci, tedy k přeměně metabolitu zpět na jeho primární formu, čímž může docházet k nárůstu koncentrace daného léčiva. Ta pokračuje dále při kontaktu s aktivovaným kalem na čistírnách odpadních vod. Za dekonjugaci jsou zodpovědné především bakterie *Escherichia coli* [19, 22, 26].

Tabulka 3: Srovnání distribuce léčivých přípravků do zdravotnických zařízení dle Anatomicko-terapeuticko-chemických (ATC) skupin v roce 2014 a 2019 [27, 28]

ATC1 kód	Název ATC1	Rok 2014		Rok 2019	
		Počet balení [mil.]	DDD celkem [mil.]	Počet balení [mil.]	DDD celkem [mil.]
A	Trávicí trakt a metabolismus	36,57	990,55	38,42	1 169,86
B	Krev a krevtovorné orgány	17,69	740,40	11,50	801,83
C	Kardiovaskulární systém	52,66	2 305,43	45,68	2 397,42
D	Dermatologika	12,68	2,87	12,21	2,74
G	Urogenitální trakt a pohlavní hormony	8,30	411,83	7,56	368,28
H	Systémová hormonální léčiva kromě pohlavních hormonů a insulinů	5,56	188,94	6,26	210,84
J	Antiinfektiva pro systémovou aplikaci	14,82	85,02	15,57	71,33
L	Cytostatika a imunomodulační látky	2,53	44,89	2,89	61,14
M	Muskuloskeletární systém	22,33	312,99	22,64	322,19
N	Nervový systém	46,40	613,64	46,11	710,03
P	Antiparazitika, insekticidy a repelenty	0,45	2,41	0,46	2,60
R	Respirační systém	31,83	519,45	35,01	599,71
S	Smyslové orgány	6,42	69,29	6,24	84,63
V	Různé přípravky	5,97	0,86	5,38	1,38
Celkem:		264,23	6 288,58	255,92	6 803,97

Tabulka 4: Distribuce veterinárních antimikrobiálních látek v 31 evropských zemích v roce 2018 [29]

Země	Tablety [tuny]	Ostatní lékové formy [tuny]	Celkem [tuny]
Belgie	2,0	195,0	197,0
Bulharsko	0,1	47,8	48,0
Česká republika	1,0	40,2	41,2
Dánsko	0,8	93,6	94,3
Estonsko	0,1	6,1	6,2
Finsko	1,1	9,3	10,3
Francie	15,2	456,2	471,4
Chorvatsko	0,1	19,6	19,7
Irsko	0,8	98,6	99,4
Island	0,1	0,6	0,6
Itálie	10,3	932,1	942,4
Kypr	0,1	53,4	53,5
Litva	0,1	10,7	10,8
Lotyšsko	0,1	6,0	6,1
Lucembursko	0,1	2,1	2,2
Maďarsko	0,3	150,2	150,4
Malta	0,04	2,1	2,2
Německo	9,6	753,1	762,7
Nizozemsko	3,2	183,9	187,1
Norsko	0,4	5,7	6,1
Polsko	1,8	782,2	784,0
Portugalsko	1,2	191,8	193,0
Rakousko	0,7	48,0	48,6
Rumunsko	3,8	230,7	234,5
Řecko	0,5	113,0	113,6
Slovensko	0,3	12,1	12,4
Slovinsko	0,4	7,8	8,2
Španělsko	0,5	1 724,1	1 724,6
Švédsko	0,8	9,8	10,6
Švýcarsko	0,7	32,9	33,6
Velká Británie	13,2	212,9	226,2
Celkem	69,3	6 431,4	6 500,7

Tabulka 4 je rozdělena na distribuci tablet, které jsou užívány převážně domácími zvířaty (kočky, psi) a na ostatní lékové formy, které jsou užívány převážně hospodářskými zvířaty (krávy, prasata, kozy).

6.4 Mechanismy odstranění léčiv

Existuje několik druhů procesů, při kterých dochází k odstraňování organických sloučenin z vod povrchových. Řadíme sem:

- fotodegradaci,
- sorpci,
- biodegradaci [19].

6.4.1 Fotodegradace

Za hlavní cestu, která vede k samovolnému rozpadu léčiv v povrchových vodách lze považovat fotochemickou neboli abiotickou degradaci. Obecně rozlišujeme dva základní mechanismy: přímou fotolýzu a radikálový rozpad. V případě přímé fotolýzy dochází k absorpci slunečního záření samotnou molekulou léčiva, což zapříčiní rozpad molekuly na jednodušší složky. Účinnost závisí především na absorpčním spektru vybrané molekuly a dále také na intenzitě slunečního záření, kterou ovlivňuje hloubka, ve které se v daný moment nachází absorbující molekula. Tento fakt vychází ze skutečnosti, že sluneční záření je pohlcováno mimo léčiv i dalšími rozpuštěnými látkami a v první řadě samotnou vodou, z čehož vyplývá, že aktivní látky, které se nacházejí ve větší hloubce, degradují v daleko menších množstvích. K radikálovému rozpadu dochází vlivem působení silných oxidovadel, kam můžeme zařadit např. atomární kyslík, hydroxylový radikál ($\bullet\text{OH}$), alkyperoxy (RO₂-) a další [19].

6.4.2 Sorpce

Při odstraňování léčiv se u běžně užívaných čistíren odpadních vod uplatňuje mechanismus sorpce na aktivovaný kal. Uplatňují se zde dva hlavní mechanismy – adsorpce a absorpce. Adsorpce je způsobena působením elektrostatických sil mezi záporně nabitým povrchem biomasy a pozitivně nabitými skupinami xenobiotik. Naopak při absorpci dochází k hydrofobní interakci alifatických a aromatických skupin léčiv s lipofilními částmi kalu a lipofilní membránou mikroorganismů [19].

6.4.3 Biodegradace

V případě biodegradace mluvíme o úplném rozložení léčiv nebo jejich částečnou transformaci na produkty degradace vlivem mikrobiální aktivity aktivovaného kalu. Kvůli nízkým koncentracím léčiv v odpadní vodě dochází na čistírnách odpadních vod pouze k částečné degradaci. Účinnost odstranění léčiv je ovlivňována několika parametry, kam řadíme např. dostupnost léčiv v matrici, stáří kalu v aktivaci, aerobní/anaerobní podmínky prostředí, pH, sorpci, celkové uspořádání systému a další [19].

Protože stávající systém čištění odpadních vod není zcela dostačující z pohledu odstraňování léčiv, je nutno hledat nové možnosti. V dnešní době existuje několik možností, které se liší principem, ale také především provozními náklady. Mezi tyto další mechanismy patří:

- pokročilé oxidační procesy,
- membránové metody,
- aktivní uhlí [19].

6.4.4 Pokročilé oxidační procesy

Podstatou pokročilých oxidačních procesů je tvorba oxidantů (ozon, hydroxylový radikál) v prostředí čištěné vody, které poté mohou reagovat s organickými látkami jako jsou právě léčiva. Jedním z nejsilnějších oxidovadel je hydroxylový radikál, který je tvořen při rozkladu peroxidu vodíku iniciací UV zářením nebo reakcí excitovaného atomárního kyslíku s vodou v atmosféře. Další z možností je ozonizace, kterou lze účinně odstranit znečištění léčivy i přes svou značnou selektivitu vůči některým funkčním skupinám (dvojně vazby, thioly, alkylaminy). Ve studiích bylo dokázáno, že za použití ozonizace je možné úplně odstranit například paracetamol v roztoku, kde byla počáteční koncentrace 5 mmol/l, už během 20 minut za vzniku jednoduchých dikarboxylových kyselin a oxidu uhličitého. Metodu lze použít pro široké spektrum jiných látek. Dodatečná dezinfekce vody je vedlejším účinkem ozonizace, přesto je díky tomu zabráněno vypouštění dalších patogenů do povrchových vod. Produkty, které vzniknou po degradaci, ztrácí svoji biologickou aktivitu. Dojde ke snížení jejich škodlivého potenciálu, budou lépe rozpustné ve vodě, čímž dojde ke zvýšení jejich dostupnosti pro další biotransformace [19, 24, 25].

6.4.5 Membránové metody

Mezi značně progresivní metody v oblasti čištění odpadních vod řadíme membránové procesy, které dosahují velice dobrých výsledků při separaci cizích látek o nízkých koncentracích. Používají se zejména k zachytávání estrogenů, které jsou díky jejich silné sorpci chyceny k membránovému materiálu. Nejpoužívanější metody pro odstranění léčiv jsou nanofiltrace a reverzní osmóza nebo mikro/ultrafiltrace v kombinaci s reverzní osmózou. Tyto metody se používají především pro úpravu pitné vody, ale lze je použít i pro odpadní vody [19].

6.4.6 Aktivní uhlí

Aktivní uhlí je v podobě prášku či granulí používáno pro odstraňování celé řady odpadních organických látek, které jsou zejména nepolární. Při použití aktivního uhlí nedochází k tvorbě žádných metabolitů či meziproductů, což poskytuje velkou výhodu. Dalšími výhodami jsou snadná manipulace a likvidace, která je prováděna nejčastěji spálením, kdy dochází k odstranění veškerých organických látek i absorbovaných léčiv. Mezi nejlépe sorbující látky řadíme karbamazepin, který je za normálních podmínek těžko odbouratelný, a proto použití aktivního uhlí patří mezi velmi perspektivní techniky pro odstraňování znečištění odpadních vod [19].

Pro snížení koncentrací léčiv v životním prostředí se dále využívají kořenové čistírny odpadních vod. Principem těchto čistíren je tzv. rhizofiltrace. Jedná se o metodu, která ke snížení či odstranění znečištění využívá kořeny rostlin. Dochází zde k precipitaci znečišťující látky na kořenovém systému nebo přímo k absorpci v kořenech. V dnešní době kořenové čistírny odpadních vod dosahují vynikajících výsledků v oblasti odstraňování organického znečištění. Degradovat např. antibiotika ve vysokých koncentracích dokáží vodní rostliny jako je např. azola americká (*Azolla filiculoides*), stolístek vodní (*Myriophyllum aquaticum*), babelka řezanovitá (*Pistia stratiotes*) a mnoho dalších. Výhodou těchto čistíren jsou jednoznačně jejich nízké náklady na provoz oproti jiným typům čistíren [19, 30].

Další možnou alternativou pro snižování patogenních organismů, syntetických organických látek, anorganických látek a těžkých kovů je použití biouhlí. Jedná se o levný adsorbent, který je vyráběn nejčastěji pyrolýzou například čistírenských kalů či gastroodpadů. Jde tedy o jednu z potenciálních možností pro úpravu pitné vody [31, 32].

6.5 *Vybraná léčiva*

Bylo vybráno široké spektrum léčiv (24) zahrnující analgetika, antibiotika, antidepresiva, betablokátory a další. Byla vybrána léčiva, která jsou v současné době řazena mezi nejpoužívanější nejen v České republice, ale také ve světě. Několik z nich je přítomno na seznamu potenciálních látek, které znečišťují povrchové vody (známý jako Watch List) [33]. Seznam byl vydán na základě doporučení JRC (Joint Research Centre) a souhlasu členských států Evropskou komisí. Dalším důvodem je přítomnost některých z nich na listu kriticky významných antimikrobiálních látek (CIA = critically important antimicrobials) vydaném organizací WHO (World Health Organization) [34]. Tento list vydává organizace WHO od roku 2005 a je pravidelně aktualizován. Jedná se o seznam všech antimikrobiálních látek dosud používaných v humánní i veterinární medicíně. Je rozdělen do tří hlavních kategorií – kriticky významné antimikrobiální látky (makrolidy – azithromycin, erythromycin, klarithromycin a roxithromycin), vysoce významné antimikrobiální látky (sulfonamidy – sulfamethazin, sulfamethoxazol, sulfathiazol a trimethoprim) a významné antimikrobiální látky. Některé z jejich fyzikálních a chemických vlastností jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6 [34].

Tabulka 5: Některé fyzikální a chemické vlastnosti vybraných léčiv [35–37]

Název	Vzorec	Molekulová hmotnost [g/mol]	Monoizotopická molekulová hmotnost [g/mol]	pKa
Acebutolol	$C_{18}H_{28}N_2O_4$	336,432	336,205	9,52/9,67
Atenolol	$C_{14}H_{22}N_2O_3$	266,341	266,163	9,60
Azithromycin	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$	748,996	748,509	8,50
Bisoprolol	$C_{18}H_{31}NO_4$	325,443	325,225	9,57
Citalopram	$C_{20}H_{21}FN_2O$	324,392	324,163	9,78
Diklofenak	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	296,148	295,017	4,15
Erythromycin	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	733,930	733,461	8,88
Fluoxetin	$C_{17}H_{18}F_3NO$	309,326	39,134	9,80
Ibuprofen	$C_{13}H_{18}O_2$	206,285	206,131	5,30
Karbamazepin	$C_{15}H_{12}N_2O$	236,274	236,095	13,90
Karbamazepin-10,11-epoxid	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	252,268	252,090	-
Ketoprofen	$C_{16}H_{14}O_3$	254,281	254,094	4,45
Klarithromycin	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	747,964	747,477	8,99
Metoprolol	$C_{15}H_{25}NO_3$	267,364	267,183	9,70
Naproxen	$C_{14}H_{14}O_3$	230,259	230,094	4,15
Norsertalin	$C_{16}H_{15}Cl_2N$	292,203	291,058	9,73
Paroxetin	$C_{19}H_{20}FNO_3$	329,365	329,143	9,90
Propranolol	$C_{16}H_{21}NO_2$	259,349	259,157	9,42
Roxithromycin	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	837,047	836,525	9,27
Sertralin	$C_{17}H_{17}Cl_2N$	306,229	305,074	9,16
Sulfamethazin	$C_{12}H_{14}N_4O_2S$	278,330	278,084	7,59
Sulfamethoxazol	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	253,279	253,052	1,60/5,70
Sulfathiazol	$C_9H_9N_3O_2S_2$	255,317	255,014	7,20
Trimethoprim	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	290,323	290,138	7,12

Tabulka 6: Některé další fyzikální a chemické vlastnosti vybraných léčiv [35–37]

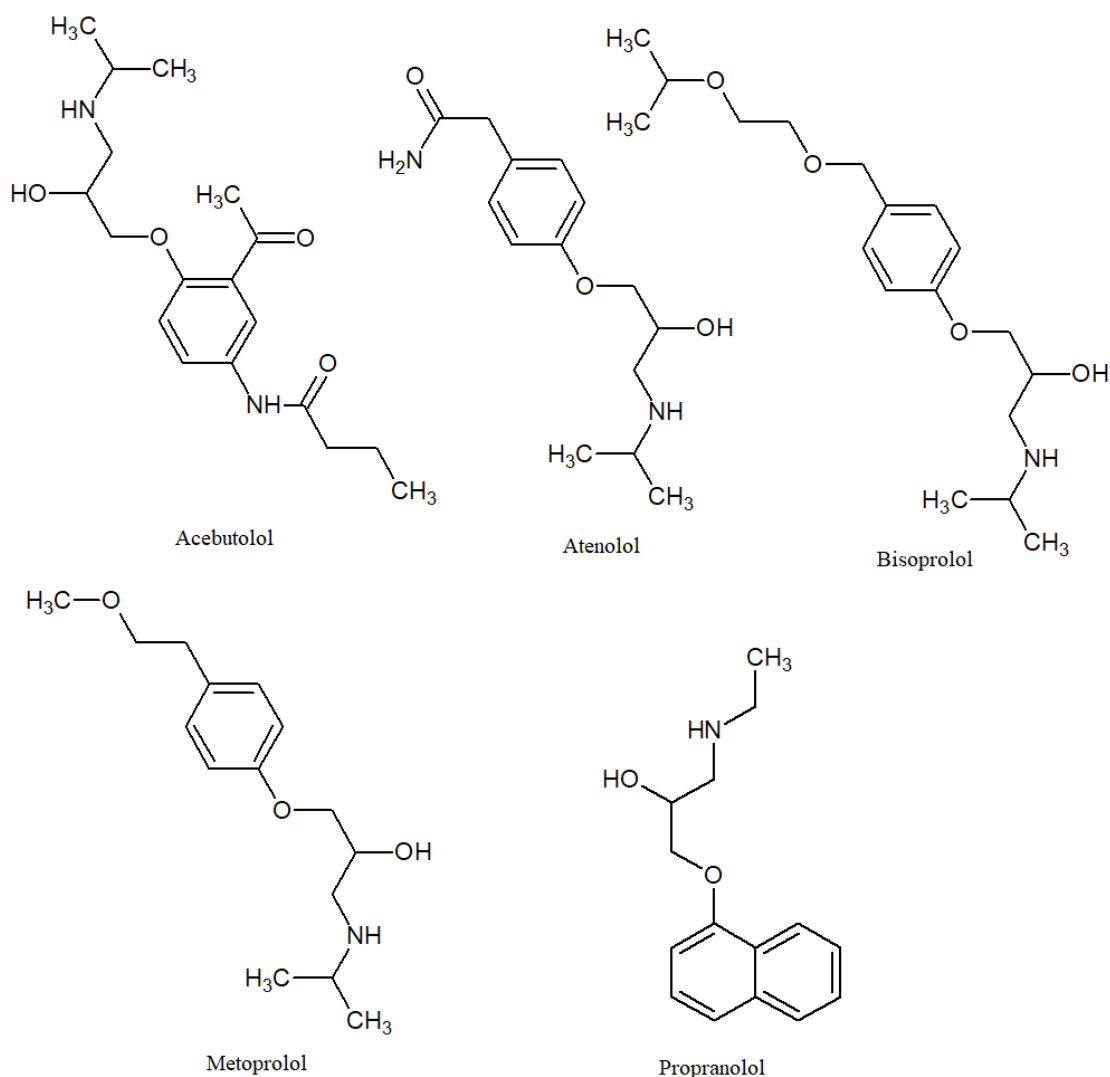
Název	Vzhled	Dobré rozpouštědlo	Teplota tání [°C]
Acebutolol	bílý krystalický prášek	voda, 96% ethanol	119–123
Atenolol	bílý prášek	methanol, DMSO, kyselina octová	146–148
Azithromycin	pevná amorfní látka	ethanol, DMSO	113–115
Bisoprolol	bílá krystalická látka	voda, methanol, ethanol	100–103
Citalopram	jemný bílý až slabě žlutý prášek	methanol, ethanol, DMSO	182–188
Diklofenak	bílá krystalická látka	methanol	283–285
Erythromycin	bílý až slabě žlutý krystalický prášek	aceton, chloroform	135–140
Fluoxetin	bílá krystalická látka	methanol, ethanol	193–197
Ibuprofen	bezbarvá až bílá krystalická látka	alkoholy a organická rozpouštědla	75–77
Karbamazepin	bílá krystalická látka	methanol, ethanol chloroform, aceton	189–192
Karbamazepin-10,11-epoxid	bílá krystalická látka	chloroform, MDSO	204–206
Ketoprofen	bílý zrnitý prášek	ethanol, chloroform	94
Klarithromycin	bezbarvá až světle naždoutlá pevná látka	aceton, mírně methanol a ethanol	217–220
Metoprolol	bílá krystalická látka	voda, methanol	120
Naproxen	bílý krystalický prášek	methanol, chloroform	152
Norsertalin	bílý krystalický prášek	ethanol	-
Paroxetin	šedo-bílý prášek	organická rozpouštědla	120–138
Propranolol	bílá krystalická látka	voda, ethanol	96
Roxithromycin	bílý prášek	ethanol, DMSO	115–120
Sertralin	bílý krystalický prášek	ethanol, DMSO, DMF	245–246
Sulfamethazin	bílý až krémově bílý krystalický prášek	aceton	198,5
Sulfamethoxazol	bílá až lehce naždoutlá látka	aceton, zředěné roztoky NaOH, kyselin	167
Sulfathiazol	bílá krystalická látka	vodné kyseliny a báze	189
Trimethoprim	bílá krystalická látka	methanol, chloroform, N,N-dimethylacetamid	199–203

Tabulka 7: Vybraná léčiva a jejich zařazení do příslušné skupiny podle funkce

Léčivo	Skupina léčiv
Acebutolol	Betablokátory
Atenolol	
Bisoprolol	
Metoprolol	
Propranolol	
Azithromycin	Makrolidová antibiotika
Erythromycin	
Klarithromycin	
Roxithromycin	
Citalopram	Antidepresiva
Fluoxetin	
Norsertalin	
Paroxetin	
Sertralin	
Karbamazepin	Antiepileptika
Karbamazepin-10,11-epoxid	
Diklofenak	NSAID – nesteroidní protizánětlivá léčiva
Ibuprofen	
Ketoprofen	
Naproxen	
Sulfamethazin	Sulfonamidy a trimethoprim
Sulfamethoxazol	
Sulfathiazol	
Trimethoprim	

6.5.1 Betablokátory

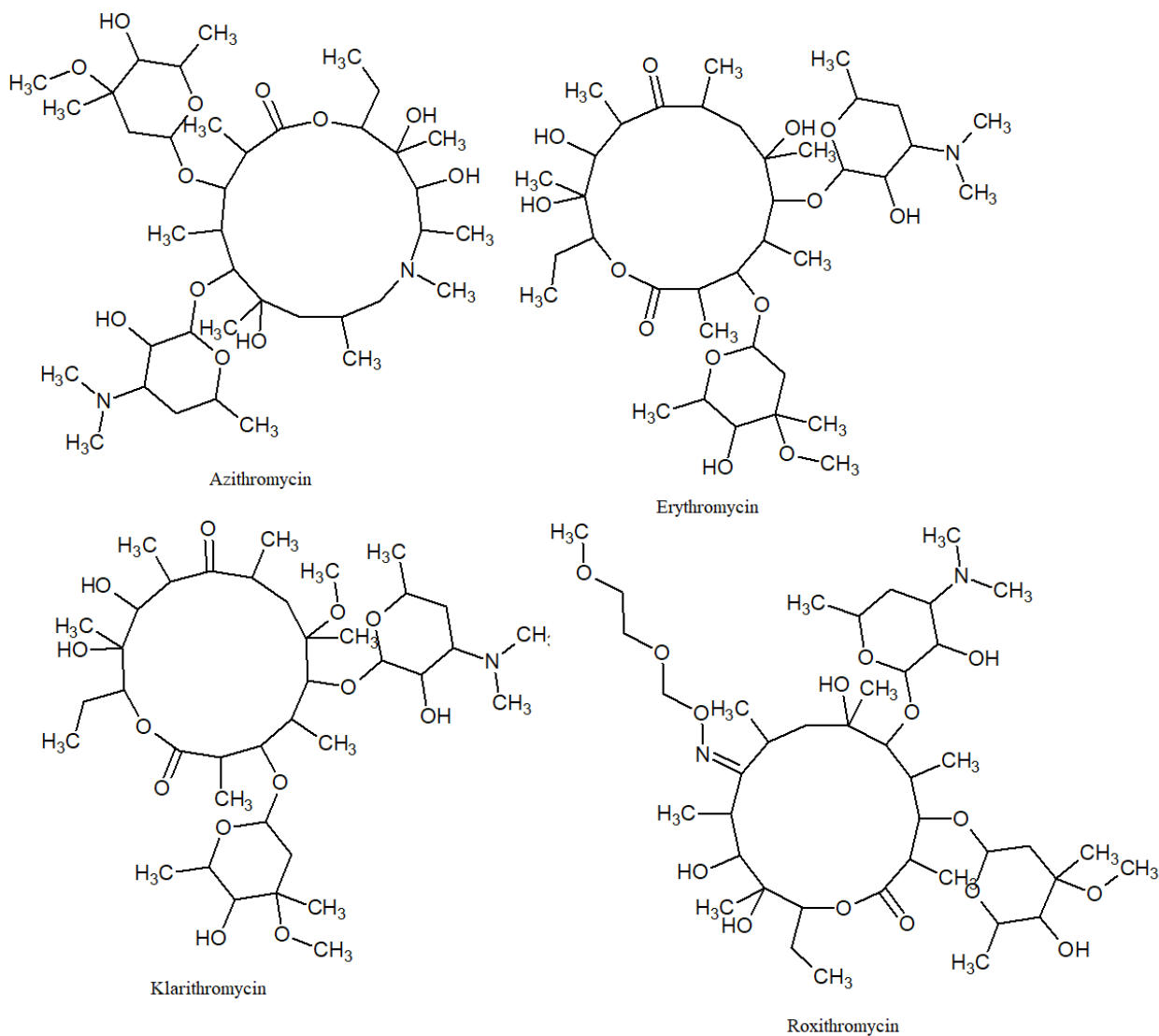
Betablokátory dokáží kompetitivní vazbou na betareceptory zabránit stresovým hormonům jako je noradrenalin či adrenalin v účinku a eliminovat tak negativní důsledky jejich zvýšené aktivity. Touto vazbou dochází ke zpomalení srdeční akce, snížení namáhání srdeční svaloviny a ke snížení spotřeby kyslíku srdečním svalem. Betablokátory můžeme podle jejich charakteru dělit na kardioselektivní, neselektivní, s vnitřní sympatomimetickou aktivitou a s vasodilatačním účinkem na cévy. Jsou využívány při léčbě dysrytmií, vysokého tlaku, srdečního selhání, kardiomyopatie apod. Z vybraných léčiv sem řadíme acebutolol, metoprolol a propranolol jako lipofilní betablokátory, atenolol jako hydrofilní betablokátor a bisoprolol jako smíšený betablokátor [38, 39].



Obrázek 3: Betablokátory

6.5.2 Makrolidová antibiotika

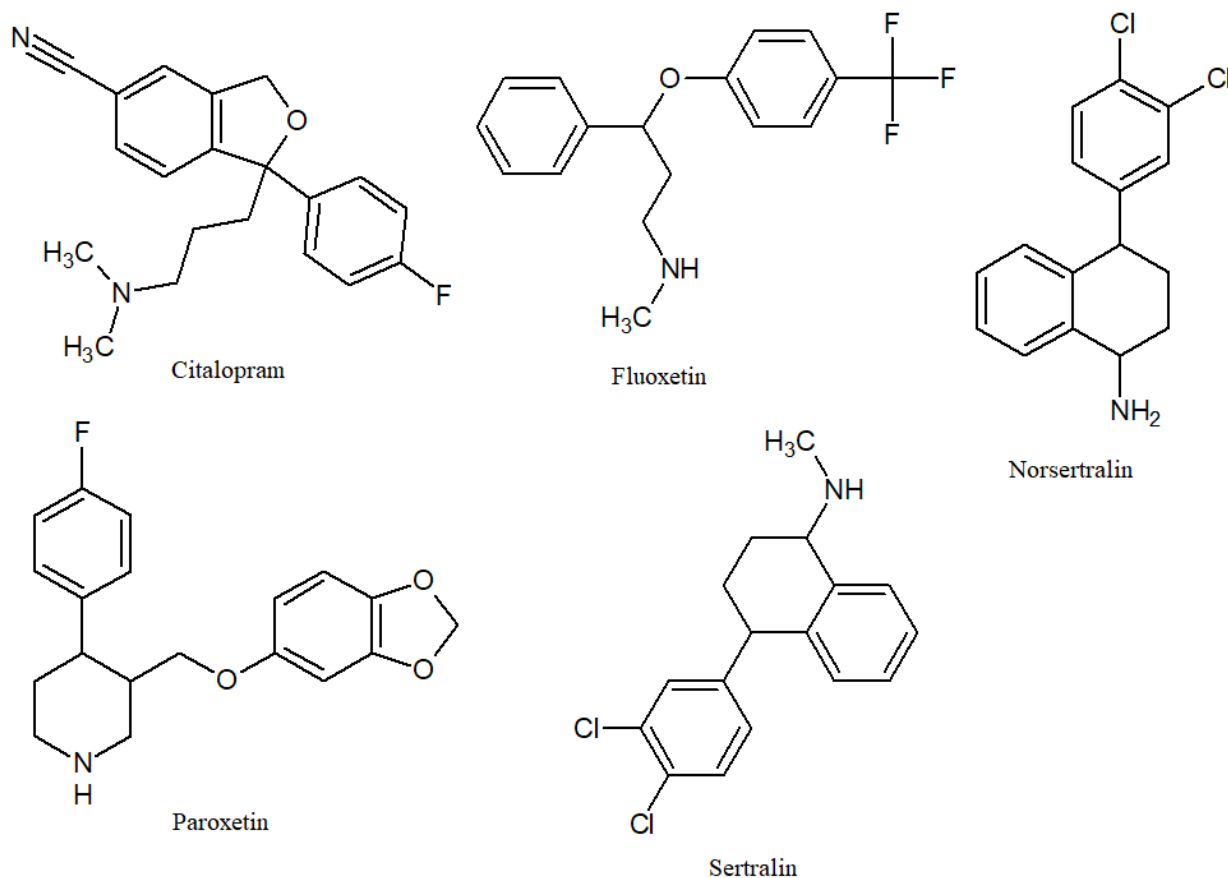
Makrolidová antibiotika neboli makrolidy sestávají z makrocyclického laktonového kruhu nejčastěji obsahujícího 14 až 16 atomů, ke kterému jsou pomocí glykosidické vazby připojeny cukry. Lze je dělit na 14členné makrolidy (erythromyciny A-F, roxithromycin, klarithromycin), 15členné (azithromycin) a 16členné (spiramycin, rosaramicin). Makrolidová antibiotika mají antibakteriální vlastnosti a jsou aktivní vůči grampozitivním bakteriím. Používají se k léčbě stafylokokových infekcí, které jsou rezistentní vůči penicilinu a dále představují alternativu pro pacienty, kteří jsou alergičtí na penicilin [38, 40].



Obrázek 4: Makrolidová antibiotika

6.5.3 Antidepresiva

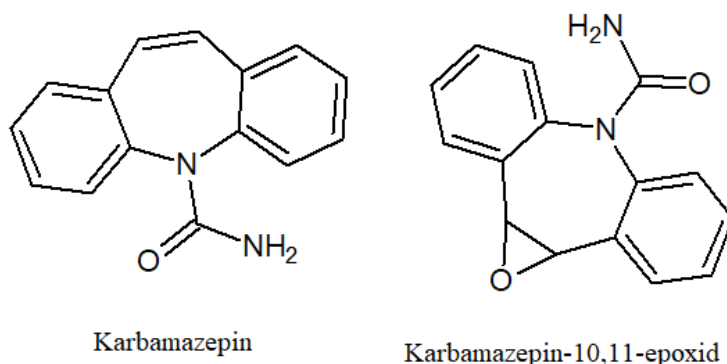
Jedná se o léčiva používaná proti depresím, ke kterým dochází při sníženém obsahu neurotransmiterů katecholaminového typu a serotoninu v mozku. Množství těchto mediátorů lze v synaptické oblasti zvýšit pomocí dvou typů léčiv – thymoleptika (brání zpětnému chodu katecholaminů ze synaptické oblasti do oblasti presynaptických membrán) a thymoeretika (zvyšují koncentraci katecholaminů a serotoninu v mozku tím, že inhibují enzymy metabolizující dané mediátory = monoaminoxidázy). Thymoleptika jsou složena z tricyklických struktur a řadíme sem fluoxetin, sertralin, norsertralin, paroxetin, citalopram a další. Mezi thymoeretika řadíme například fenelin, iproniazid [38].



Obrázek 5: Antidepresiva (SSRI)

6.5.4 Antiepileptika

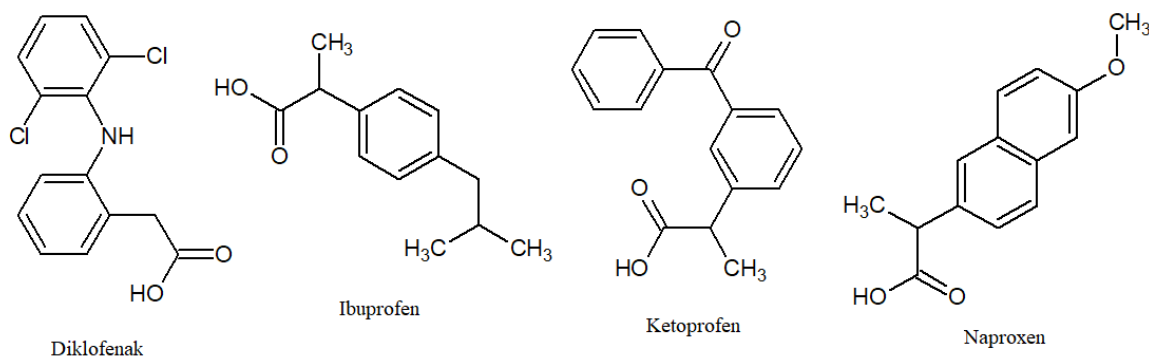
Jedná se o léčiva používaná zejména při léčbě epileptických záchvatů, což jsou náhlé a opakující se záchvaty a dále při léčbě jedinců s bipolární poruchou. Existuje široké spektrum antiepileptik, tudíž jejich mechanismy účinku se u jednotlivých typů částečně liší. Obecně však pomáhají ke stabilizaci membrány nervových buněk, zesilují vliv GABA (gamaaminomáselná kyselina) neurotransmiteru v mozku a blokují vliv jiného neurotransmiteru glutamátu. Mezi nejvíce užívaná antiepileptika patří karbamazepin, jehož hlavním účinkem je blokáce napětově řízených sodných kanálů [41–43].



Obrázek 6: Antiepileptika

6.5.5 Nesteroidní protizánětlivá léčiva

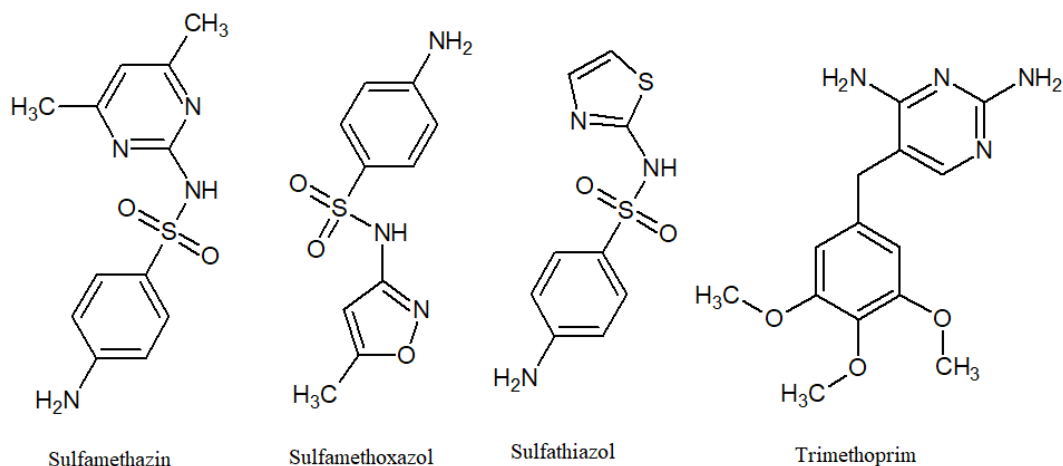
Nesteroidní protizánětlivá léčiva (NSAID) jsou používána jako protizánětlivá, antipyretická a analgetická činidla. Snižují horečku, ulevují od bolesti svalů, pomáhají při migrénách apod. Jejich hlavním mechanismem účinku je inhibice enzymu cyklooxygenázy (COX), který je nutný k přeměně kyseliny arachidonové na tromboxany (adheze krevních destiček), prostaglandiny (vasodilatace) a prostacykliny. Za syntézu prostaglandinů jsou zodpovědné dva izoenzymy cyklooxygenázy označované jako COX-1 (plní fyziologické funkce) a COX-2 (útlum lokální interakce). NSAID jsou nejčastěji dělena podle chemické struktury a selektivity: acetylované salicyláty (aspirin), neacetylované salicyláty (diflunisal, salsalát), kyseliny propionové (naproxen, ibuprofen), kyseliny octové (diklofenak, indometacin), enolové kyseliny (meloxicam, piroxicam), antranilové kyseliny (meklofenamát, kyselina mefenamová), naftylalanin (nabumeton) a selektivní inhibitory COX-2 (celecoxib, rofecoxib) [44, 45].



Obrázek 7: Nesteroidní protizánětlivá léčiva (NSAID)

6.5.6 Sulfonamidy a trimethoprim

Antibakteriální chemoterapeutika jsou léčiva, která jsou používána při léčbě zejména bakteriální infekcí. Jedná se o látky připomínající antibiotika, ale především kvůli jejich chemické struktuře. Mezi nejčastěji užívaná chemoterapeutika patří sulfonamidy (sulfamethoxazol, sulfathiazol, sulfamethazin) a chinolony (ciprofloxacin, ofloxacin). Jak již bylo zmíněno, je užíván při léčbě bakteriálních infekcí např. sulfamethoxazol je nejčastěji v kombinaci s trimethoprimem využíván k léčbě močových infekcí (BISEPTOL) a dále jako antimalarikum [38].



Obrázek 8: Sulfonamidy a trimethoprim

6.6 Nepříznivý vliv některých vybraných léčiv na necílové organismy

Jak již bylo zmíněno, léčivé přípravky mají léčebné či preventivní vlastnosti v případě onemocnění lidí nebo zvířat. Zbytky léčiv a jejich metabolitů mohou být stále po vstupu do vodního prostředí biologicky aktivní a mohou nějakým způsobem ovlivnit necílové organismy. V řadě studií (viz Tabulka 8) bylo potvrzeno, že existují různá léčiva, která jsou i v menších koncentracích škodlivá např. pro nejrůznější druhy ryb a vodních živočichů. Může u nich docházet k deformaci ústních částí, metabolickým změnám, změnám rychlosti růstu, reprodukčním poruchám atd. Pro příklad jsou uvedena některá léčiva jako je karbamazepin, který je obecně špatně rozložitelný v přírodě a je vylučován zejména ve formě metabolitů, diklofenak, který je opět špatně rozložitelný kvůli dvěma atomům chloru vázaných na aromatický kruh, dále ibuprofen jako jedno z nejpoužívanějších léčiv vůbec a další [46–49].

Dalším problémem je antibiotická rezistence neboli schopnost mikroorganismů, zejména bakterií, odolávat látkám, které vůči nim dříve účinkovaly. Lékaři často nedostatečně ověřují, zda jde o bakteriální onemocnění a rovnou nasadí antibiotika. Ročně jich předepisují zhruba 70 tun resp. 15 milionů balení. Rozvoj rezistence ale není způsoben pouze nadužíváním či špatnou diagnózou, je třeba uvažovat nad omezením užívání přípravků s antibakteriální složkou [50, 51].

Tabulka 8: Vliv některých léčiv na necílové organismy

Léčivo	Necílový organismus	Negativní účinek	Citace
Karbamazepin	medaka japonská (<i>Oryzias latipes</i>)	Změny chování – zpomalení rychlosti pohybu – zranitelnější ve vodním prostředí.	[52, 53]
	pstruh duhový (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)		
	kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>)	Negativní účinek na aktivitu enzymů transamináz (v játrech, žábřácích a svalech).	[54]
Diklofenak	sup africký (<i>Gyps africanus</i>)	Úmrtí supů, kteří přijímali diklofenak z masa a vnitřností zvířat – akumulace, následná otrava a smrt.	[55]
	slávička mnohotvárná (<i>Dreissena polymorpha</i>)	Snížení funkce trávicích žláz a poruchy mitochondrií.	[56]
	řada obratlovců	Dochází k poruchám ledvin a gastrointestinálního traktu (GIT).	[57]
Ibuprofen	medaka japonská (<i>Oryzias latipes</i>)	Narušení funkce žláz s vnitřní sekrecí. U samic zvýšení produkce beta estradiolu a u samečků snížení testosteronu.	[58]
	sladkovodní perloočky		
	nezmar štíhlý (<i>Hydra attenuata</i>)	Až 50% úmrtnost embryí nezmarů. U dospělých jedinců dochází k morfologickým změnám, které vedou ke snížení příjmu potravy.	[59]
Sertralin Norsertalin	jeleček velkohlavý (<i>Pimephales promelas</i>)	Léčiva objevena v mozku, játrech a svalovině. Byly zaznamenány změny chování ve vztahu k potravě, poruchy reprodukce a růstu.	[60, 61]
Fluoxetin Metoprolol	vodní živočichové	Narušení homeostázy v celém centrálním a periferním nervovém systému jak u obratlovců, tak i bezobratlých.	[62]
Sulfamethoxazol	hrotnatka velká (<i>Daphnia magna</i>)		
	vodní blecha (<i>Ceriodaphnia dubia</i>)	Vyvolává změny chování a růstu.	[63]
Fluoxetin	sépie obecná (<i>Sepia officinalis</i>)		
	blešivec obecný (<i>Gramarus pulex</i>)	Ovlivnění reprodukce, růstu, imunity, metabolismu nebo lokomoce.	[64]

6.7 *Nepříznivý vliv léčiv na rostliny*

K zavlažování rostlin a zemědělských půd se velmi často používá voda přečištěná z čistíren odpadních vod, ve které se i po přečištění stále nachází určité koncentrace léčiv či jejich metabolitů. Léčiva představují potenciálně problém pro rostliny, které mohou léčiva buď přijmout anebo akumulovat v různých částech rostliny. Většina studií se zabývá především testováním účinků jednotlivých léčiv v koncentracích, které jsou často vyšší než koncentrace, které jsou přítomny v životním prostředí. Novější studie zaznamenávají nepříznivé účinky na růst či produkci rostlin již při nižších koncentracích, tedy koncentracích, které lze očekávat v životním prostředí. Závisí především na koncentraci daného léčiva či na vlivu kombinace různých léčiv nebo metabolitů, které se společně v prostředí vyskytují [65, 66].

7 **Analytické metody stanovení léčiv ve vodě**

V životním prostředí lze v současné době kvalitativně i kvantitativně určit zhruba 100 různých léčiv, avšak např. u nás v České republice je zatím zaregistrováno minimálně 1200 rozličných léčivých přípravků, což znamená, že prozatím sledujeme pouze asi desetinu celkového množství léčiv, které znečišťují životní prostředí. Stanovení těchto látek ve vzorcích odpadní vody je komplikované, a to především kvůli jejich složité matici. Problém při analýze představují interakce léčiv s huminovými kyselinami, nízké koncentrace samotných cizorodých látek, které jsou v řádech $\mu\text{g/l}$ a nižších. Je proto nutno vzorek předupravit. Nejčastěji využívanou metodou pro předúpravu vzorku je metoda SPE (solid phase extraction) neboli extrakce tuhou fází. Pro analýzu těchto látek se nejčastěji využívá metoda LC-MS/MS neboli kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí, a to díky její vysoké selektivitě a citlivosti [19].

7.1 *Extrakce*

Před samotnou extrakcí je třeba vzorek nejdříve přefiltrovat a odstranit tak nečistoty, které by mohly následně ucpat kolonky při extrakci a znemožnit tak další postup zpracování vzorků. Dále z důvodu nízkých koncentrací léčiv ve vodě (záleží na instrumentálním zařízení a na citlivosti přístroje) je pro dosažení detekovatelné úrovně vzorky zakoncentrovat využitím prekoncentračních metod zejména extrakce tuhou fází (SPE).

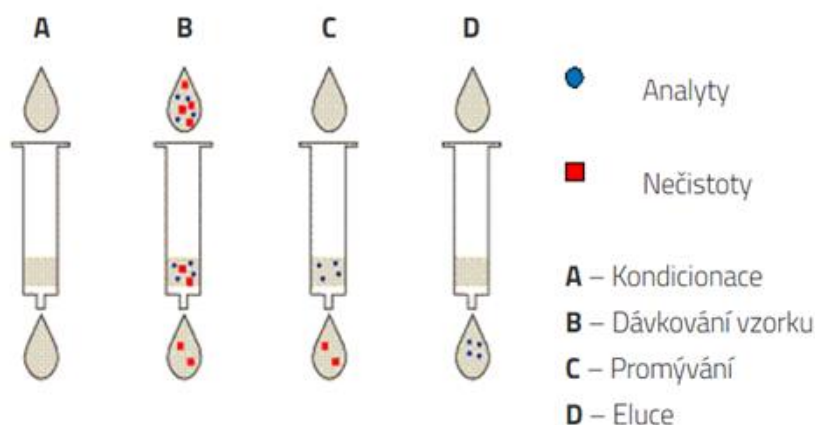
7.1.1 *Extrakce tuhou fází*

Metoda extrakce tuhou fází neboli solid phase extraction (SPE) se v současné době řadí mezi nejvíce využívané extrakční metody. Principem je zde izolace analytů z komplikovaných matic, kdy izolace, přečištění a zakoncentrování analytu je obvykle dosaženo v jednom kroku. Extrakce tuhou fází eliminuje problémy extrakce kapalina-kapalina, kde je velká spotřeba organických rozpouštědel, není možnost automatizace, dochází k tvorbě emulzí a je dražší a časově náročnější. Oproti obvyklým metodám má tato extrakce hned několik výhod – vyšší výtěžnost, nižší spotřebu organických rozpouštědel, účinnější zakoncentrování, nedochází ke tvorbě emulzí, příprava vzorku je snadná a existuje možnost automatizace. Sorbenty, které se používají u tohoto typu extrakce jsou uloženy v kolonkách nebo mohou mít tvar disků (slisovaná skleněná vlákna). Bývají založeny především na bázi chemicky modifikovaných částic silikagelu. Funkční skupiny potom rozhodují o vlastnostech daného sorbentu. Využívají se sorbenty, které fungují na principu normálních fází, reverzních fází, iontově výměnných fází

a dále sem patří také adsorbenty např. silikagel, oxid hlinitý, křemičitan hořečnatý a další. K samotné separaci poté dochází prostřednictvím odlišných interakcí mezi sorbentem a analytem, patří sem zejména nepolární interakce (van der Waalsovy síly), polární interakce (vodíkové vazby, dipól-dipól interakce) a iontové interakce typu přitažlivých sil mezi opačně nabitými ionty (kation-aniontové interakce). K užívaným sorbentům patří dále i molekulárně vtištěné tzv. imprintované polymery. Ty jsou používány v případě, kdy se jedná o selektivní extrakce určitých sloučenin nebo skupin, které jsou si strukturně podobné. Výhodou je, že poskytují vysokou selektivitu a nízké detekční limity [67, 68].

Extrakce na tuhou fázi se skládá z pěti hlavních kroků:

- Výběr vhodného sorbentu.
- Kondicionace sorbentu začíná nejdříve s vodou mísitelným organickým rozpouštědlem (methanol, acetonitril) a následně nanesení rozpouštědla, které má podobné vlastnosti jako vzorek (při extrakci látek z vodných vzorků je nejčastěji volena voda, resp. MQ). Kondicionace zajišťuje smočení sorbentu, tudíž dochází k dostatečné interakci s maticí vzorku.
- Aplikace vzorku, kdy je nutné, aby byla zajištěna dostatečně dlouhá doba kontaktu vzorku se sorbentem.
- Promytí sorbentu případných interferujících látek, kdy je nutno použít takové rozpouštědlo, aby došlo k odstranění interferujících látek, ale aby nedošlo k vyplavení sledovaného analytu.
- Eluce analytu použitím vhodného rozpouštědla v malém objemu, kdy vyšší účinnosti dosahuje tzv. dvoukroková eluce.
- Mezi promytím a elucí bývá často zařazeno sušení ve vakuu, kdy dochází k odstranění zbytkové vlhkosti [67].



Obrázek 9: Průběh extrakce tuhou fází (SPE) [69]

SPE kolonky se skládají ze sorbentu, který je založen na modifikovaném silikagelu nebo na bázi polymerů, které na sobě mají navázané různé funkční skupiny a ty upravují vlastnosti daného sorbentu. Rozlišujeme tři hlavní retenční mechanismy – reverzní fáze, iontově výměnná fáze a normální fáze [70].

- Reverzní fáze – Ve srovnání s normální či iontově výměnnou fází je SPE s reverzní fází považována za nejméně selektivní retenční mechanismus. Pro metodu s reverzní fází může být obtížné rozlišit mezi molekulami, které si jsou strukturně podobné. Jelikož reverzní fáze zadržuje většinu molekul s hydrofobním charakterem, je velmi užitečná pro extrakci analytů, které mají různorodou strukturu v rámci stejného vzorku. Používá se tam, kde se uplatňují nepolární a hydrofobní interakce. Používané sorbenty pro reverzní fázi –C₁₈, C₈, HLB. HLB sorbent (Oasis®) je univerzální sorbent pro kyselé, neutrální a bazické sloučeniny. Jedná se o hydrofilně-lipofilně vyvážený, vodou smáčitelný sorbent s reverzní fází. Je stabilní v rozsahu pH 0-14. Výhodou je jeho vysoká kapacita, vysoká výtěžnost a opakovatelná retence. Vyrábí se ze specifického poměru dvou monomerů: hydrofilního N-vinylpyrrolidonu a lipofilního divinylbenzenu [70, 71].
- Ionově výměnná fáze – Tento retenční mechanismus využívá elektrostatické přitažlivosti nabitých funkčních skupin analytů k opačně nabitým funkčním skupinám na sorbentu [70].
- Normální fáze – Matrice používané pro normální fáze jsou uhlovodíky, mastné oleje zředěné v organickém rozpouštědle (hexan, isooktan, ethylacetát, diethylether). Používá se tam, kde se uplatňují interakce vodíkových vazeb, π - π , dipól-dipól a indukovaný dipól [70].

Tabulka 9: Typy použitých SPE kolonek a použitých rozpouštědel pro vybraná léčiva

Léčivo	Typ sorbentu	Použitá rozpouštědla	Citace
Atenolol Azithromycin Diklofenak Fluoxetin Metoprolol Naproxen Propranolol Sulfamethoxazol Trimethoprim	Oasis HLB, Waters (60 mg) Oasis HBL, Waters (200 mg)	Kondicionace: MeOH, voda Eluce: MeOH	[72]
Diklofenak Karbamazepin Ketoprofen Klarithromycin Naproxen Sulfamehtoxazol	Oasis HLB, Waters (225 mg)	Kondicionace: MeOH + zředěná HCl (pH 4) Eluce: MeOH	[73]
Acebutolol Atenolol Bisoprolol Metoprolol	Oasis HLB, Waters (6 ml/500 mg)	Kondicionace: MeOH, MQ Eluce: MeOH	[74]
Fluoxetin Paroxetin Sertralin Norsertalin	Oasis HLB, Waters (6 ml/500 mg)	Kondicionace: MeOH + voda Eluce: 70% MeOH v 2% octové kyselině	[75]
Citalopram Diklofenak Fluoxetin Ibuprofen Karbamazepin Propranolol Roxithromycin Sertralin Sulfamethoxazol	Oasis HLB, Waters (6 ml/500 mg)	Kondicionace: Dichlormethan, MeOH, MQ Eluce: MeOH + dichlormethan (50:50)	[76, 77]
Sulfamethazin Sulfamethoxazol Sulfathiazol	Oasis HLB, Waters (6 ml/500 mg)	Kondicionace: MeOH, MQ, 0,5 M HCl Eluce: dichlormethan/aceton (3:2)	[78]

7.2 *Kapalinová chromatografie (LC)*

Kapalinová chromatografie je jedna z nejvýznamnějších analytických separačních metod, která umožňuje dělení, identifikaci a stanovení velkého počtu organických i anorganických látek. Základy této metody položil na počátku 20. století ruský botanik Michail Semjonovič Cvět [79, 80].

Principem je dělení složek směsi mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Fáze pohyblivá (kapalina) je označována jako fáze mobilní. Naopak fáze nepohyblivá je označována jako stacionární. Často je pro stacionární fázi užíváno označení sorbent. Tímto sorbentem je naplněná kolona, kterou prochází jistou rychlostí fáze mobilní. Při styku těchto dvou fází dochází ke vzájemným interakcím, které budou rozhodovat o tom, jak bude separační proces probíhat. V praxi je dnes využíván především eluční způsob vyvíjení, kdy je vzorek nadávkován na kolonu na začátku analýzy a jeho složky jsou silněji sorbovány než složky mobilní fáze. Složky vzorku jsou jednotlivě eluovány v závislosti na afinitě ke stacionární a mobilní fázi. Pokud má složka vzorku větší afinitu ke stacionární fázi, tak bude v koloně setrvávat déle a její retenční čas bude delší. Retenční čas je charakteristická veličina využívaná v chromatografii, která udává dobu od nástřiku vzorku na kolonu po maximum píku [79, 80].

Kapalinový chromatograf se obecně skládá z několika částí. První je zásobník mobilní fáze, ze zásobníku je mobilní fáze při izokratické eluci (složení mobilní fáze je po celou dobu analýzy stejné) vedena přes odplyňovač do vysokotlakého čerpadla. U gradientové eluce (složení mobilní fáze se mění v průběhu analýzy) jsou navíc komponenty mobilní fáze přiváděny ze zásobníku do směšovače, kde jsou smíseny podle nastavených parametrů v určitém poměru, jsou odplyněny a dále postupují do čerpadla. Při ionizaci pomocí ESI (ionizace kapalných látek) jsou do mobilní fáze často přidávána těkavá aditiva např. kyselina mravenčí, kyselina octová, mravenčan amonný, octan amonný apod. Tato aditiva mohou mít příznivý vliv při analýze na výslednou intenzitu iontu daného poměru m/z . Z čerpadla je mobilní fáze vedena do kolony (nejčastěji nerezová), která je obvykle opatřena předkolonou, která chrání kolonu před mechanickými nečistotami či případnými nežádoucími interakcemi. Vnitřní průměr kolon se pohybuje v rozmezí 1–4,6 mm s délkou okolo 5–25 cm, které jsou naplněny částicemi o velikosti 1,7–5 μm . Pokud jde o systém s normálními fázemi, tak je jako mobilní fáze používáno nepolární organické rozpouštědlo (hexan, heptan, tetrahydrofuran) a stacionární fází je silikagel. Pokud se jedná o systém s reverzní fází, tak je mobilní fází polární rozpouštědlo (voda + MeOH/acetonitril) a stacionární fází je modifikovaný silikagel, nejčastěji oktadecyl (C18). Hned za ní je napojen detektor (UV/VIS, hmotnostní, s diodovým polem), který je spojen s počítačem [79–83].

7.3 *Hmotnostní spektrometrie*

Základním principem hmotnostní spektrometrie je ionizace molekul, kdy dochází k nevratnému odštěpení valenčních elektronů. Takto vznikají tzv. molekulové ionty a jejich dalším štěpením vzniklé fragmenty jsou následně rozdělovány podle jejich poměru hmotnosti a náboje tzv. efektivní hmotnosti (m/z), a při dopadu na detektor je zjištěno jejich množství. Výstup takového měření je hmotnostní spektrum, které je závislostí četnosti jednotlivých iontů na jejich poměru m/z . Hmotnostní spektrometr je složen ze tří základních částí: z iontového zdroje, analyzátoru a detektoru [79].

Hmotnostní spektrometrie je využívána ve strukturní analýze k identifikaci chemických látek a dále hlavně ve spojení s kapalinovou či plynovou chromatografií [79].

7.3.1 Iontový zdroj (ionizace)

Iontový zdroj slouží k převodu neutrálních molekul sledované látky na nabitě částice neboli ionty. Ionizační techniky dělíme na tvrdé a měkké [84].

Tvrdá ionizační technika znamená, že dochází k získání nadbytku vnitřní energie, čímž dochází k fragmentaci molekulového iontu na tzv. fragmentové ionty. Řadíme sem metodu elektronové ionizace (EI), která je využívána zejména pro ionizaci z plynného stavu. Tato technika produkuje pouze kationty, ale její výhoda spočívá v reprodukovatelnosti fragmentace, díky níž je možné vytvářet knihovny spekter. U měkkých ionizačních technik ionizovaná molekula získává daleko menší množství energie, tudíž ve spektrech pozorujeme především protonované či deprotonované molekuly a jen malé množství fragmentů. Do těchto technik řadíme například chemickou ionizaci (CI) pro plynné látky, elektrosprej (ESI) pro kapalně látky a laserovou desorpci za účasti matrice (MALDI) pro pevné látky [84].

Měkké ionizační techniky, na rozdíl od tvrdých, poskytují jak kationty, tak i anionty. Chemická ionizace je metoda založená na interakci elektronů a reakčního plynu (methan, ethan). Dochází zde ke vzniku velmi reaktivních specií, které dále ionizují molekuly analytu. Touto metodou však nelze vytvářet knihovny spekter jako je tomu u elektronové ionizace [84].

Elektrosprej představuje nejvýznamnější techniku pro kapalně vzorky. Principem je převod iontů z kapalně fáze do fáze plynné. Elektrosprej se skládá z nerezové kapiláry, která obsahuje vzorek a tato kapilára stojí proti vstupu do hmotnostního analyzátoru, na který je vkládán záporný náboj. Postupným zvyšováním napětí dojde k redistribuci náboje v kapalině, kde jsou kladně nabitě ionty kapilárou odpuzovány a jsou tedy soustředovány do středu kapiláry, a naopak záporně nabitě ionty jsou přitahovány ke stěně kapiláry. Dochází zde k tvorbě tzv. Taylorova kuželu (kladné ionty jsou odpuzovány od elektrody a přitahovány k záporné elektrodě). Ze špičky Taylorova kužele vylétají kladně nabitě ionty a jsou tzv. sprejovány z prostředku kapaliny do prostoru se zvýšenou teplotou (cca 350 °C), čímž dochází k přechodu kapaliny do plynné fáze. Při postupném odpařování rozpouštědla jsou kapénky zmenšovány a stejně nabitě ionty se začnou přibližovat. Jak se přibližují, tak odpudivé síly stále narůstají až dojde ke Coulombické explozi, kdy se kapičky rozpadnou na ještě menší kapénky. Daný proces je opakován až do uvolnění jednotlivých iontů, které jsou přeneseny do analyzátoru. Pro zlepšení průtoku mobilní fáze je u elektrospreje využíván zmlžovací plyn (nejčastěji dusík) a může tak být dosaženo průtoku až 0,5 ml/min [84].

Metoda MALDI se skládá ze třech hlavních kroků. Nejdříve dochází ke smísení vzorku s vhodnou matricí a tato směs je aplikována na kovovou destičku, která je ozářena laserem (po dobu zhruba 3 ns), kde energii dodávají fotony v něm obsažené. Fotony jsou přeměněny částečně na tepelnou energii, čímž dojde k odpaření malého množství vzorku a matrice a jsou také částečně absorbovány matricí. Fotony tak matrici excitují a tyto excitované molekuly přenášejí jeden proton na neutrální molekuly analytu a ionizují je [84].

7.3.2 Analyzátoary

Hmotnostní analyzátoary představují klíčovou část hmotnostního spektrometru. Dochází v něm k separaci iontů podle poměru m/z (hmotnost/náboj). Analyzátoary existuje mnoho, ale všechny využívají statické či dynamické elektrické nebo magnetické pole, popřípadě jejich kombinaci. Analyzátoary lze rozdělit na skenovací, které souvisle v čase separují a vysílají směrem k detektoru ionty o určitém poměru m/z . Mezi skenovací analyzátoary řadíme například kvadrupólové analyzátoary. Další skupinu tvoří analyzátoary s transmisí všech iontů zároveň do letové trubice, ve které dojde k separaci podle rozdílných dob letu k detektoru (průletový analyzátoar – TOF). Do třetí skupiny řadíme analyzátoary, které zachycují ionty v pasti či cele (iontová past, orbitrap) [85, 86].

V dnešní době je nejvíce využíván kvadrupól, který se skládá ze čtyř molybdenových tyčí (asi 20–30 cm). Tyče jsou rozdělené po dvou, kdy vždy protilehlé tyče jsou vodivě spojeny a je na ně vkládáno střídavé napětí a následně stejnosměrné napětí (protilehlé elektrody mají stejnou polaritu). Jakmile se ion dostane mezi tyče, je přitahován nejbližší opačně nabitou tyčí, ale jak se k ní přiblíží, tyč změní polaritu a ion je přitahován k další tyči opačně nabitě. Tento proces je opakován, dokud ion neproletí kvadrupólem. Pokud se ion pohybuje po stabilní trajektorii, tak prolétne mezi tyčemi a dopadá na detektor, ale pokud se pohybuje po nestabilní trajektorii, tak je vychýlen a nedoputuje do detektoru. Výhodou kvadrupólu je relativně nízká pořizovací cena, rychlý záznam spektra a jednoduchá konstrukce. Pro zlepšení citlivosti, robustnosti a specifity při analýze je v dnešní době využíván tzv. trojitý kvadrupól (TQ) [85, 86].

7.3.3 Detektory

Poslední součástí hmotnostního spektrometru je detektor, který slouží k detekci iontů rozdělených podle poměru m/z a k určení relativní četnosti jednotlivých iontů. Nejvíce je využíván elektronásobič s diskretním dynodovým systémem či s kontinuálním systémem dynod. Signál z elektronásobiče je zaznamenáván počítačem [87].

7.4 Stanovení reziduí léčiv pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí

V důsledku lidské činnosti dochází ke stálému zvyšování koncentrací nežádoucích látek v životním prostředí, například právě léčiv ve vodách. Vzhledem k nízkým koncentracím léčiv ve vodním prostředí (od 1 ng/l až po 1 mg/l) je nutno pro analýzu použít vysoce citlivé metody jako jsou např. metody vysokoúčinná či ultraúčinná kapalinová chromatografie (HPLC/UPLC) s hmotnostní detekcí. Metoda UPLC, stejně jako metoda HPLC, je používána k separaci různých složek nacházejících se ve směsi s tím rozdílem, že UPLC pracuje při vyšších tlacích (15 000 psi) a umožňuje nižší velikosti částic v kolonách. Délka kolon používaných u UPLC je obvykle 10 cm s vnitřním průměrem 1–2,1 μm , naplněná částicemi o velikosti menší než 2 μm . UPLC zlepšuje citlivost a rozlišení analytu, snižuje spotřebu rozpouštědla a velmi výrazně zkracuje dobu analýzy. Tato metoda je používána zejména k identifikaci a kvantifikaci jednotlivých složek v komplikovaných vzorcích jako jsou např. biologické vzorky, léčiva, potravinové doplňky a další [88, 89].

Technika LC-MS kombinuje separační schopnost techniky HPLC pro materiály, které mají vysokou molekulární hmotnost a schopnost hmotnostního spektrometru selektivně detekovat a potvrzovat identitu molekul. Tuto metodu řadíme mezi nejcitlivější metody, které jsou užívány ke kvantitativní analýze a v současné době je daná metoda stále více používána v praxi

např. při farmaceutickém výzkumu, ekologické analýze, analýze potravin a v soudním lékařství [88].

Jako stacionární fáze jsou využívány různě modifikované silikagely s navázaným alkylovým řetězcem, kde se nejčastěji jedná o oktadecyl. Jako mobilní fáze je užíváno směsí acetonitril/voda nebo methanol/voda s různým obsahem organické složky. Kvůli tomu, že potřebujeme stanovit nízké koncentrace, nelze v kombinaci s HPLC použít některé detektory z důvodu nedostatečné citlivosti. Proto je HPLC využívána s hmotnostní detekcí, která představuje dostatečnou citlivost pro stanovení daných koncentrací [90].

Jak již bylo zmíněno, hmotnostní detektor je složen z několika hlavních částí, mezi které patří iontový zdroj, hmotnostní analyzátor, detektor iontů a zdroj vakua. Iontový zdroj slouží k převedení molekul analytu na nabitě částice (dochází k tzv. ionizaci), konstrukce potom záleží na použité ionizační technice. V tomto případě je nejčastěji využívanou ionizační technikou elektrosprej (ESI). Jedná se o měkkou ionizační techniku, která probíhá za atmosférického tlaku a tvoří ionty $[M+H]^+$, $[M-H]^-$, popřípadě jiné adukty. Jako hmotnostní analyzátor je nejčastěji používán kvadrupól či sférická iontová past. Detektorem iontů získaných z kvadrupólu nebo iontové pasti je např. elektronásobič s kontinuální dynodou, který se skládá z konverzní dynody, která konvertuje ionty na sekundární a ty dále lavinovým dějem emitují další elektrony a následně je měřen vzniklý proud [90].



Obrázek 10: Kapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity s hmotnostním spektrometrem Bruker EVOQLC-TQ

Tabulka 10: Podmínky pro stanovení léčiv ve vodách pomocí LC-MS/MS

Léčivo	Mobilní fáze	Stacionární fáze	Ionizace	Citace
Atenolol Diklofenak Erythromycin Ibuprofen Karbamazepin Ketoprofen Klarithromycin Metoprolol Naproxen Roxithromycin Sulfamethazin Sulfamethoxazol Trimethoprim	A: MeOH B: 0,1% HCOOH + 5 mM mravenčan amonný ve vodě	Zorbax Eclipse XDB-C18 (100 x 4,6 mm, 3,5 μm)	ESI+	[91]
	A: MeOH B: 0,05% CH ₃ COOH ve vodě	Zorbax Eclipse XBD-C18 (150 x 4,6 mm, 3,5 μm)	ESI-	
Ibuprofen CA a OH-ibuprofen	A: MeOH B: 0,05 % CH ₃ COOH ve vodě	Water XBridge®-C18 (150 x 4,6 mm, 3,5 μm)	ESI-	[92]
Diklofenak Erythromycin Ibuprofen Propranolol Sulfamethoxazol Trimethoprim	A: MeOH B: 40 mM octan amonný ve vodě	Phenomenex C18 Luna (250 x 2 mm, 5 μm)	ESI+	[93]
Sulfamethazin Sulfamethoxazol Sulfadiazin Acetylované metabolity	A: MeOH B: destilovaná voda	Phenomenex Kinetex C18 (100 x 2,1 mm, 2,6 μm)	ESI+	[94]
Citalopram Fluoxetin Paroxetin Sertralin	A: acetonitril B: 2 mM mravenčan amonný ve vodě	Sunfire C18 (200 x 2,1 mm, 3,5 μm)	ESI+	[95]
Acebutolol Atenolol Bisoprolol Metoprolol Propranolol	A: voda/acetonitril/HCOOH B: acetonitril/HCOOH	SB-C8 (12,5 x 2,1 mm, 5 μm) Zorbax SB-C8 (150 x 2,1 mm, 3,5 μm)	ESI+	[96]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

8 Přístroje a pomůcky

- Přístroj pro přípravu milli-Q vody Millipore QGARD, Academic, Millipore, Německo
- Kapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity, Agilent Technologies, USA
- Kolona LUNA OMEGA C18 – délka 100 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 1,7 μm , opatřena předkolonou UHPLC Fully Porous C18, vnitřní průměr 2,1 mm, Phenomenex, USA
- Hmotnostní spektrometr BRUKER EVOQLC-TQ, Německo
- Analytické váhy HR-120-EC, A & D Instruments Ltd., Velká Británie
- Ultrazvuková vodní lázeň Kraintek 5, ČR
- Generátor dusíku a vzduchu Peak Scientific – Genius 3045, Velká Británie
- Přístroj pro sušení pod dusíkem Evaterm, LABICOM s. r. o., ČR
- SPE extraktor SUPELCO a J. T. Baker, Německo
- Vakuová pumpa KNF LAB LABOPORT, Německo
- SPE kolony – Oasis HLB 200 mg/6 ml, Waters, USA
- Filtry se skleněnými vlákny NM GF-1, velikost pórů, průměr 55 mm, Macherey-Nagel, Německo
- Filtry se skleněnými vlákny GC-50, velikost pórů 0,5 μm , průměr 55 mm, ADVANTEC®, Japonsko
- Filtry – stříkačkové nylonové filtry 0,22 μm , Nylon 66, průměr 13 mm, CHROMSERVIS, ČR
- Silikonová septa – 9 mm, CHROMSERVIS, ČR
- Pasteurovy pipety
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

Používaný software pro zpracování dat:

- MS Excel 2019
- MS Word 2019
- ChemSketch 2019
- Bruker Compass HyStar version 5.1.8.1, Bruker Daltonik GmbH 2019
- Bruker Daltonics MS Workstation version 8.2.1, Bruker Daltonik GmbH 2017
- TASQ version 2.2.14 1533, Bruker Daltonik GmbH 2018

Použité chemikálie a standardy

Chemikálie:

- Kyselina mravenčí o čistotě $\geq 98\%$, Sigma Aldrich
- Methanol – LC-MS CHROMASOLV®, Fluka Analytical
- Methanol – CHROMASOLV® for HPLC $\geq 99,9\%$, Sigma Aldrich
- Voda, HiPerSolv CHROMANORM® for LC-MS, suitable for UPLC, VWR
- Milli-Q voda

Standardy:

- Acebutolol hydrochlorid – Sigma Aldrich, čistota 99 %
- Atenolol – Sigma Aldrich, čistota 99,1 %
- Azithromycin – Sigma Aldrich, čistota 95,2 %
- Bisoprolol – Sigma Aldrich, čistota 98 %
- Citalopram hydrobromid – Sigma Aldrich, čistota 99,7 %
- Diclofenac – Supelco, čistota $\geq 98,5$ %
- Erythromycin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 95 %
- Fluoxetin hydrochlorid – Sigma Aldrich, čistota 99,95 %
- Ibuprofen – Supelco, čistota ≥ 98 %
- Karbamazepin – Sigma Aldrich, čistota 99,8 %
- Karbamazepin-10,11-epoxid – Sigma Aldrich, čistota 98 %
- Ketoprofen – Sigma Aldrich, čistota ≥ 98 %
- Klarithromycin – Sigma Aldrich, čistota 99,5 %
- Metoprolol – Sigma Aldrich, čistota 99,2 %
- Naproxen – Sigma Aldrich, čistota ≥ 98 %
- Nosertralin hydrochlorid – LGC standards, čistota 99,4 %
- Paroxetin hydrochlorid hemihydrát – Sigma Aldrich, čistota 97,5 %
- Propranolol hydrochlorid – Sigma Aldrich, čistota 99,8 %
- Roxithromycin – Sigma Aldrich, čistota ≥ 90 %
- Sertralin hydrochlorid – Sigma Aldrich, čistota 100 %
- Sulfamethazin – Sigma Aldrich, čistota 99–101 %
- Sulfamethoxazol – Sigma Aldrich, čistota 99,5 %
- Sulfathiazol – Supelco, čistota ≥ 98 %
- Trimethoprim – Sigma Aldrich, čistota 99,1 %

Interní standardy:

- Atenolol d7 – Sigma Aldrich
- Azithromycin d3 – Toronto Research Chemicals
- Fluoxetin d5 (1 mg/ml v MeOH) – Sigma Aldrich
- Karbamazepin d10 (100 μ g/ml v MeOH) – Sigma Aldrich
- Klarithromycin d3 – Toronto Research Chemicals
- Propranolol d7 (100 μ g/ml v MeOH) – Sigma Aldrich
- Sertralin d3 (100 μ g/ml v MeOH) – Sigma Aldrich
- Sulfamethoxazol d4 (100 μ g/ml v MeOH) – Neochema
- Trimethoprim d9 – Sigma Aldrich

Plyn:

- Dusík – 4.7 Siad Czech spol. s. r. o.
- Argon – 5.0 SIAD Czech spol. s.r.o.

Sledovaná matrice:

Odpadní voda z domovních čistíren odpadních vod. Vzorky byly odebrány na čtyřech domovních čistírnách odpadních vod vždy na odtoku do plastových lahví o objemu 1500 ml.

Tabulka 11: Vzorky z domovních čistíren odpadních vod

ČOV	Datum odběru	Odběr [ml]
1	18.6. 2021 – první odběr 24.11. 2021 – druhý odběr	1500
2	19.10. 2021	1500
3	20.10. 2021	1500
4	20.10. 2021	1500

Tabulka 12: Typ čistíren, ze kterých byly získány vzorky k analýze

Číslo	Typ čistírny	Uvedení do provozu	Používáno
1	AT 150 s řídicí jednotkou	28. 4. 2016	Firmou
2	AT 12 Plus s řídicí jednotkou	29. 6. 2018	Firmou
3	AT 6 + 30 cm s řídicí jednotkou	12. 6. 2018	Čtyřčlennou rodinou
4	AT 30 s řídicí jednotkou	1. 6. 2018	Domovem s pečovatelskou službou

Odpadní voda z kořenové čistírny odpadních vod v Dražovicích na Vyškovsku (k 01.01.2022 953 obyvatel). Odebráno bylo vždy cca 1000 ml odpadní vody do skleněných lahví na pěti různých částech kořenové čistírny – na přítoku, za usazovací nádrží, za horizontálním filtrem, za vertikálním filtrem a na odtoku. Vzorky byly odebrány ve dnech: 31.01.2022, 16.02.2022, 21.03.2022 a 26.04.2022.

9 Čistírny odpadních vod

Biologické čistírny odpadních vod jsou založeny na moderních technologiích tzv. Vertical Flow Labyrinth (VFL) a Upflow Sludge Blanket Filtration (USBF). Jde o pokrokové a cenově dostupné řešení čištění odpadních vod z menších zdrojů znečištění, jako jsou například rodinné domy, hotely a penziony, satelitní obce či města. Přecházející voda z biologických čistíren odpadních vod splňuje se značnou rezervou limity přípustného stupně znečištění vody u jednotlivých ukazatelů dle nařízení vlády č. 401/2015 Sb. Jejich účinnost se pohybuje mezi 80–98 %. Přecházející vodu je tedy možné vypustit do povrchových vod [97].

V jedné nádrži bioreaktor interaguje aktivační a separační část. Principem je biologicko-aerobní způsob čištění, kde dochází k rozkladu organické hmoty za pomoci směsi mikroorganismů (bakterií) za aerobních podmínek. Při čistícím procesu je amoniakální znečištění odstraněno oxidací na dusičnany (nitrifikace) a následně je dusičnanové znečištění odstraněno (denitrifikace). Tyto čistírny mohou také částečně odbourávat fosfor. Aktivace pracuje s malým zatížením kalu a k oddělování aktivovaného kalu od vyčištěné vody je v separační části používán fluidní filtr. Následně po odseparování odtéká vyčištěná voda přepadem a aktivovaný kal je recirkulací vrácen zpět do čistícího procesu. Využitím dané technologie v čistícím procesu je zajištěna vysoká kvalita vyčištěné vody a nízké provozní i investiční náklady [97].



Obrázek 11: Návrh uspořádání domovní čistírny [97]

9.1 Domovní ČOV (1–20 EO)

Domovní čistírny jsou vhodné pro čištění splaškové vody z bytů, rodinných domů, rekreačních objektů, u kterých není možnost napojení na kanalizaci, která vede do centrální čistírny odpadních vod. Lze jimi čistit vodu pocházející z různých zdrojů domácnosti, jako jsou pračky, myčky a toalety, bez použití speciálních přípravků [97].

9.1.1 AT 6 až AT 20 (Plus)

Tento typ čistíren slouží k čištění splaškových odpadních vod z rodinných domů, skupin domů, obytných budov či ze zdrojů odpadních vod, kde je produkována splašková odpadní voda. Čistírny odpadních vod označované Plus představují nejvyšší komfort užívání, nejvyšší účinnost čištění (93–98 %) a dosahují nejnižší spotřeby elektrické energie [98, 99].

Tabulka 13: Technické parametry čistíren typu AT 6 až AT 20 (Plus) [98, 99]

Typ	Připojení obyvatelé	Průměr a výška reaktoru [mm]	Průměr vstupu [mm]	Výška a DN přítoku/odtoku [mm]	Hmotnost [kg]	Užitný objem [m ³]	Dmychadlo [W]	Napětí [V]
AT 6	2–5	1400x1800	1400	1300/1150 – DN125	105	1,7	50	230
AT 8	6–7	1400x2200	1400	1700/1500 – DN125	125	2,2	60	230
AT 10	8–9	1750x2200	1400	1500/1250 – DN125	195	3,1	60	230
AT 12	9–10	1750x2400	1400	1700/1500 – DN125	225	3,7	80	230
AT 15	11–15	2050x2200	1400	1700/1500 – DN150	330	5,1	100	230
AT 20	16–20	2050x2700	1400	2200/2000 – DN150	440	6,7	120	230

Tabulka 14: Kvalita vody na odtoku [98, 99]

Parametr	Průměrně dosahované hodnoty [mg/l]	Garantované hodnoty [mg/l]
CHSK _{Cr}	35	75
BSK ₅	10	15
NL	10	20
N-NH ₄	2	5
Nc	15	25
Pc	3	7

9.2 Středně velké ČOV (30–250 EO)

Středně velké čistírny odpadních vod jsou vhodné pro čištění splaškových vod z hotelů a penzionů, bytů, skupin domů a částí obcí, u kterých není možné napojení na kanalizaci vedoucí do centrální čistírny odpadních vod. Jejich použití je vhodné zejména v koncepci decentralizované kanalizace, kde je realizace kanalizačních sběračů drahá nebo velmi složitá [97].

9.2.1 Oválné AT 30 až AT 250

Čistírny odpadních vod tohoto typu jsou vyhotoveny jako jednonádržové, ale je možnost zapojit je i ve více liniích paralelně [100].

Tabulka 15: Technické parametry čistíren typu ovál AT 30 až AT 250 [100]

Typ	Navrhovaný max. průtok [m ³ /den]	Návrhové zatížení [kg BSK ₅ /den]	Délka, šířka a výška reaktoru	Výška přítoku/odtoku [mm]
AT 30	4,5	1,8	3720x2260x2250	1700/1500
AT 40	6,0	2,4	4660x2260x2250	1700/1500
AT 50	7,5	3,0	4850x2260x2500	2200/1900
AT 75	11,3	4,5	5160x2260x2250	2200/1900
AT 100	15,0	6,0	6410x2260x2500	2200/1900
AT 120	18,0	7,2	7110x2260x2250	2200/1900
AT 150	22,5	9,0	8560x2260x2500	2200/1900
AT 175	26,3	10,5	9760x2260x2250	2200/1900
AT 200	30,0	12,0	10960x2260x2500	2200/1900
AT 225	33,8	13,5	12000x2260x2250	2200/1900
AT 250	37,5	15,0	13460x2260x2500	2200/1900

Tabulka 16: Další technické parametry čistíren typu ovál AT 30 až AT 250 [100]

Typ	Hmotnost [kg]	Užitný objem [m ³]	Počet reaktorů	Instalovaný příkon [kW]
AT 30	750	11,6	1	0,36
AT 40	850	15,0	1	0,45
AT 50	940	19,5	1	0,45
AT 75	1040	19,8	1	0,72
AT 100	1400	25,5	1	0,72
AT 120	1460	28,5	1	0,90
AT 150	1750	35,0	1	1,08
AT 175	2000	40,5	1	1,08
AT 200	2230	45,3	1	1,35
AT 225	2360	49,8	1	1,35
AT 250	2800	60,0	1	1,35

Tabulka 17: Kvalita vody na odtoku [100]

Parametr	Průměrně dosahované hodnoty [mg/l]	Garantované hodnoty [mg/l]
CHSK _{Cr}	35	70
BSK ₅	10	15
NL	15	20
N-NH ₄	2	5
N _c	15	25
P _c	3	7

9.3 Velké komunální ČOV (300–2000 EO)

Velké komunální čistírny odpadních vod jsou vhodné pro centrální čištění komunálních a splaškových odpadních vod z menších měst či obcí do zhruba 2000 EO. Jsou schopny zvládnout zdroje splaškových vod v objemech v rozmezí 45 až 300 m³ za den. Tyto čistírny je možné po předčištění průmyslových odpadních vod s organickým znečištěním použít na biologické dočišťování např. u mlékáren, sýráren a vinařských závodů [97].

10 Kořenová čistírna odpadních vod v Dražovicích

V roce 2000 byla do provozu uvedena kořenová čistírna v Dražovicích obsahující tři kořenová pole, která čistí odpadní vodu od všech 953 obyvatel Dražovic (údaj z roku 2022). Odpadní voda protéká kořenovými poli a za pomoci mikroorganismů a kořenů rostlin, které na sebe váží různé nečistoty, dochází k čištění. Po přečištění odchází do Dražovického potoka užitková voda [101].

Klasické kořenové čistírny jsou založeny na co nejjednodušším technickém provedení a uspořádání. Jde o vyhloubenou jámku, a to zhruba jeden metr hluboké pole, které je třeba odizolovat od podloží. Následně je jámka vyplněna štěrkem, osázena mokřadními rostlinami, přes které protéká odpadní voda (horizontální čištění). Tímto způsobem byla realizována i kořenová čistírna v Dražovicích, ale problém tvořil amoniakální dusík, se kterým má obecně tento druh čistírny problém. V létě roku 2019 byla proto kořenová čistírna v Dražovicích zmodernizována. Modernizací prošlo konkrétně třetí kořenové pole, které teď funguje na principu vertikálního čištění, kde voda prokapává skrze vlhké prostředí pískového charakteru. Provoz této čistírny je levnější, a navíc není třeba budovat oddělené kanalizace na dešťovou a splaškovou vodu [101, 102].



Obrázek 12: Třetí kořenové pole (vertikální čištění)

11 Filtrace vzorků z čistíren odpadních vod

Všechny vzorky byly hned po odběrech přefiltrovány. Na filtraci byly použity filtry o průměru 55 mm s velikostí pórů 0,7 μm nebo 0,5 μm . Po filtraci byly vzorky uloženy do mrazáku, popřípadě do lednice, pokud byly do týdne zpracovány.

12 Příprava roztoků – interní standardy

12.1 Zásobní roztoky ISTD

Některé interní standardy jsem měla k dispozici ve formě roztoku od dodavatele (většinou 100 $\mu\text{g/ml}$ nebo 1 mg/ml u Fluoxetinu d5). Ostatní ISTD v pevné podobě byly rozpuštěny ve vypočteném množství MeOH. U interních standardů nebylo tolik důležité získat roztoky o přesné koncentraci, proto nebyly připravovány vážkově ani nebyla navážka korigována na případnou čistotu. V případě Klarithromycin-N-methylu d3, Azithromycinu d3, Trimethoprimu d9 a Azithromycinu d7 byly připraveny roztoky o koncentraci 1 mg/ml v methanolu. Standardy byly uchovány v mrazáku.

12.2 Směsný zásobní roztok ISTD

Z jednotlivých roztoků ISTD o koncentraci 1 mg/ml či 100 $\mu\text{g/ml}$ bylo odebráno 20 μl či 200 μl a objem byl MeOH doplněn do 2 ml. Roztok o koncentraci 10 $\mu\text{g/ml}$ byl ponechán v mrazáku.

12.3 Směsný pracovní roztok ISTD

Směsný zásobní roztok byl dále ředěn MeOH na koncentraci 500 ng/ml . Tento roztok sloužil k přípravě kalibrace a fortifikaci ISTD do jednotlivých vzorků odpadní vody. Později se ukázalo, že koncentrace Klarithromycin-N-methylu d3 500 ng/ml je ke spolehlivé kvantifikaci příliš nízká, proto bylo množství tohoto ISTD ve směsi při další přípravě navýšeno na koncentraci 750 ng/ml . Roztok byl uchováván v mrazáku.

13 Příprava roztoků na kalibraci

Byly připraveny roztoky kalibrace podle následujících tabulek. Všechny roztoky byly připravovány pomocí mikrostřičkaček Hamilton s vhodně zvoleným objemem.

13.1 Směsný roztok

Nejprve byl připraven směsný roztok léčiv o koncentraci 1 mg/ml . Bylo naváženo vždy 10 mg daného léčiva a tato navážka byla kvantitativně přenesena do odměrné baňky o objemu 10 ml. Směsný roztok byl doplněn methanolem po rysku. Tento roztok byl dále zředěn na koncentraci 100 $\mu\text{g/ml}$ (ZR = zásobní roztok).

13.2 Směsný zásobní roztok

Tabulka 18: Příprava směsného zásobního roztoku v MeOH

ze směsného roztoku odebráno [ml]	0,5
V_{roztoku} [ml]	5
C_{roztoku} [$\mu\text{g/ml}$]	100
C_{roztoku} [ng/ml]	100 000

13.3 Směsný pracovní roztok 1

Tabulka 19: Příprava směsného pracovního roztoku 1 (PR-1) MeOH

ze ZR odebráno [ml]	0,5
V _{roztoku} [ml]	5
C _{roztoku} [µg/ml]	10
C _{roztoku} [ng/ml]	10 000

13.4 Směsný zásobní roztok 2

Tabulka 20: Příprava směsného pracovního roztoku 2 (PR-2) v MeOH

z PR-1 odebráno [ml]	0,5
V _{roztoku} [ml]	5
C _{roztoku} [µg/ml]	1
C _{roztoku} [ng/ml]	1 000

13.5 Kalibrace

Byla připravena kalibrační řada o osmi bodech v rozmezí koncentrací 1 až 250 ng/ml. Každý roztok byl připravován do odměrné baňky o objemu 5 ml a následně doplněn MQ po rysku. Roztoky byly opět odebírány pomocí vhodných mikrostřikaček Hamilton.

Tabulka 21: Příprava kalibrační řady

	c [ng/ml]	V _{roztoku} [ml]	V [ml]	V [µl]	Odebráno z roztoku
1	1	5	0,005	5	PR-2
2	5	5	0,025	25	
3	10	5	0,050	50	
4	25	5	0,125	125	
5	50	5	0,250	250	
6	100	5	0,050	50	PR-1
7	150	5	0,075	75	
8	250	5	0,125	125	

Po přípravě kalibrační řady byl z každého roztoku odebrán 1 ml do chromatografické vialky. Následně bylo do všech vialek přidáno 20 µl směsi ISTD o koncentraci 500 ng/ml. Vialky byly uzavřeny víčky opatřenými silikonovými septy. Následně byla kalibrační řada analyzována na UPLC-ESI-TQ.

13.6 Kalibrační závislosti jednotlivých léčiv

Pro jednotlivá léčiva byly sestaveny kalibrační přímky, které představují závislost plochy píků na koncentraci. Rozsah kalibrace byl zvolen v rozsahu 1–250 ng/ml.

Tabulka 22: Rovnice regrese kalibračních závislostí pro jednotlivá léčiva (ze dne 1.12.2021) – bez ISTD

Léčivo	Hodnota spolehlivosti
Acebutolol	$R^2 = 0,9981$
Atenolol	$R^2 = 0,9981$
Azithromycin	$R^2 = 0,9952$
Bisoprolol	$R^2 = 0,9986$
Citalopram	$R^2 = 0,9964$
Diklofenak	$R^2 = 0,9972$
Erythromycin	$R^2 = 0,9969$
Fluoxetin	$R^2 = 0,9969$
Ibuprofen	$R^2 = 0,9976$
Karbamazepin	$R^2 = 0,9947$
Karbamazepin-10,11-epoxid	$R^2 = 1,0000$
Ketoprofen	$R^2 = 0,9944$
Klarithromycin	$R^2 = 0,9956$
Metoprolol	$R^2 = 0,9974$
Naproxen	$R^2 = 0,9925$
Norsertalin	$R^2 = 0,9943$
Paroxetin	$R^2 = 0,9912$
Propranolol	$R^2 = 0,9956$
Roxithromycin	$R^2 = 0,9988$
Sertralin	$R^2 = 0,9982$
Sulfamethazin	$R^2 = 0,9985$
Sulfamethoxazol	$R^2 = 0,9973$
Sulfathiazol	$R^2 = 0,9976$
Trimethoprim	$R^2 = 0,9927$

Pro každé nové měření byla připravena nová kalibrační řada. Kalibrační závislosti pro některá vybraná léčiva jsou přiloženy na konci diplomové práce v přílohách.

14 SPE – extrakce tuhou fází

14.1 Postup

Před zahájením SPE byly vzorky přefiltrovány a pomocí odměrného válce bylo odměřeno 200 ml jednotlivých vzorků do kádínek. Do každé kádinky se vzorkem bylo přidáno 20 μ l směsi ISTD o koncentraci 500 ng/ml. Pro extrakci byly použity kolonky Oasis HLB 200 mg/6 ml.

Optimalizovaný postup:

Kondicionace	5 ml MeOH (průtok zhruba 1 ml/min)
Ekvilibrace	5 ml MQ vody (průtok zhruba 1 ml/min)
Nanášení vzorku	200 ml vzorku (průtok zhruba 5 ml/min)
Promytí	5 ml MQ a následně 1 ml 5% MeOH v MQ
Sušení	ve vakuu po dobu 30 minut
Eluce	2x 5 ml MeOH
Sušení	pod dusíkem do úplného odpaření či malého zbytku (kapka)
Rozpuštění	v 1 ml 50/50 (MeOH/MQ)

Po rozpuštění byl každý vzorek přefiltrován pomocí PP stříkačky opatřené nylonovým filtrem (0,22 μ m) do chromatografické vialky. Následně byly vzorky analyzovány na UPLC-ESI-TQ.



Obrázek 13: Extrakce tuhou fází a vzorky po eluci methanolem

15 UPLC-MS/MS

Jako analytická metoda pro analýzu reziduí léčiv z odpadních vod byla použita ultraúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (UPLC-ESI-TQ). Pro separaci analytů byla využita kolona Luna Omega polar C18 (100 x 2,1 mm; 1,7 μ m) + předkolona.

15.1 Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ

Pro kvalitativní analýzu byla vytvořena metoda pro stanovení léčiv v odpadních vodách, kde je obsaženo všech 24 vybraných analytů. Parametry měření pro kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr jsou uvedeny přehledně v tabulkách níže.

Tabulka 23: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry pro UPLC

Parametry UPLC		
Nástřik vzorku	5 μ l	
Průtok mobilní fáze	0,4 mL/min	
Teplota kolony	40 °C	
Mobilní fáze	A: 0,1% HCOOH ve vodě	
	B: MeOH	
Gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	0,0	5
	5,0	95
	8,2	95
	8,3	5
	10,5	5
Stop time [min]	8,3	
Post time [min]	1,0	

Tabulka 24: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry pro ESI

Parametry ESI	
Iontový zdroj	Elektrosprej (HESI)
Napětí elektrospreje (+)	3000 V
Napětí elektrospreje (-)	2000 V
Ionizační mód (polarita)	ESI (+) – pozitivní i ESI (-) – negativní
Průtok pomocného plynu	15 a.u.
Teplota pomocného plynu	350 °C
Průtok sušícího plynu	45 a.u.
Teplota sušícího plynu	350 °C
Zmlžovací plyn	55 a.u.
Aktivní odtah	ON
Režim skenu	MRM
Tlak kolizního plynu	1,5 mTorr

Tabulka 25: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry MRM přechodů

Vybrané analyty	Retenční čas [min]	Ionizace	Prekurzorový ion [m/z]	Produktový ion [m/z]	Kolizní energie [eV]
Acebutolol	3,15	ESI+	337	116*	15
				319	10
Atenolol	1,94	ESI+	267	145*	25
				190	15
Atenolol d7	1,94	ESI+	274	145	25
				190	15
Bisoprolol	3,70	ESI+	326	116*	15
				74	20
Metoprolol	3,20	ESI+	268	116*	15
				77	40
				91	30
Propranolol	3,80	ESI+	260	116*	15
				183	15
Propranolol d7	3,80	ESI+	267	116	50
				188	50
Azithromycin	3,50	ESI+	375,2	158*	20
				591	10
Azithromycin d3	3,50	ESI+	376,8	158	20
				594	10
Erythromycin	4,40	ESI+	734,5	158*	25
				576	15
Klarithromycin	4,60	ESI+	748,4	158*	25
				590	15
Klarithromycin d3	4,60	ESI+	751,4	158	25
				593,4	15
Roxithromycin	4,70	ESI+	838	158*	25
				679	20
Citalopram	3,80	ESI+	325	109*	20
				262	15
Fluoxetin	4,35	ESI+	310	44*	5
				148	5
Fluoxetin d5	4,35	ESI+	315	44	5
Paroxetin	4,20	ESI+	330	192*	15
				135	40
Norsertalin	4,60	ESI+	292	159*	20
				123	40
				275	5
Sertralin	4,55	ESI+	306	275*	5
				159	20

Tabulka 26: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry MRM přechodů (pokračování)

Vybrané analyty	Retenční čas [min]	Ionizace	Prekurzorový ion	Produktový ion	Kolizní energie [V]
Sertralin d3	4,55	ESI+	311	159	20
				275	5
Diklofenak	5,30	ESI+	294	250*	5
				214	10
Ibuprofen	5,30	ESI-	205	160	15
				158	15
Ketoprofen	4,85	ESI+	255	105*	15
				209	5
Naproxen	4,90	ESI+	231	185*	5
				169	30
Karbamazepin	4,49	ESI+	237	194*	15
				192	20
Karbamazepin d10	4,49	ESI+	237	204	15
Karbamazepin-10,11-epoxid	3,12	ESI+	253	180*	40
				236	15
Sulfamethazin	2,98	ESI+	279	92*	25
				186	15
				156	15
Sulfamethoxazol	3,10	ESI+	254	108*	25
				92	25
				156	10
Sulfamethoxazol d4	3,10	ESI+	258	96	25
				160	15
Sulfathiazol	2,40	ESI+	256	156*	10
				108	20
Trimethoprim	2,60	ESI+	291	261*	20
				230	20
Trimethoprim d9	2,60	ESI+	300	264	25
				234	20

Symbolem * jsou označeny kvantifikační hmoty daných analytů.

Tabulka 27: Přehled interních standardů s přiřazenými analyty

Interní standard	Analyt
Betablokátory	
Atenolol d7	Acebutolol
	Atenolol
	Bisoprolol
	Metoprolol
Propranolol d7	Propranolol
Makrolidová antibiotika	
Azithromycin d3	Azithromycin
Klarithromycin d3	Erythromycin
	Klarithromycin
	Roxithromycin
Antidepresiva	
Fluoxetin d5	Citalopram
	Fluoxetin
	Paroxetin
Sertralin d3	Sertralin
	Norsertalin
Antiepileptika	
Karbamazepin d10	Karbamazepin Karbamazepin-10,11-epoxid
Sulfonamidy a trimethoprim	
Sulfamethoxazol d4	Sulfamethazin
	Sulfamethoxazol
	Sulfathiazol
Trimethoprim d9	Trimethoprim

Pro vybrané analyty ze skupiny protizánětlivých nesteroidních léčiv (diklofenak, ibuprofen, ketoprofen a naproxen) nebyly k dispozici žádné interní standardy.

VÝSLEDKY A DISKUZE

16 Optimalizace metody SPE

16.1 Optimalizace postupu SPE

Pro optimalizaci postupu SPE bylo připraveno pět vzorků. V odměrném válci bylo pětkrát odměřeno 200 ml MQ vody a objem byl přelit do kádinek. Následně bylo do každého vzorku přidáno 100 μ l směsi vybraných 24 analytů o koncentraci 200 ng/ml, aby vstupní koncentrace byla 20 ng/ml a 20 μ l směsi ISTD o koncentraci 500 ng/ml, aby vstupní koncentrace byla 10 ng/ml. Postup provedení SPE jednotlivých vzorků je zaznamenán níže.

Tabulka 28: Popis experimentů v rámci optimalizace postupu SPE

Číslo vzorku	1	2	3	4	5
Kondicionace	5 ml MeOH (průtok zhruba 1 ml/min)				
Ekvilibrace	5 ml MQ vody (průtok zhruba 1 ml/min)				
Nanášení vzorku	200 ml vzorku (průtok zhruba 5 ml/min)				
1. Promytí	5 ml MQ				
2. Promytí		1 ml 5% MeOH	5 ml 5% MeOH	1 ml 5% MeOH	
Sušení	ve vakuu po dobu 30 minut				
Eluce	2x 5 ml MeOH			3x 5 ml MeOH	3x 3 ml MeOH
Sušení	pod dusíkem do úplného odpaření či malého zbytku (kapka)				
Rozpuštění	v 1 ml 50/50 MQ/MeOH				

Po rozpuštění byly vzorky přefiltrovány pomocí PP stříkaček opatřených nylonovým filtrem (0,22 μ m) do chromatografické vialky. Poté byly vzorky analyzovány na UPLC-ESI-TQ.

Vyhodnocení optimalizované metody bylo provedeno pro daných pět vzorků. Byla vypočítána účinnost extrakce a byl zvolen postup s nejvyšší účinností. Výsledky analýzy jsou uvedeny přehledně viz Tabulka 29.

Tabulka 29: Výsledná účinnost experimentů pro optimalizaci postupu SPE pro jednotlivá léčiva (očekávaná koncentrace 20 ng/ml při výtěžnosti 100 %)

Účinnost [%]					
Vybraná léčiva	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5
Betablokátory					
Acebutolol	79,70	89,10	81,15	86,50	84,60
Atenolol	93,00	95,25	89,05	91,95	91,90
Bisoprolol	79,90	82,05	72,10	83,55	81,60
Metoprolol	81,60	87,45	79,70	83,80	86,60
Propranolol	57,10	72,15	56,85	54,05	73,50
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	53,35	73,50	64,80	57,65	67,30
Erythromycin	43,00	65,10	50,45	50,45	55,50
Klarithromycin	45,20	65,75	51,80	59,45	68,95
Roxithromycin	42,00	53,25	48,95	40,85	42,85
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	59,90	64,75	50,80	52,60	79,20
Ibuprofen	ND	ND	ND	ND	ND
Ketoprofen	62,20	65,45	57,45	55,85	77,30
Naproxen	114,20	97,50	67,35	54,75	118,15
Antidepresiva					
Citalopram	47,70	66,20	56,65	49,35	66,15
Fluoxetin	79,30	81,65	75,40	82,25	146,20
Norsertalin	62,65	56,05	58,15	59,60	56,65
Paroxetin	43,20	60,20	55,10	50,50	56,90
Sertralin	77,45	63,30	63,35	67,55	73,90
Antiepileptika					
Karbamazepin	100,40	107,50	98,55	94,15	107,95
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	78,00	85,55	76,05	77,10	78,85
Sulfamethoxazol	95,50	107,25	87,65	89,90	94,50
Sulfathiazol	77,95	81,30	78,95	76,00	79,10
Trimethoprim	97,30	96,95	91,10	91,40	94,85

V tabulce výše jsou zeleně označeny vzorky, jejichž účinnost se pohybuje v rozmezí 70–120 %. Rozmezí účinnosti bylo zvoleno z dostupné literatury zabývající se danou tematikou (např. pro pesticidy v odpadní vodě je toto rozmezí dané normou ČSN EN 16693) [103–105]. Žlutě jsou potom vyznačeny vzorky s účinností nad 50 %. Jedná se však o multireziduální analýzu, tudíž účinnost u některých analytů byla nižší. Není možné zcela zajistit, aby funkčnost metody byla 100% pro každý daný analyt. Byl proto vybrán vhodný kompromis v podobě postupu pro vzorek číslo 2, jelikož dosahoval nejvyšší účinnosti pro většinu analytů.

17 Optimalizace metody UPLC-ESI-TQ

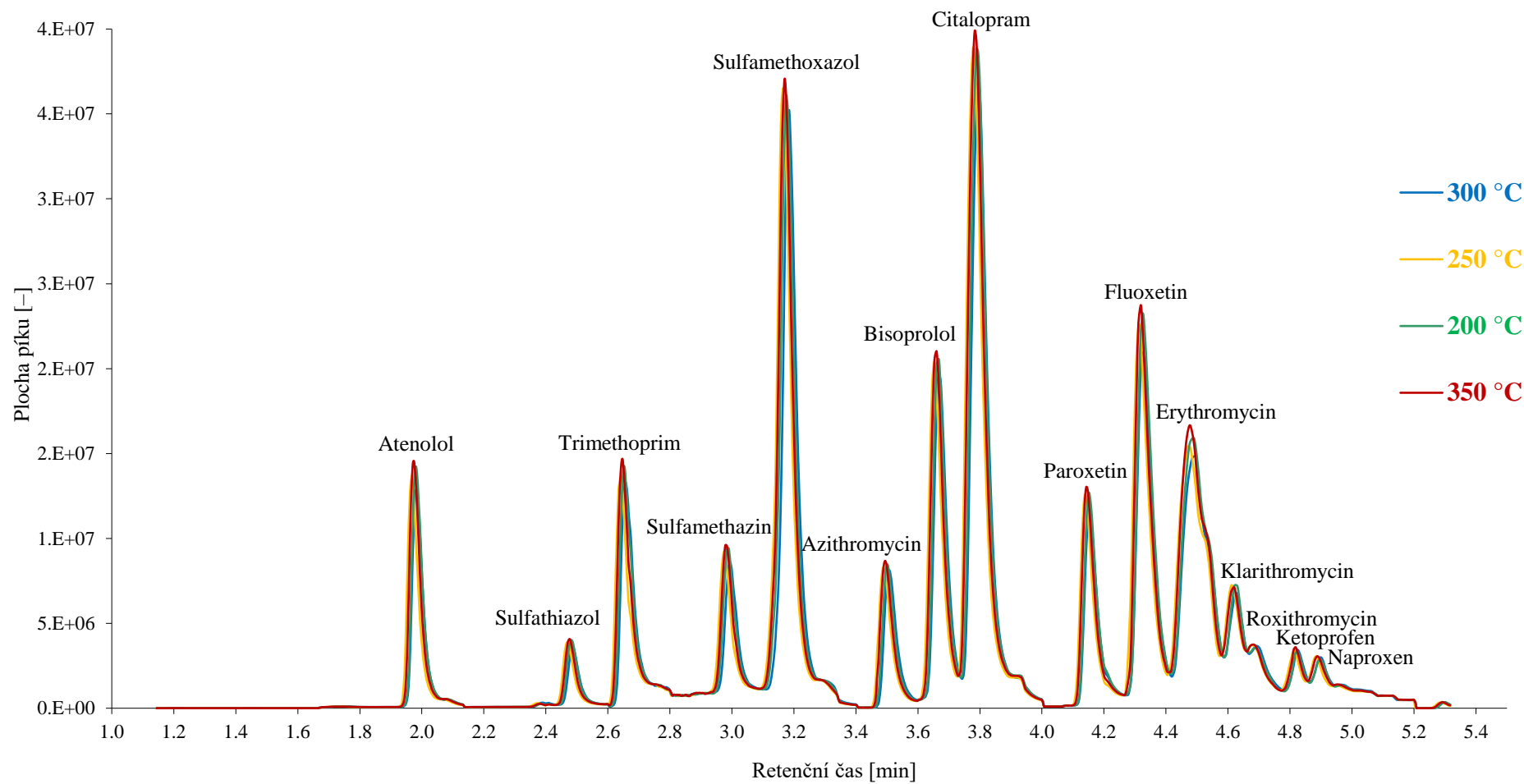
Pro optimalizaci nové UPLC-ESI-TQ metody byl na kolonu nastříkovan směsný standard o koncentraci 250 ng/ml (nejvyšší bod kalibrace). Jako stacionární fáze byla použita kolona LUNA OMEGA C18 opatřená předkolonou UHPLC Fully Porous C18. Mobilní fází byla kombinace 0,1% kyseliny mravenčí a methanolu, která byla zvolena na základě dostupných článků a také na základě předešlé zkušenosti z bakalářské práce. Stejně tak jako gradient mobilní fáze (Tabulka 23).

Optimalizace tandemové hmotnostní spektrometrie probíhala nejdříve v módu SIM, kde na základě nejvyšší intenzity bylo po proměření několika různých napětí elektrospreje vybráno jedno (3000/2000 V) a další parametry byly následně voleny při vybraném napětí. Parametry poskytující nejvyšší intenzity jsou zaznačeny vždy zeleně viz Tabulka 30. Pro příklad je uveden Obrázek 14, ze kterého je patrné, že nejvyšší intenzita pro parametr „teplota pomocného plynu“ je při 350 °C (v grafu červeně).

Tabulka 30: Optimalizované MS/MS parametry

Číslo měření	1	2	3	4	5
Napětí elektrospreje [V]	4500/3500	4000/3000	3500/2500	3000/2000	3250/2250
Průtok pomocného plynu	5	10	15	20	30
Teplota pomocného plynu [°C]	350	300	250	200	
Průtok sušícího plynu	35	40	45	50	
Teplota sušícího plynu [°C]	250	300	350	400	
Zmlžovací plyn	60	55	50		

Následně bylo pracováno v módu MRM, kde byly nastaveny vhodné prekurzory, jejichž intenzita byla v rámci optimalizované metody nejvyšší. Aby bylo zjištěno, které ionty jsou kvalitativní a kvantitativní, byl opět několikrát proměřen nejvyšší bod kalibrace o koncentraci 250 ng/ml při různých kolizních energiích (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 a 60 V). Po proměření byly vybrány nejintenzivnější kvalitativní i kvantitativní ionty a jejich kolizní energie (více viz Tabulka 25).



Obrázek 14: Optimalizace teploty pomocného plynu pro vybrané analyty

18 Výsledná koncentrace vybraných analytů v odpadních vodách

Tabulka 31: Koncentrace jednotlivých analytů v odpadní vodě z domovních ČOV

Léčivo	Koncentrace [$\mu\text{g/l}$]				
	ČOV 1 – první odběr (18.6.2021)	ČOV 2 (19.10.2021)	ČOV 3 (20.10.2021)	ČOV 4 (20.10.2021)	ČOV 1 – druhý odběr (24.11.2021)
Betablokátory					
Acebutolol	ND	ND	ND	ND	ND
Atenolol	ND	ND	ND	0,070	ND
Bisoprolol	0,075	ND	ND	6,284	0,224
Metoprolol	0,610	ND	ND	4,600	0,184
Propranolol	ND	ND	ND	ND	ND
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	ND	0,835	ND	ND	1,091
Erythromycin	0,005	0,005	0,014	0,004	0,005
Klarithromycin	ND	ND	ND	< LOD	0,029
Roxithromycin	0,036	0,034	0,027	0,026	0,038
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	1,036	0,119	ND	0,267	1,330
Ibuprofen	4,256	2,301	1,260	0,864	0,880
Ketoprofen	0,024	< LOQ (0,007)	0,012	0,308	0,229
Naproxen	0,061	0,041	0,040	ND	0,129
Antidepresiva					
Citalopram	0,052	0,020	< LOD	0,044	0,082
Fluoxetin	< LOD	< LOD	< LOD	ND	< LOD
Norsertalin	ND	ND	ND	ND	ND
Paroxetin	ND	0,058	ND	0,214	ND
Sertralin	ND	ND	ND	ND	ND
Antiepileptika					
Karbamazepin	ND	ND	ND	ND	ND
Karbamazepin- 10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	< LOD	ND	< LOQ (0,007)	0,026	0,012
Sulfamethoxazol	0,012	0,069	0,015	0,014	0,011
Sulfathiazol	0,033	0,102	0,094	0,052	0,050
Trimethoprim	< LOD	ND	ND	< LOD	ND

Tabulka 32: Biologické hodnoty znečištění a základní chemické ukazatele charakterizující odpadní vodu (čistírny AT 6, AT 12 Plus, AT 30 a AT 150)

Datum odběru	ČOV	Fek. kolif. bakterie [KTJ/1 ml]	E.coli [KTJ/1 ml]	Enterokoky [KTJ/1 ml]	pH	Elektrická konduktivita [mS/m]
18.10.2021	1	40	18	24	7,3	84,7
19.10.2021	2	5	5	1	7,2	130
20.10.2021	3	14400	13000	16400	7,6	110
20.10.2021	4	210	140	14	7,4	152

Tabulka 33: Základní chemické ukazatele charakterizující odpadní vodu (čistírny AT 6, AT 12 Plus, AT 30 a AT 150)

BSK ₅ [mg/l]	CHSK _{Cr} [mg/l]	Cl ⁻ [mg/l]	SO ₄ ²⁻ [mg/l]	NH ₄ ⁺ [mg/l]	NO ₃ ⁻ [mg/l]	NO ₂ ⁻ [mg/l]	N-NH ₄ ⁺ [mg/l]	N-NO ₃ [mg/l]	N-NO ₂ [mg/l]
1,22	20,8	108	81,1	0,07	61,1	0,43	0,05	13,90	0,131
0,86	40,5	203	107	0,25	67,8	0,10	0,19	15,30	0,030
32,1	301	100	43	92,6	<0,1	0,26	71,90	<0,02	0,079
1,17	31,9	183	118	1,4	227	1,12	1,09	51,30	0,341

Tabulka 34: Základní chemické ukazatele charakterizující odpadní vodu (čistírny AT 6, AT 12 Plus, AT 30 a AT 150) – pokračování

Pc [mg/l]	Nc [mg/l]	TOC [mg/l]	DOC [mg/l]	TC [mg/l]	NL [mg/l]
1,54	16,1	14,1	12,1	44,0	10,0
1,12	18,3	19,9	18,7	66,4	2,5
1,84	83,8	104,0	36,3	183	156,0
11,8	59,4	18,1	18,5	52,5	3,0

Tabulka 35: Přípustné míry znečištění odpadních vod [107]

CHSK _{Cr} [mg/l]	BSK ₅ [mg/l]	NL [mg/l]	pH	Nc [mg/l]	N-NH ₄ ⁺ [mg/l]
<1000	<500	<500	6–8,5	<60	<35

Tabulka 36: Přípustné míry znečištění odpadních vod – pokračování [107, 108]

Pc [mg/l]	SO ₄ ²⁻ [mg/l]	Cl ⁻ [mg/l]	E.coli [KTJ/1 ml]	Enterokoky [KTJ/1 ml]
<10	<300	<400	150	100

V tabulkách 32–34 jsou uvedeny základní biologické a chemické ukazatele zjištěné ve vzorcích z domovních čistíren odpadních vod (vyhodnoceny Výzkumným ústavem vodohospodářským v Brně). V tabulkách 35 a 36 jsou uvedeny přípustné míry znečištění odpadních vod vypouštěných do veřejné kanalizace (dle nařízení vlády 401/2015 Sb.). Z naměřených hodnot je zřejmé, že v případě čistírny číslo 3 byly zaznamenány zvýšené hodnoty některých parametrů znečištění nad danou mez, a to z důvodu problému s nátokem a také kvůli nedostatečné údržbě. Bylo proto třeba provést reaktivaci. Ta se provádí aplikací zhruba 50 až 200 litrů aktivního mikrobiálního kalu (dle velikosti a typu čistírny). Po reaktivaci dochází k rychlému spuštění biologických procesů. Reaktivace je prováděna zejména před zahájením provozu [106–108].

Tabulka 37: Koncentrace jednotlivých analytů v odpadní vodě z KČOV – odběr 31.01.2022 (N=1)

Léčivo	Koncentrace [$\mu\text{g/l}$]				
	Přítok	Za usazovací nádrží	Za horizontálním filtrem	Za vertikálním filtrem	Odtok
Betablokátory					
Acebutolol	0,311	0,349	0,164	0,230	0,219
Atenolol	0,133	0,083	< LOD	< LOQ (0,013)	0,014
Bisoprolol	0,049	ND	0,083	0,088	0,093
Metoprolol	0,533	0,323	0,309	0,346	0,383
Propranolol	ND	ND	ND	ND	ND
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Erythromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Klarithromycin	ND	ND	0,157	0,150	0,127
Roxithromycin	ND	ND	< LOD	< LOD	< LOD
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	1,290	0,726	0,479	0,443	0,343
Ibuprofen	4,473	5,090	8,614	8,246	6,308
Ketoprofen	0,061	0,082	0,134	0,139	0,070
Naproxen	0,205	0,185	0,124	0,128	0,140
Antidepresiva					
Citalopram	ND	ND	0,020	0,025	0,023
Fluoxetin	ND	ND	< LOD	ND	< LOD
Norsertalin	ND	ND	ND	ND	< LOD
Paroxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Sertralin	ND	ND	< LOD	ND	ND
Antiepileptika					
Karbamazepin	0,222	0,167	0,189	0,199	0,243
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	0,073	0,030	0,032	0,032	0,032
Sulfamethoxazol	0,925	0,637	0,706	0,784	0,692
Sulfathiazol	0,115	0,047	0,037	0,039	0,043
Trimethoprim	0,214	0,241	0,048	0,049	0,065

Tabulka 38: Koncentrace jednotlivých analytů v odpadní vodě z KČOV – odběr 16.02.2022 (N=1)

Léčivo	Koncentrace [$\mu\text{g/l}$]				
	Přítok	Za usazovací nádrží	Za horizontálním filtrem	Za vertikálním filtrem	Odtok
Betablokátory					
Acebutolol	0,374	0,728	0,295	0,090	0,119
Atenolol	0,154	0,100	0,016	< LOQ (0,012)	0,009
Bisoprolol	0,020	0,288	0,163	0,101	0,106
Metoprolol	0,343	0,520	0,427	0,330	0,345
Propranolol	ND	ND	ND	ND	ND
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	ND	ND	< LOD	ND	ND
Erythromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Klarithromycin	ND	0,091	0,089	0,081	0,057
Roxithromycin	ND	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	2,703	0,831	0,426	0,485	0,277
Ibuprofen	5,262	5,607	6,189	4,385	4,644
Ketoprofen	0,042	0,148	0,114	0,111	< LOQ (0,005)
Naproxen	0,238	0,341	0,204	0,146	0,103
Antidepresiva					
Citalopram	ND	ND	0,019	< LOD	0,020
Fluoxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Norsertalin	ND	ND	ND	ND	ND
Paroxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Sertralin	ND	ND	ND	ND	ND
Antiepileptika					
Karbamazepin	0,395	0,334	0,217	0,235	0,218
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	0,024	0,026	0,046	0,043	0,043
Sulfamethoxazol	0,504	1,086	1,749	1,448	1,486
Sulfathiazol	0,040	0,034	0,016	< LOQ (0,010)	< LOQ (0,012)
Trimethoprim	0,200	0,537	0,061	< LOQ (0,015)	0,024

Tabulka 39: Koncentrace jednotlivých analytů v odpadní vodě z KČOV – odběr 21.03.2022 (N=2)

Léčivo	Koncentrace [$\mu\text{g/l}$]				
	Přítok	Za usazovací nádrží	Za horizontálním filtrem	Za vertikálním filtrem	Odtok
Betablokátory					
Acebutolol	0,709	0,666	0,620	0,624	0,260
Atenolol	0,164	0,199	0,030	0,033	0,018
Bisoprolol	0,233	ND	0,226	0,234	0,109
Metoprolol	0,516	0,751	0,750	0,823	0,522
Propranolol	ND	ND	ND	ND	ND
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Erythromycin	ND	ND	ND	0,005	0,060
Klarithromycin	0,103	ND	0,284	0,332	0,145
Roxithromycin	< LOD	ND	< LOD	< LOD	< LOD
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	0,160	0,304	0,565	0,656	0,341
Ibuprofen	9,386	7,233	7,383	8,658	6,512
Ketoprofen	0,099	0,182	0,111	0,119	0,024
Naproxen	0,149	0,272	0,219	0,224	0,166
Antidepresiva					
Citalopram	0,152	ND	0,046	0,046	0,019
Fluoxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Norsertalin	ND	ND	ND	ND	ND
Paroxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Sertralin	ND	ND	ND	ND	ND
Antiepileptika					
Karbamazepin	0,284	0,784	0,491	0,617	0,425
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	< LOQ (0,008)	ND	< LOQ (0,007)	< LOQ (0,010)	< LOD
Sulfamethoxazol	0,815	2,229	ND	ND	0,438
Sulfathiazol	0,029	0,050	0,021	0,023	0,016
Trimethoprim	0,309	0,872	0,061	0,075	0,034

Tabulka 40: Koncentrace jednotlivých analytů v odpadní vodě z KČOV – odběr 26.04.2022 (N=1)

Léčivo	Koncentrace [$\mu\text{g/l}$]				
	Přítok	Za usazovací nádrží	Za horizontálním filtrem	Za vertikálním filtrem	Odtok
Betablokátory					
Acebutolol	0,324	0,513	0,377	0,083	0,093
Atenolol	0,233	0,078	< LOD	ND	ND
Bisoprolol	0,280	0,374	0,175	0,062	0,056
Metoprolol	0,417	0,375	0,492	0,311	0,361
Propranolol	ND	ND	ND	ND	ND
Makrolidová antibiotika					
Azithromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Erythromycin	ND	ND	ND	ND	ND
Klarithromycin	0,360	0,483	0,439	0,162	0,086
Roxithromycin	ND	ND	ND	0,373	ND
Nesteroidní protizánětlivá léčiva					
Diklofenak	0,857	0,546	0,425	0,666	0,434
Ibuprofen	12,753	16,769	7,770	1,651	1,632
Ketoprofen	0,054	0,077	0,067	0,053	0,023
Naproxen	0,288	0,371	0,272	0,141	0,157
Antidepresiva					
Citalopram	ND	ND	0,046	0,034	0,034
Fluoxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Norsertalin	ND	ND	ND	< LOD	< LOD
Paroxetin	ND	ND	ND	ND	ND
Sertralin	ND	ND	ND	ND	ND
Antiepileptika					
Karbamazepin	0,446	0,387	0,262	0,325	0,313
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND	ND	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim					
Sulfamethazin	0,103	ND	0,074	0,067	0,054
Sulfamethoxazol	0,858	ND	0,108	0,101	0,197
Sulfathiazol	ND	ND	ND	ND	ND
Trimethoprim	0,391	0,387	0,039	< LOD	< LOD

Rovněž byly stanoveny limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ) pro jednotlivá léčiva (viz Tabulka 41). Limit detekce je definován jako nejnižší relevantní detekovatelné množství analytu danou metodou. Limit kvantifikace je definován jako nejmenší možné množství analytu, které lze danou metodou detekovat a kvantifikovat.

Technická norma DIN 32645 pro výpočet limitů detekce a kvantifikace:

$$LOD = 6 \cdot \frac{s_{blank}}{b}$$

$$LOQ = 9 \cdot \frac{s_{blank}}{b}$$

s_{blank} – standardní chyba blanku

b – směrnice kalibrační závislosti

Tabulka 41: Limity detekce a kvantifikace pro vybraná léčiva na UPLC-ESI-TQ

Vybrané analyty	Limit detekce (LOD) [ng/l]	Limit kvantifikace (LOQ) [ng/l]
Betablokátory		
Acebutolol	6,5	10,0
Atenolol	9,5	14,0
Bisoprolol	4,0	6,0
Metoprolol	4,5	6,5
Propranolol	6,5	10,0
Makrolidová antibiotika		
Azithromycin	29,5	44,0
Erythromycin	1,0	1,0
Klarithromycin	16,5	25,0
Roxithromycin	9,5	14,5
Nesteroidní protizánětlivá léčiva		
Diklofenak	10,0	15,0
Ibuprofen	251,0	376
Ketoprofen	5,0	7,5
Naproxen	7,0	10,5
Antidepresiva		
Citalopram	9,0	13,5
Fluoxetin	29,5	44,5
Norsertalin	45,5	68,0
Paroxetin	19,0	29,0
Sertralin	41,0	62,0
Antiepileptika		
Karbamazepin	8,5	12,5
Karbamazepin-10,11-epoxid	ND	ND
Sulfonamidy a trimethoprim		
Sulfamethazin	7,0	10,5
Sulfamethoxazol	6,5	9,5
Sulfathiazol	8,5	12,5
Trimethoprim	15,0	22,5

18.1 Rezidua léčiv v odpadní vodě z domovních čistíren odpadních vod

Byly odebrány vzorky odpadní vody ze čtyř domovních čistíren vždy na odtoku a ve všech byla detekována rezidua léčiv. Je proto vysoce pravděpodobné, že i malé domovní čistírny mohou být jejich zdrojem. Detekované množství bude záviset na uživatelích a může odrážet nejen jejich počet, ale zejména zdravotní kondici. První čistírnou je typ AT 150 s řídicí jednotkou, která je využívána firmou. Do čistírny nepřichází průmyslový odpad, ale pouze splašky od zaměstnanců. Odběry na dané čistírně byly provedeny 18.06.2021 a 24.11.2021. V obou odběrech byly detekovány koncentrace vybraných léčiv. Pouze v případě antiepileptik nebyla zaznamenána žádná koncentrace, což je pravděpodobně způsobeno tím, že nikdo ze zaměstnanců neužívá tato léčiva. Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u ibuprofenu (4,3 µg/l) či diklofenaku (1,0 µg/l). Ostatní léčiva byla zastoupena v poměrně malých koncentracích pod 0,6 µg/l. Druhou čistírnou je typ AT 12 Plus s řídicí jednotkou a je využívána menší firmou. Do čistírny opět přichází pouze splašky zaměstnanců. Odběr byl proveden 19.10.2021. V odběru byla opět detekována podobná léčiva jako v prvním případě. Nejvyšší koncentrace zde byly zaznamenány u ibuprofenu (2,3 µg/l) a azithromycinu (0,84 µg/ml). Nebyla detekována žádná léčiva ze skupin betablokátorů či antiepileptik. Firma tedy zřejmě nemá zaměstnance vyžadující danou medikaci. Třetí čistírnou je typ AT 6 + 30 cm s řídicí jednotkou a je využívána čtyřčlennou rodinou. Odběr byl proveden 20.10.2021. V odběru byla detekována léčiva ve velmi nízkých koncentracích až na ibuprofen (1,3 µg/l). Opět nebyla detekována léčiva ze skupin betablokátorů a antiepileptik. Poslední, čtvrtou čistírnou, je typ AT 30 s řídicí jednotkou, která je využívána domovem s pečovatelskou službou. Odběr byl proveden 20.10.2021. V daném odběru byly na rozdíl od ostatních detekovány vyšší koncentrace betablokátorů, konkrétně bisoprololu (6,3 µg/l) a metoprololu (4,6 µg/l), které patří mezi nepoužívanější betablokátory. Tato léčiva slouží k léčbě vysokého tlaku, arytmie a dalších srdečních chorob. Dále byly přítomny jisté koncentrace nesteroidních protizánětlivých léčiv v rozmezí 0,9–0,3 µg/l. Ostatní léčiva byla přítomna v nízkých koncentracích nebo nebyla detekována.

18.2 Rezidua léčiv v odpadní vodě z kořenové čistírny odpadních vod

Vzorky z kořenové čistírny odpadních vod v Dražovicích byly odebrány ve spolupráci s Výzkumným ústavem vodohospodářským T. G. Masaryka v Brně. Vždy byl odebrán litr odpadní vody na přítoku, za usazovací nádrží, za horizontálním filtrem, za vertikálním filtrem a na odtoku ve dnech 31.01.2022, 16.02.2022, 21.03.2022 a 26.04.2022 při standardním průtoku 2,2 l/s. Všechny vzorky byly odebírány v jednu dobu, a jelikož se voda v jednotlivých částech čistírny různě zdržuje, není možné vyhodnotit, s jakou účinností jsou léčiva odstraňována. Hodnoty koncentrací v jednotlivých tabulkách neuvádí sestupné koncentrace, protože v okamžiku odběru se v každé části čistírny nachází jiná odpadní voda. Doba zdržení vody v části mechanického předčištění (lapák písku a štěrbínová nádrž) je cca dvě hodiny, v umělém mokřadu s horizontálním průtokem cca 1,6 dne, v umělém mokřadu s vertikálním průtokem zatím neproběhlo měření reálné doby průtoku, ale odhaduje se na cca jeden den, a v poslední části, v dočišťovací nádrži, se voda zdržuje cca tři dny.

Ve vzorcích odpadní vody nebyla detekována všechna vybraná léčiva. Například propranolol, který nebyl detekován v žádném odběru v rozmezí od ledna do dubna. Jeho spotřeba v České republice se udává v rádech desítek kusů balení za měsíc, tudíž šance na jeho

detekci ve vzorcích odpadní vody je velmi malá. Stejně tak nebyl v žádném stupni zaznamenán karbamazepin-10,11-epoxid. Jedná se o metabolit karbamazepinu, ale jelikož karbamazepin patří mezi léčiva, která jsou nejčastěji vylučována v původní formě, nebyl nejspíše proto karbamazepin-10,11-epoxid zaznamenán v žádném vzorku. Některá léčiva byla přítomna pouze v některých stupních. K tomu mohlo docházet z důvodu nízkých koncentrací pod mez detekce, nedostatečným uchycením analytu při extrakci či chybou způsobenou během práce. Je také možné pozorovat nižší koncentrace na přítoku a vyšší koncentrace léčiva na odtoku. Jedná se sice o jinou odpadní vodu, ale tento fakt může být způsoben i přeměnou metabolitu léčiva na jeho primární formu – dekonjugace, ke které dochází vlivem působení bakterií *E. coli*, které se v odpadní vodě často vyskytují. Nejvyšší koncentrace léčiv byly zaznamenány u nesteroidních protizánětlivých léčiv – ibuprofen, diklofenak. Jejich spotřeba dosahuje ve společnosti nejvyšších hodnot, protože patří mezi nejpoužívanější volně prodejná léčiva, užívaná proti bolesti, ale také proti horečkám a zánětlivým stavům. Mezi nejznámější obchodní názvy ibuprofenu patří Ibalgin, Nurofen, Brufen, a pro diklofenak je to například Voltaren a Veral. Nejvyšší naměřená koncentrace ibuprofenu byla zaznamenána za usazovací nádrží v dubnu – 16,8 µg/l. Nejvyšší koncentrace diklofenaku byla zaznamenána na přítoku v únoru – 2,7 µg/l. Skoro ve všech vzorcích byly také přítomny sulfonamidy, které slouží k léčbě bakteriálních infekcí, zejména močových cest. Jejich nejvyšší koncentrace se pohybovala v rozmezí 1,4 µg/l až 2 µg/l. Ostatní hodnoty koncentrací léčiv z řad antidepresiv, antiepileptik, betablokátorů či makrolidových antibiotik byly většinou pod 0,7 µg/l.

Pro srovnání uvádím koncentrace léčiv sledovaných na kořenových čistírnách odpadních vod v České republice. V článku z roku 2018 byly sledovány koncentrace ibuprofenu a jeho hlavních metabolitů (hydroxyibuprofen a karboxyibuprofen) od listopadu 2015 do března 2017 ve čtyřech kořenových čistírnách s horizontálním podpovrchovým průtokem, které čistí komunální odpadní vody v České republice. Na přítoku byly zaznamenány průměrné koncentrace ibuprofenu 14,6 µg/l, hydroxyibuprofenu 18,3 µg/l a karboxyibuprofenu 36,4 µg/l. Koncentrace studovaných sloučenin v odpadní vodě se snížila a účinnost odstranění byla 44,7 %, 29,3 % a 47,5 % pro ibuprofen, hydroxyibuprofen a karboxyibuprofen [92]. V dalším článku byly sledovány koncentrace a účinnost odstranění 32 analytů na třech kořenových čistírnách v ČR (Břehov, Čičenice a Slavošovice). Nejvyšší koncentrace byly zaznamenány na přítoku u ibuprofenu – 10 µg/l, dále u diklofenaku, metoprololu a atenololu – 1 µg/l. Účinnost odstranění se potom pohybovala v rozmezí 11–100 % pro protizánětlivá léčiva a pro betablokátorů 37–99 % [91].

Přítomnost reziduí vybraných léčiv ve vzorcích odpadní vody byla prokázána. Přesto dosud nebyl zcela prokázán negativní účinek daných koncentrací na lidské zdraví. Koncentrace léčiv, které se do vod dostávají, jsou zanedbatelné v porovnání s množstvím, které lidé užívají zcela dobrovolně, popřípadě na lékařský předpis. Na druhou stranu je třeba vzít v potaz účinky na necílové organismy či vegetaci. Bylo prokázáno, že v případě vodních organismů dochází k morfologickým změnám, ke změnám reprodukce, k metabolickým změnám atd., které mohou vést až k úmrtí těchto organismů. Je proto třeba se danou tematikou více zabývat a snažit se najít nové možnosti, které by mohly zmírnit dopad na životní prostředí a již zmiňované necílové organismy. Podle dosud zjištěných možností se jako velmi nadějně jeví právě kořenové čistírny odpadních vod.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo vybrat vhodné analyty, optimalizovat metodu pro stanovení reziduí léčiv v odpadní vodě pomocí metody LC-MS/MS a následně analyzovat reálné vzorky odebrané z čistíren odpadních vod. Teoretická část práce se věnuje malým čistírnám odpadních vod včetně kořenových čistíren zhruba do 2000 EO. Je vysvětlen princip funkce těchto čistíren, jejich uspořádání a rozdělení. Dále je pozornost věnována léčivům v životním prostředí, jejich odstraňování a metodám jejich stanovení v odpadních vodách. Bylo vybráno celkem 24 léčiv patřících do různých skupin, mezi které patří zástupci betablokátorů, makrolidových antibiotik, nesteroidních protizánětlivých léčiv, antidepresiv, antiepileptik a sulfonamidů společně s trimethoprimem.

V experimentální části práce byla provedena nejdříve optimalizace extrakční metody SPE za použití kolonek HLB Oasis (200 mg/6 ml). Pro kvalitativní i kvantitativní zjištění byla využita analytická metoda ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (UPLC-ESI-MS), kterou bylo třeba nejdříve optimalizovat. Po provedení optimalizací obou metod byly následně zpracovány vzorky ze čtyřech domovních čistíren. Odběry byly provedeny vždy na odtoku v období od června do listopadu roku 2021 ze čtyřech různých míst. Nejvyšší koncentrace léčiv byla zaznamenána u betablokátoru bisoprololu a metoprololu na odtoku z čistírny 4 a dále u ibuprofenu na odtoku z čistírny 1. U ostatních léčiv se koncentrace většinou pohybovala pod 1 µg/ml nebo koncentrace nebyla detekována. Další sada vzorků odpadní vody byla odebrána ve spolupráci s Výzkumným ústavem vodohospodářským T. G. Masaryka v Brně. Vzorky pocházely z kořenové čistírny v Dražovicích na Vyškovsku. Zde byly vzorky odebrány na pěti různých částech kořenové čistírny – na přítoku, za usazovací nádrží, za horizontálním filtrem, za vertikálním filtrem a na odtoku. Vzorky byly odebrány v lednu, únoru, březnu a dubnu 2022. Po proměření vzorků byly největší koncentrace na všech stupních zaznamenány u ibuprofenu. Koncentrace ostatních léčiv byla většinou pod 1 µg/ml či nebyla detekována. Důvodem nejvyšších koncentrací ibuprofenu ve vzorcích je především jeho značná spotřeba. Ibuprofen je složkou mnoha různých volně prodejných léčiv s obchodními názvy Ibalgin, Nurofen, Ibumax, Brufen atd., které jsou používány při bolestech nejružnějšího původu, horečce a zánětlivých stavech.

Z výsledků je patrné, že určité koncentrace léčiv do vod putují, ale ve srovnání s tím, jaké množství léčiv lidé dobrovolně či na lékařský předpis užívají, jsou tyto koncentrace zanedbatelné a nebyl u nich dosud prokázán nepříznivý vliv na lidské zdraví. Na druhou stranu byl již prokázán škodlivý vliv reziduí léčiv na vodní živočichy i rostliny, rezidua léčiv se totiž koncentrují například v říčních sedimentech. U vodních živočichů byly zaznamenány změny chování, morfologické změny a také poruchy reprodukce. Stejně jako vodní živočichové je i člověk součástí přírody a tyto nepříznivé změny by neměl ignorovat.

Čištění odpadních vod je často diskutované a stále aktuální téma nejen z důvodů kladení vyšších požadavků na kvalitu životního prostředí, ale zejména kvůli celosvětově narůstajícímu počtu lidí, kteří nemají přístup k nejen pitné vodě. Šetrný způsob využívání vody, ochrana jejích zdrojů a neznečišťování jsou tedy nejen problémem, kterým je třeba se neustále a důkladně zabývat, ale i jedním z hlavních úkolů dnešní společnosti. Pokud se dokážeme zaměřit i na malé zdroje znečištění, přijmeme za své odpovědné chování a šetrné zacházení, zůstane voda stále tím, čím byla vždycky – zdrojem života.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] SOJKA, Jan. *Čistírny odpadních vod: pro rodinné domy*. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4504-6.
- [2] KRIŠKA, Michal. *Pokročilá technologie přírodních čistíren odpadních vod: Advanced technology of natural wastewater treatment plants: zkrácená verze habilitační práce*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, 2020. ISBN 978-80-214-5905-2.
- [3] *Mohou nás ohrozit léčiva v pitné vodě?* [online]. ČR: ovodarenstvi.cz, 2009 [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <http://www.ovodarenstvi.cz/clanky/mohou-nas-ohrozit-leciva-v-pitne-vode>
- [4] SOJKA, Jan. *Malé čistírny odpadních vod*. 2. aktualiz. vyd. Brno: ERA, 2004. Stavíme. ISBN 80-865-1780-2.
- [5] Výpočet počtu ekvivalentních obyvatel [online]. Praha: Topinfo, 2022 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <https://voda.tzb-info.cz/tabulky-a-vypocty/151-vypocet-poctu-ekvivalentnich-obyvatel>
- [6] Cena žumpy: Kolik stojí nádrž a vývoz žumpy?. ZAKRA [online]. Plzeň: Zakra, ©2020 [cit. 2022-02-02]. Dostupné z: <https://zakra.cz/blog/cena-zumpy-kolik-stoji-nadrz-a-vyvoz-zumpy/>
- [7] MLEJNSKÁ, Eva. *Extenzivní způsoby čištění odpadních vod*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka. ISBN 978-80-85900-92-7.
- [8] Vítěz, T., Krčálová, E., Junga, P., Trávníček, P. (2012): *Technika a technologie jako nástroj ochrany životního prostředí*. MENDELU. Brno.
- [9] *Problematika kalového hospodářství. Vodní hospodářství* [online]. České Budějovice: Vodní hospodářství, spol. s r.o., © 2021 [cit. 2022-02-02]. Dostupné z: <https://vodnihospodarstvi.cz/problematika-kaloveho-hospodarstvi/>
- [10] *Třetí stupeň čištění. Vodní hospodářství* [online]. České Budějovice: Vodní hospodářství, spol. s r.o. [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: <https://vodnihospodarstvi.cz/treti-stupen-cistení/>
- [11] MLEJNSKÁ, Eva, Miloš ROZKOŠNÝ a Dana BAUDIŠOVÁ. *Optimalizace provozu a zvýšení účinnosti čištění odpadních vod z malých obcí pomocí extenzivních technologií*. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2015. ISBN 978-80-87402-44-3.

- [12] *Kořenová čistička Grania* [online]. Dubí [cit. 2021-5-30]. Dostupné z: <http://grania.cz/korenova-cisticka/>
- [13] Vymazal, J., 2004. Kořenové čistírny odpadních vod, ENKI Třeboň, 14.
- [14] ŠÁLEK, Jan, Zdeňka ŽÁKOVÁ a Petr HRNČÍŘ. *Přírodní čištění a využívání vody v rodinných domech a rekreačních objektech*. Brno: ERA, 2008. 21. století. ISBN 978-80-7366-125-0.
- [15] *Budování malých přírodních čistíren odpadních vod* [online]. Brno: © Biotes, 2011 [cit. 2022-04-24]. Dostupné z: <http://www.biotes.com/budovani.php>
- [16] SOMMER, Ladislav. *Malé čistírny odpadních vod*. Praha: Agrospoj, 1993. Vodovody, kanalizace. ISBN 80-708-4059-5.].
- [17] Kořenové čistírny odpadních vod. Kcov-rostliny [online]. Spálené Poříčí. Dostupné z: <http://www.kcov-rostliny.cz/KCOV.php>
- [18] ROZKOŠNÝ, Miloš. *Domovní čistírny odpadních vod*. V Brně: ZO ČSOP Veronica, 2010. ISBN 978-80-87308-07-3.
- [19] KOTYZA, Jan, Petr SOUDEK, Zdeněk KAFKA a Tomáš VANĚK. LÉČIVA – „NOVÝ“ ENVIROMENTÁLNÍ POLUTANT. *Chemické listy*. 2009, **103**, 540-547
- [20] *Stát hledá tip, jak vodu zbavit zbytků léků a hormonů* [online]. Praha: Lidovky.cz, 2021 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: https://www.lidovky.cz/domov/co-je-to-tu-zasajrajt-stat-chce-zacit-odstranovat-leciva-a-hormony-z-odpadnich-vod.A210524_204338_in_domov_hetom
- [21] Zákon č. 378/2007 Sb., zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech). In: *Sbírka zákonů*. 6.12.2007. ISSN 1211-1244.
- [22] JULINOVÁ, Markéta. *Výskyt a vlastnosti polutantů: poznámky k vybraným kapitolám*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2016. ISBN 978-80-7454-584-9.
- [23] Šíblová, D., Biela, R. Odstraňování farmak ze zdrojů pitné vody. Vodovod.info-vodárenský informační portál [online]. 16.4.2019, 04/2019, [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: <http://www.vodovod.info/index.php/clanky/421-odstranovani-farmak-ze-zdroju-pitne-vody#.XqF2rGYzbIV>. ISSN 1804-7157.

- [24] ANDREOZZI, Roberto, Vincenzo CAPRIO, Raffaele MAROTTA a Davide VOGNA. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system. *Water Research* [online]. 2003, **37**(5), 993-1004 [cit. 2022-04-24]. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:10.1016/S0043-1354(02)00460-8
- [25] SNYDER, Shane A., Eric C. WERT, David J. REXING, Ronald E. ZEGERS a Douglas D. DRURY. Ozone Oxidation of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals in Surface Water and Wastewater. *Water Research* [online]. 2006, **28**(6), 445-460 [cit. 2022-04-24]. ISSN 0191-9512. Dostupné z: doi:10.1080/01919510601039726
- [26] Máme při volbě betablokátoru zohledňovat cestu vylučování? *ProLékaře.cz* [online]. Praha: MeDitorial, © 2008-2022, 12.3.2020 [cit. 2022-02-08]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/tema/kardiovaskularni-kontinuum/detail/mame-pri-volbe-betablokatoru-zohlednovat-cestu-vylucovani-121557>
- [27] Hodnocení distribuovaných a vydaných léčivých přípravků za rok 2014. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha: © SÚKL, 2010 [cit. 2022-02-09]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/hodnoceni-dodavek-distribuovanych-lecivych-pripravku-za-rok-4>
- [28] Hodnocení distribuovaných léčivých přípravků za rok 2019. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha: © SÚKL, 2010 [cit. 2022-02-09]. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/hodnoceni-distribuovanych-lecivych-pripravku-za-rok-2019>
- [29] *Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018: Trends from 2010 to 2018 Tenth ESVAC report*. Luxembourg: © European Medicines Agency, 2020. ISBN 978-92-9155-066-1.
- [30] Možnosti využití fytořemediace pro odstranění kontaminace způsobené toxickými kovy a radionuklidy. *DIAMO* [online]. Praha: T. Vaněk, P. Soudek, R. Tykva, I. Kališová [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: https://slon.diamo.cz/hpvt/2002/sekce/zahlazovani/Z07/P_07.htm
- [31] AHMAD, Mahtab, Anushka Upamali RAJAPAKSHA, Jung Eun LIM, et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. *Chemosphere* [online]. 2014, **99**, 19-33 [cit. 2022-02-03]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.071
- [32] GWENZI, Willis, Nhamo CHAUKURA, Chicgoua NOUBACTEP, et al. Biochar-based water treatment systems as a potential low-cost and sustainable technology for clean water provision: A review. *Journal of Environmental Management* [online]. 2017, **197**, 732-749 [cit. 2022-02-03]. ISSN 03014797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2017.03.087

- [33] European Commission, Joint Research Centre, Napierska, D., Sanseverino, I., Loos, R., et al., *Review of the 1st Watch List under the Water Framework Directive and recommendations for the 2nd Watch List*, Publications Office, 2018, <https://data.europa.eu/doi/10.2760/614367>
- [34] Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. *World Health Organization* [online]. Geneva Switzerland: WHO, © 2022, 2018 [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf>
- [35] National Center for Biotechnology Information. PubChem [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2021-0-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [36] Database for Drug and Drug Target Info. DrugBank [online]. Canada: Canadian Institutes of Health Research [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com>
- [37] ChemSpider. *ChemSpider Search and share chemistry* [online]. United Kingdom: Royal Society of Chemistry [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: <https://www.chemspider.com>
- [38] PALEČEK, Jaroslav a František HAMPL. *Farmakochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-708-0308-8.
- [39] Betablokátory v léčbě kardiovaskulárních onemocnění. Solen [online]. Olomouc: Solen [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2005/02/05.pdf>
- [40] KANFER, Isadore, Michael F SKINNER a Roderick B WALKER. Analysis of macrolide antibiotics. *Journal of Chromatography A* [online]. 812(1-2), 255-286 [cit. 2022-01-29]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(98)00276-3
- [41] Antiepileptika a jejich klinické použití v epileptologii. Solen [online]. Olomouc: Solen [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2010/02/02.pdf>
- [42] Carbamazepine. DrugBank [online]. Canada: OMx Personal Health Analytics, c2020 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00564>
- [43] Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "antiepileptic drug". *Encyclopedia Britannica*, 2 Nov. 2021, <https://www.britannica.com/science/antiepileptic-drug>. Accessed 29 January 2022.

- [44] Ghlichloo I, Gerriets V. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) [Updated 2021 May 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742/>
- [45] Nesteroidní antiflogistika v gastroenterologii. Solen [online]. Olomouc: Solen [cit. 2022-01-29]. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2010/06/02.pdf>
- [46] Chemické listy [online]. 115. 2021 [cit. 2022-01-26]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3859>
- [47] COOPER, Emily R., Thomas C. SIEWICKI, Karl PHILLIPS a Jay GAN. Preliminary risk assessment database and risk ranking of pharmaceuticals in the environment. *Science of The Total Environment* [online]. 2008, 398(1-3), 26-33 [cit. 2022-01-26]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2008.02.061
- [48] LI, W.C., Frederick ERNST, Jeremy L. CONKLE a Jay GAN. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution* [online]. 2014, 187, 193-201 [cit. 2022-01-26]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2014.01.015
- [49] Leitner P.: PPCPs – farmarka a produkty osobní péče a vody. *EnviWeb.cz* (2010). Dostupné online.
- [50] MURRAY, Christopher JL, Kevin Shunji IKUTA, Fablina SHARARA, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* [online]. 2022, **197**, 732-749 [cit. 2022-02-03]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0
- [51] Antibiotika končí ve vodě i půdě. Rozvoj rezistence se urychluje, píše OSN. *Dnes.cz* [online]. Praha: MAFRA, © 1999–2022, 7.12.2017 [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: https://www.idnes.cz/zpravy/zahranicni/antibiotika-vypousteni-priroda-rozvoj-rezistence-zprava-osn.A171206_134254_zahranicni_ert
- [52] NASSEF, Mohamed, Shuhei MATSUMOTO, Masanori SEKI, et al. Acute effects of triclosan, diclofenac and carbamazepine on feeding performance of Japanese medaka fish (*Oryzias latipes*): Ten years later. *Chemosphere* [online]. 2010, 80(9), 1095-1100 [cit. 2022-01-26]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2010.04.073
- [53] SCHWAIGER, J., H. FERLING, U. MALLOW, et al. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Ten years later. *Aquatic Toxicology* [online]. 2004, 68(2), 141-150 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2004.03.014

- [54] MALARVIZHI, Annamalai, Chokkalingam KAVITHA, Manoharan SARAVANAN, et al. Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*: Ten years later. *Journal of King Saud University - Science* [online]. 2012, 24(2), 179-186 [cit. 2022-01-26]. ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2011.01.001
- [55] OAKS, J. Lindsay, Martin GILBERT, Munir Z. VIRANI, et al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan: Ten years later. *Nature* [online]. 2004, 427(6975), 630-633 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature02317
- [56] PAROLINI, Marco, Brian QUINN, Andrea BINELLI, et al. Cytotoxicity assessment of four pharmaceutical compounds on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) haemocytes, gill and digestive gland primary cell cultures: Ten years later. *Chemosphere* [online]. 2011, 84(1), 91-100 [cit. 2022-01-26]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2011.02.049
- [57] SANTOS, Lúcia H.M.L.M., A.N. ARAÚJO, Adriano FACHINI, et al. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment: Ten years later. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2010, 175(1-3), 45-95 [cit. 2022-01-26]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2009.10.100
- [58] HAN, Sunyoung, Kyungho CHOI, Jungkon KIM, et al. Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*: Ten years later. *Aquatic Toxicology* [online]. 2010, 98(3), 256-264 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2010.02.013
- [59] QUINN, Brian, François GAGNÉ, Christian BLAISE, et al. The effects of pharmaceuticals on the regeneration of the cnidarian, *Hydra attenuata*: Ten years later. *Science of The Total Environment* [online]. 2008, 402(1), 62-69 [cit. 2022-01-26]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2008.04.039
- [60] BROOKS, Bryan W. Fish on Prozac (and Zoloft): Ten years later. *Aquatic Toxicology* [online]. 2014, 151, 61-67 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2014.01.007
- [61] VALENTI, Theodore W., Pilar PEREZ-HURTADO, C Kevin CHAMBLISS a Bryan W. BROOKS. AQUATIC TOXICITY OF SERTRALINE TO PIMEPHALES PROMELAS AT ENVIRONMENTALLY RELEVANT SURFACE WATER pH. *Environmental Toxicology and Chemistry* [online]. 2009, 28(12), 08-546 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0730-7268. Dostupné z: doi:10.1897/08-546.1

- [62] MENNIGEN, Jan A., J. SASSINE, Vance L. TRUDEAU a Thomas W. MOON. Waterborne fluoxetine disrupts feeding and energy metabolism in the goldfish *Carassius auratus*. *Aquatic Toxicology* [online]. 2010, 100(1), 128-137 [cit. 2022-01-26]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2010.07.022
- [63] YU, Zhenyang, Lei JIANG a Daqiang YIN. Behavior toxicity to *Caenorhabditis elegans* transferred to the progeny after exposure to sulfamethoxazole at environmentally relevant concentrations. *Journal of Environmental Sciences* [online]. 2011, 23(2), 294-300 [cit. 2022-01-26]. ISSN 10010742. Dostupné z: doi:10.1016/S1001-0742(10)60436-6
- [64] FONG, Peter P. a Alex T. FORD. The biological effects of antidepressants on the molluscs and crustaceans: A review. *Aquatic Toxicology* [online]. 2014, **151**, 4-13 [cit. 2022-02-09]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2013.12.003
- [65] WU, Xiaoqin, Frederick ERNST, Jeremy L. CONKLE a Jay GAN. Comparative uptake and translocation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by common vegetables. *Environment International* [online]. 2013, 60, 15-22 [cit. 2022-01-26]. ISSN 01604120. Dostupné z: doi:10.1016/j.envint.2013.07.015
- [66] BARTRONS, Mireia a Josep PEÑUELAS. Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants. *Trends in Plant Science* [online]. 2017, 22(3), 194-203 [cit. 2022-01-26]. ISSN 13601385. Dostupné z: doi:10.1016/j.tplants.2016.12.010
- [67] ČÁSLAVSKÝ, Josef a Jiří Georg Kamil ŠEVČÍK. Analýza organických látek: učební text projektu "Příprava kurzů a učebních textů v oboru vzorkování a chemické analýzy": modul K02-2014. Český Těšín: 2 THETA, 2014. Analytical standards and equipment. ISBN 978-80-260-7085-6.
- [68] NALDI, A. C., P. B. FAYAD, M. PRÉVOST a S. SAUVÉ. Analysis of steroid hormones and their conjugated forms in water and urine by on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry: GCMS. *Chemistry Central Journal* [online]. Elsevier, 2016, 2017, **10**(1), 131-163 [cit. 2022-02-06]. ISBN 9780128008713. ISSN 1752-153X. Dostupné z: doi:10.1186/s13065-016-0174-z
- [69] Spotřební materiál a laboratorní vybavení [online]. Olomouc: HPST, s.r.o. provozovna, c2020 [cit. 2020-06-03]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/priprava-vzorku-prislusenstvi/spe-solid-phase-extraction/spe-kolonky>

- [70] Solid Phase Extraction Products. *Sigma Aldrich* [online]. USA: Sigma-Aldrich, © 2022 [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/581/355/t402150.pdf>
- [71] *Waters Oasis SPE kolonky* [online]. Praha: LabRulez, c2022 [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://lcms.cz/products/215>
- [72] PETROVIC, Mira, Meritxell GROS, Damia BARCELO a A. HARADA. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography–quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, **1124**(1-2), 68-81 [cit. 2022-02-06]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2006.05.024
- [73] KOMORI, K., Y. SUZUKI, M. MINAMIYAMA a A. HARADA. Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk. *Environmental Monitoring and Assessment* [online]. 2013, **185**(6), 4529-4536 [cit. 2022-02-06]. ISSN 0167-6369. Dostupné z: doi:10.1007/s10661-012-2886-4
- [74] POCRNIĆ, Marijana, Martin ANSORGE, Magda DOVHUNOVÁ, Iva HABINOVEC, Eva TESAŘOVÁ a Nives GALIĆ. Chiral separation of beta-blockers by high-performance liquid chromatography and determination of bisoprolol enantiomers in surface waters. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*[online]. 2020, **71**(1), 56-62 [cit. 2022-02-06]. ISSN 1848-6312. Dostupné z: doi:10.2478/aiht-2020-71-3318
- [75] *Analytical Chemistry* [online]. 80. 2008 [cit. 2022-02-06]. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac702154e>
- [76] YANG, Haohan, Guanghua LU, Zhenhua YAN, Jianchao LIU, Huike DONG, Xuhui BAO, Xiadong ZHANG a Yu SUN. Residues, bioaccumulation, and trophic transfer of pharmaceuticals and personal care products in highly urbanized rivers affected by water diversion. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2020, **391**(5), 1756-1762 [cit. 2022-02-06]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2020.122245
- [77] MA, Binni, Guanghua LU, Fuli LIU, Yang NIE, Zhenghua ZHANG, Yi LI, Xiadong ZHANG a Yu SUN. Organic UV Filters in the Surface Water of Nanjing, China: Occurrence, Distribution and Ecological Risk Assessment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. 2016, **96**(4), 530-535 [cit. 2022-02-06]. ISSN 0007-4861. Dostupné z: doi:10.1007/s00128-015-1725-z

- [78] BEN, Weiwei, Zhimin QIANG, Craig ADAMS, Heqing ZHANG a Liping CHEN. Simultaneous determination of sulfonamides, tetracyclines and tiamulin in swine wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2008, **1202**(2), 173-180 [cit. 2022-02-15]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2008.07.014
- [79] DRBAL, Karel a Martin KRÍŽEK. Analytická chemie. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1999. ISBN 80-704-0352-7.
- [80] ZÁRUBA, Kamil. Analytická chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [81] MALLET, Claude R., Ziling LU a Jeff R. MAZZEO. A study of ion suppression effects in electrospray ionization from mobile phase additives and solid-phase extracts. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2004, **18**(1), 49-58 [cit. 2022-02-13]. ISSN 0951-4198. Dostupné z: doi:10.1002/rcm.1276
- [82] KOZLÍK, Petr. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie. *Přírodovědecká fakulta UK* [online]. Praha: AOW, c2022, 2.10.2014 [cit. 2022-02-13]. Dostupné z: http://web.natur.cuni.cz/~kozlik/Prednasky/2_prednaska.pdf
- [83] FISCHER, J. a P. ČESLA. Kapalinová chromatografie. *Univerzita Pardubice* [online]. Pardubice: Univerzita Pardubice, © 2022 [cit. 2022-02-13]. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/FCHT/kbbv-vk/pokrocila-instrum-analyza/kapalinova-chromatografie.pdf>
- [84] HOLČAPEK, Michal. Hmotnostní spektrometrie. *Michal Holčapek Mass Spectrometry Group @ University of Pardubice* [online]. Pardubice: M. Holčapek, ©2006-2022 [cit. 2022-02-10]. Dostupné z: https://holcapek.upce.cz/teaching/Holcapek_EMSV_MS.pdf
- [85] FRIDECKÝ, D. a K. LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie [online]. 20 (41). 2012, 154-157 [cit. 2022-02-11]. ISSN 1210-7921. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2012/2012-3/KBM12-3-Friedecky-152.pdf>
- [86] Hmotnostní spektrometrie. *Vysoká škola chemicko-technologická* [online]. Praha: David Milde, 2010 [cit. 2022-02-11]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~schulzov/HPLC/10-im-ms-1352292974.pdf>
- [87] BARKER, James. *Mass spectrometry*. 2nd ed. Chichester: Wiley, 1998. Analytical chemistry by open learning. ISBN 04-719-6762-9.

- [88] *AIR PRODUCTS* [online]. USA: Air Products and Chemicals, © 1996–2020 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: <http://www.airproducts.cz/industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/liquid-chromatography-with-mass-spectrometer-lc-ms-analytical-laboratories.aspx?itemId=BA1AEFB4DC584D8495B390A4877D0387>
- [89] HPLC VS. UPLC. *DYAD LABS* [online]. Salt Lake City, USA: Dyad, 2008 [cit. 2022-02-10]. Dostupné z: <https://dyadlabs.com/hplc-vs-uplc/>
- [90] *Kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí* [online]. Praha: Přírodovědecká fakulta Univerzita Karlova, 2014 [cit. 2021-5-15]. Dostupné z: http://web.natur.cuni.cz/~kozlik/Prednasky/HPLC_MS_MS.pdf
- [91] CHEN, Yi, Jan VYMAZAL, Tereza BŘEZINOVÁ, Milan KOŽELUH, Lumír KULE, Jingang HUANG a Zhongbing CHEN. Occurrence, removal and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in rural wastewater treatment wetlands. *Science of The Total Environment* [online]. 2016, **566-567**, 1660-1669 [cit. 2022-02-13]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.069
- [92] DVOŘÁKOVÁ BŘEZINOVA, Tereza, Jan VYMAZAL, Milan KOŽELUH, Lumír KULE, Lumír KULE, Jingang HUANG a Zhongbing CHEN. Occurrence and removal of ibuprofen and its metabolites in full-scale constructed wetlands treating municipal wastewater. *Ecological Engineering* [online]. 2018, **120**, 1-5 [cit. 2022-02-13]. ISSN 09258574. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoleng.2018.05.020
- [93] HILTON, Martin J, Kevin V THOMAS, Milan KOŽELUH, Lumír KULE, Lumír KULE, Jingang HUANG a Zhongbing CHEN. Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2003, **1015**(1-2), 129-141 [cit. 2022-02-13]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(03)01213-5
- [94] YUAN, Su-fen, Ze-hua LIU, Hua YIN, Zhi DANG, Ping-xiao WU, Neng-wu ZHU a Zhang LIN. Trace determination of sulfonamide antibiotics and their acetylated metabolites via SPE-LC-MS/MS in wastewater and insights from their occurrence in a municipal wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **653**(1-2), 815-821 [cit. 2022-02-13]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.10.417
- [95] DE CASTRO, A., M. CONCEIRO, O. QUINTELA, A. CRUZ, M. LÓPEZ-RIVADULLA, Neng-wu ZHU a Zhang LIN. LC–MS/MS method for the determination of nine antidepressants and some of their main metabolites in oral fluid and plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2008, **48**(1), 183-193 [cit. 2022-02-13]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2008.05.024

- [96] LEE, Hing-Biu, Kurtis SARAFIN, Thomas E. PEART, A. CRUZ, M. LÓPEZ-RIVADULLA, Neng-wu ZHU a Zhang LIN. Determination of β -blockers and β 2-agonists in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2007, **1148**(2), 158-167 [cit. 2022-02-13]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2007.03.024
- [97] ČOV Aquatec AT. *Aquatec USBF* [online]. Brno: Aquatec USBF [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: <https://www.usbf.cz/cov-aquatec-at>
- [98] *Domové čistiarnie odpadových vôd (ČOV) - všeobecné informácie* [online]. Dubnica nad Váhom Slovenská republika: Aquatec VFL, © 2022 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.aquatec.sk/sk/vseobecne-informacie-domove-cov/>
- [99] *ČOV AT PLUS - Domové čistiarnie odpadových vôd - AT 6 PLUS až AT 20 PLUS* [online]. Dubnica nad Váhom Slovenská republika: Aquatec VFL, © 2022 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.aquatec.sk/sk/cov-atplus/>
- [100] *Oválne čistiarnie odpadových vôd (ČOV) AT s technológiou VFL®* [online]. Dubnica nad Váhom Slovenská republika: Aquatec VFL, © 2022 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.aquatec.sk/sk/ovalne-cistiarnie-odpadovych-vod/>
- [101] V Dražovicích na Vyškovsku mají vylepšenou kořenovou čistírnu. In: *České noviny* [online]. Praha: ČTK, 2019, 2.7. 2019 [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: <https://www.ceskenoviny.cz/zpravy/v-drazovicich-na-vyskovsku-maji-vylepsenou-korenovou-cistirnu/1773990>
- [102] V Dražovicích na Vyškovsku mají vylepšenou kořenovou čistírnu. *Naše Voda* [online]. Česká republika: Nature media, s.r.o, 3.7.2019 [cit. 2022-01-30]. Dostupné z: <https://www.nase-voda.cz/drazovicich-na-vyskovsku-maji-vylepsenou-korenovou-cistirnu/>
- [103] HAKME, Elena a Mette Erecius POULSEN. Evaluation of the automated micro-solid phase extraction clean-up system for the analysis of pesticide residues in cereals by gas chromatography-Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2021, **1652** [cit. 2022-05-05]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2021.462384
- [104] PAILLER, J.-Y., A. KREIN, L. PFISTER, L. HOFFMANN a C. GUIGNARD. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Science of The Total Environment* [online]. 2009, **407**(16), 4736-4743 [cit. 2022-05-05]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2009.04.042

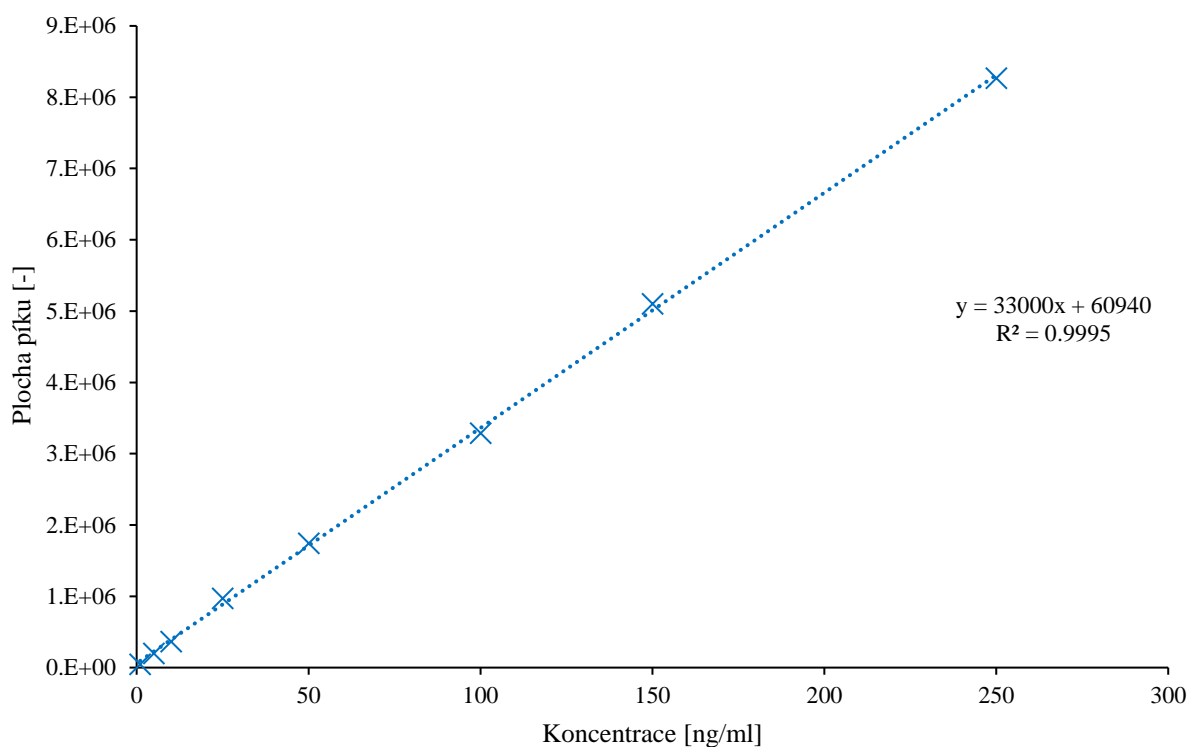
- [105] BABIĆ, Sandra, Danijela AŠPERGER, Dragana MUTAVDŽIĆ, Alka J.M. HORVAT a Marija KAŠTELAN-MACAN. Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in wastewater. *Talanta* [online]. 2006, **70**(4), 732-738 [cit. 2022-05-05]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2006.07.003
- [106] *Doplnění aktiv. biolog. kalu do ČOV – reaktivace* [online]. Brno: Aquatec USBF, © 2022 [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.aquatec-usbf.cz/servis-a-sluzby/doplneni-aktiv-biolog-kalu-do-cov-reaktivace>
- [107] *LIMITY ZNEČIŠTĚNÍ VYPOUŠTĚNÝCH VOD* [online]. Kolín: Energie AG Kolín, © 2022 [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.energiekolin.cz/cs/kanalizace/limity-znecistenivypoustenychvod>
- [108] *Nariadení vlády č. 57/2016 Sb.: Nariadení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění odpadních vod a náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod podzemních* [online]. Zlín: © AION CS, 2022 [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-57>

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

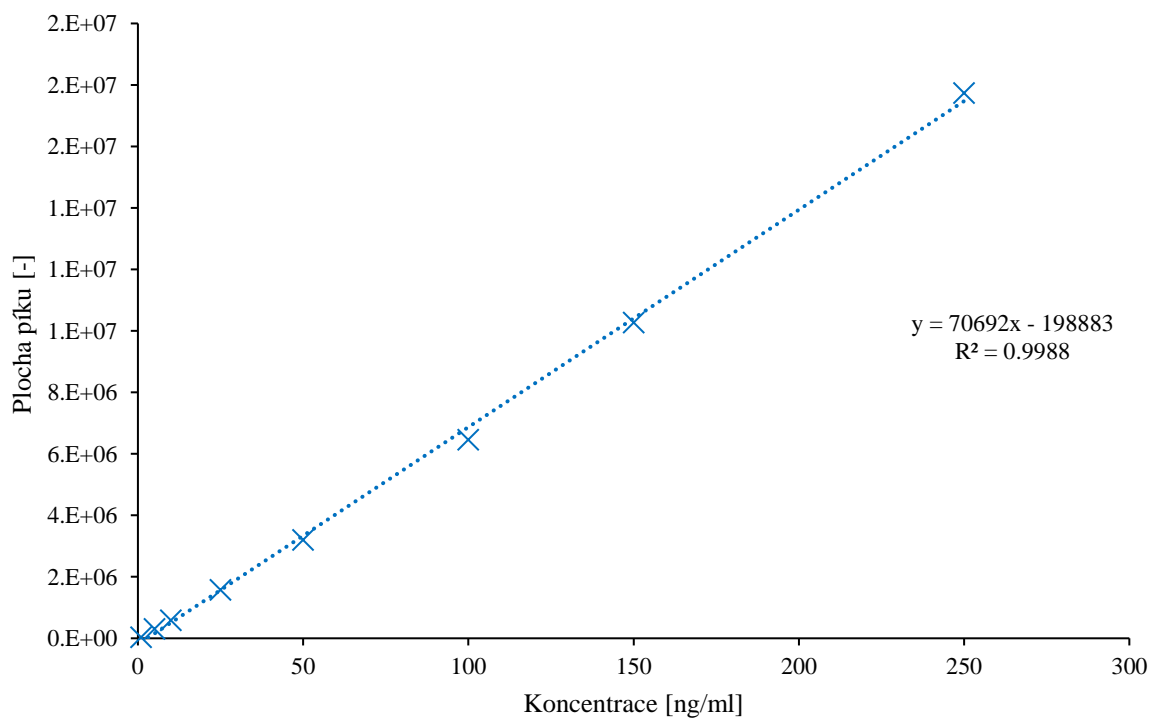
- ATC skupiny – Anatomicko-terapeuticko-chemické skupiny
a.u. – arbitrary unit (arbitrární jednotka)
BSK₅ – biologická spotřeba kyslíku za 5 dní
CI – chemical ionization (chemická ionizace)
CIA – critically important antimicrobials (kriticky významné antimikrobiální látky)
ČOV – čistírna odpadních vod
DDD – doporučená denní dávka
DMF – dimethylformamid
DMSO – dimethylsulfoxid
DOC – dissolved organic carbon (rozpuštěný organický uhlík)
DN – diameter nominal (jmenovitý vnitřní průměr potrubí = jmenovitá světlost)
EI – electron ionization (elektronová ionizace)
EO – ekvivalentní obyvatel
ESI – electrospray ionization (elektrosprejová ionizace/elektrosprej)
GIT – gastrointestinální trakt
HLB – Hydrophilic-Lipophilic-Balance (hydrofilně-lipofilně vyvážený)
HPLC – high-performance liquid chromatography (vysokoučinná kapalinová chromatografie)
CHSK_{Cr} – chemická spotřeba kyslíku dichromanem draselným
ISTD – interní standard
JRC – Joint research centre (Společné výzkumné středisko)
KČOV – kořenová čistírna odpadních vod
LC-MS – liquid chromatography-mass detection (kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí)
LC-MS/MS – liquid chromatography with tandem mass spectrometry (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí)
LOD – Limit of detection (limit detekce)
LOQ – Limit of quantification (limit kvantifikace)
MALDI – matrix assisted laser desorption ionization (laserová desorpce za účasti matrice)
MRM – multiple reaction monitoring (monitorování vícenásobných reakcí)
MQ – MilliQ voda
N – počet opakování
N_c – celkový dusík
ND – nedetekováno
NL – nerozpuštěné látky
NSAID – non-steroidal anti-inflammatory drugs (nesteroidní protizánětlivá léčiva)
OV – odpadní voda
P_c – celkový fosfor
PE – polyethylen
PVC – polyvinylchlorid
SIM – single ion monitoring (monitorování vybraného iontu)
SPE – solid phase extraction (extrakce na tuhou fázi)

SSRI – selective serotonin reuptake inhibitors (selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu)
TC – total carbon (celkový dusík)
TOC – Total organic carbon (celkový organický uhlík)
TOF – time of flight (analyzátor doby letu)
TQ – triple quadrupole (trojitý kvadrupól)
UPLC – ultra performance liquid chromatography (ultraúčinná kapalinová chromatografie)
WHO – World Health Organization

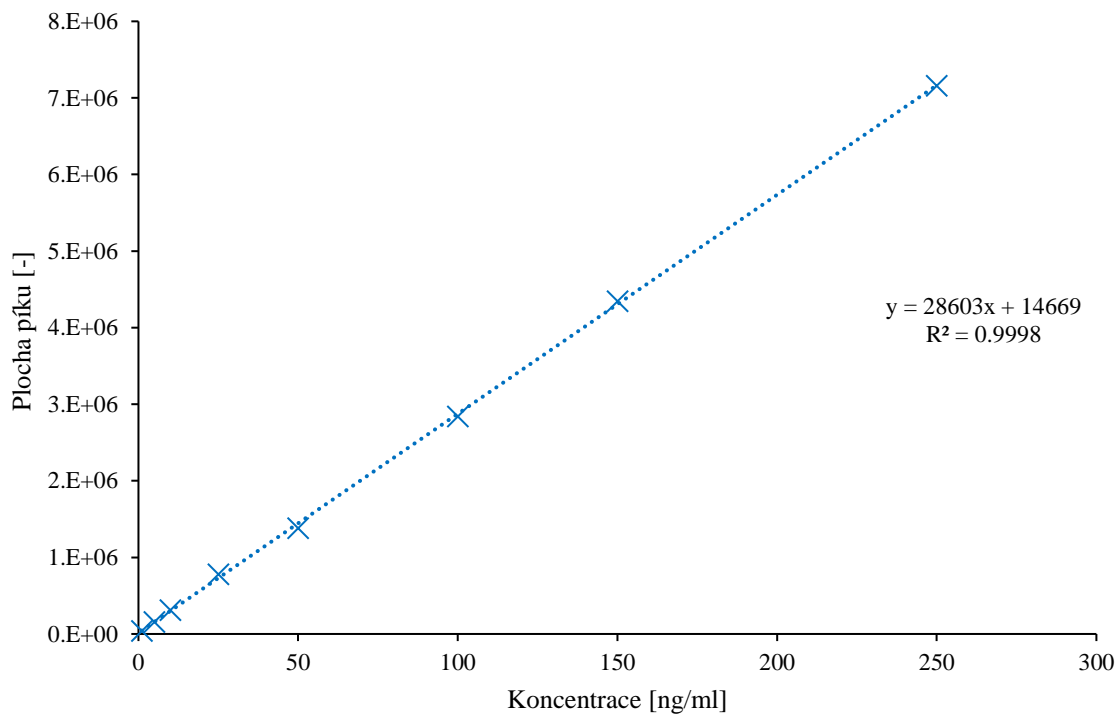
PŘÍLOHY



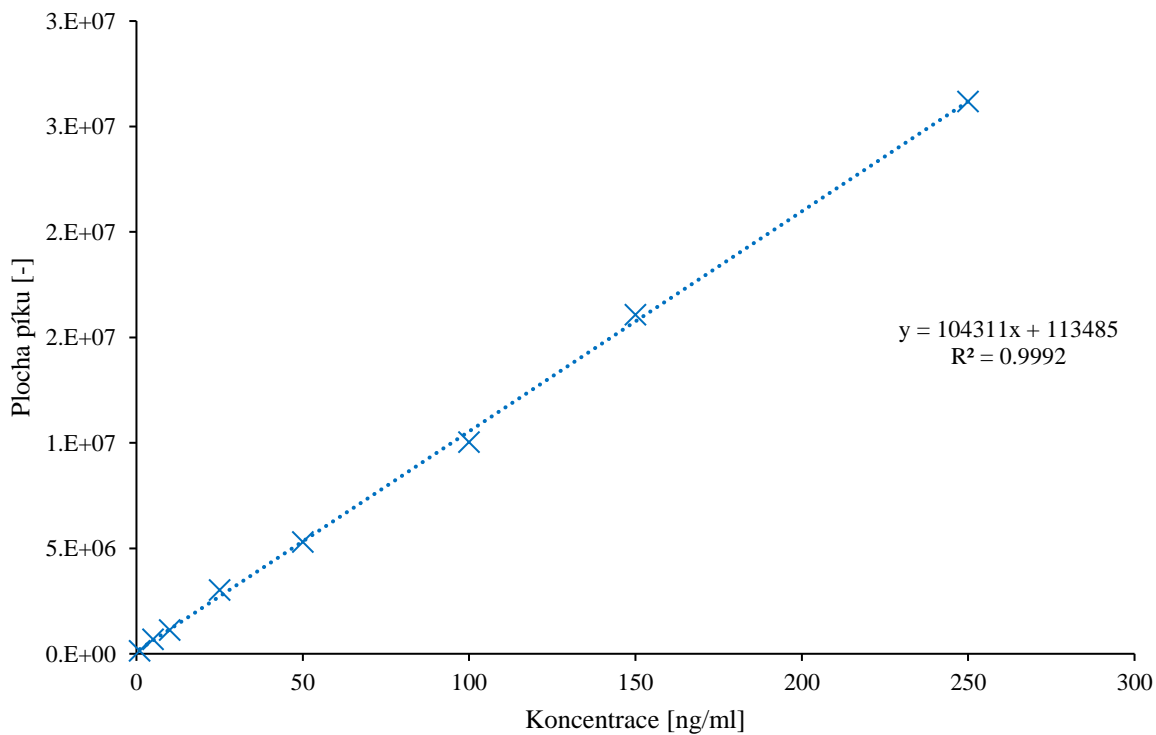
Obrázek 15: Kalibrační přímka betablokátorů – metoprolol (kalibrace z 29.11.2021)



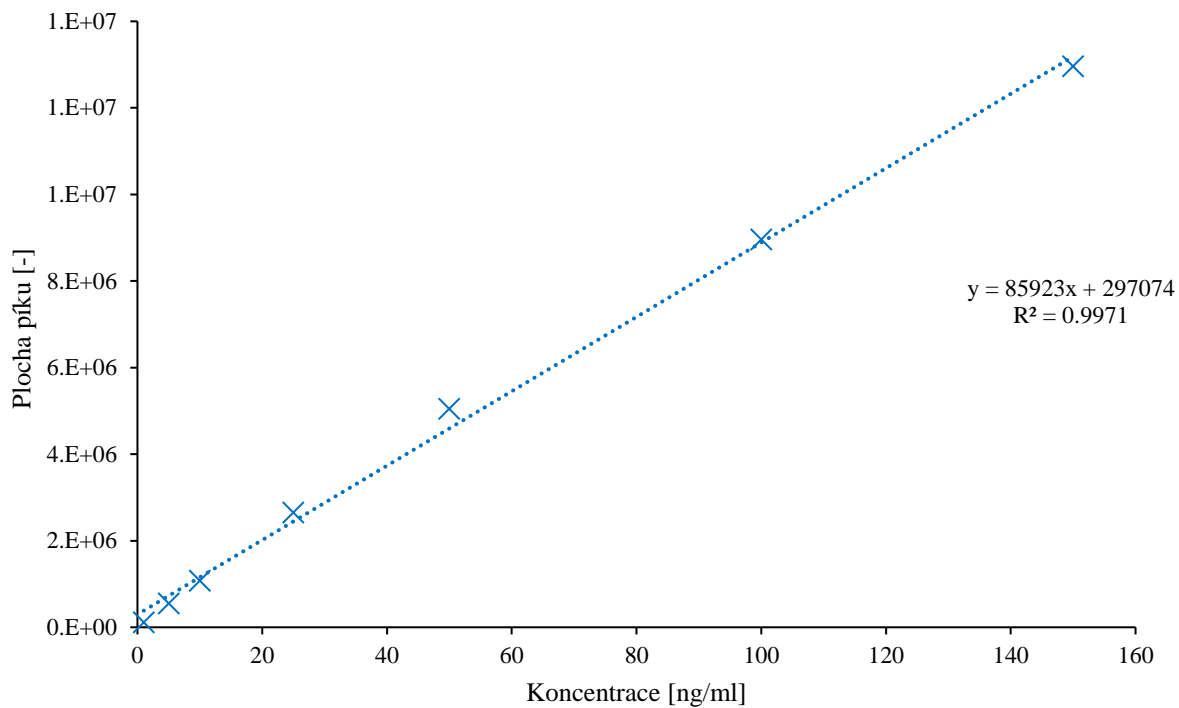
Obrázek 16: Kalibrační přímka makrolidová antibiotika – klarithromycin (kalibrace z 29.11.2021)



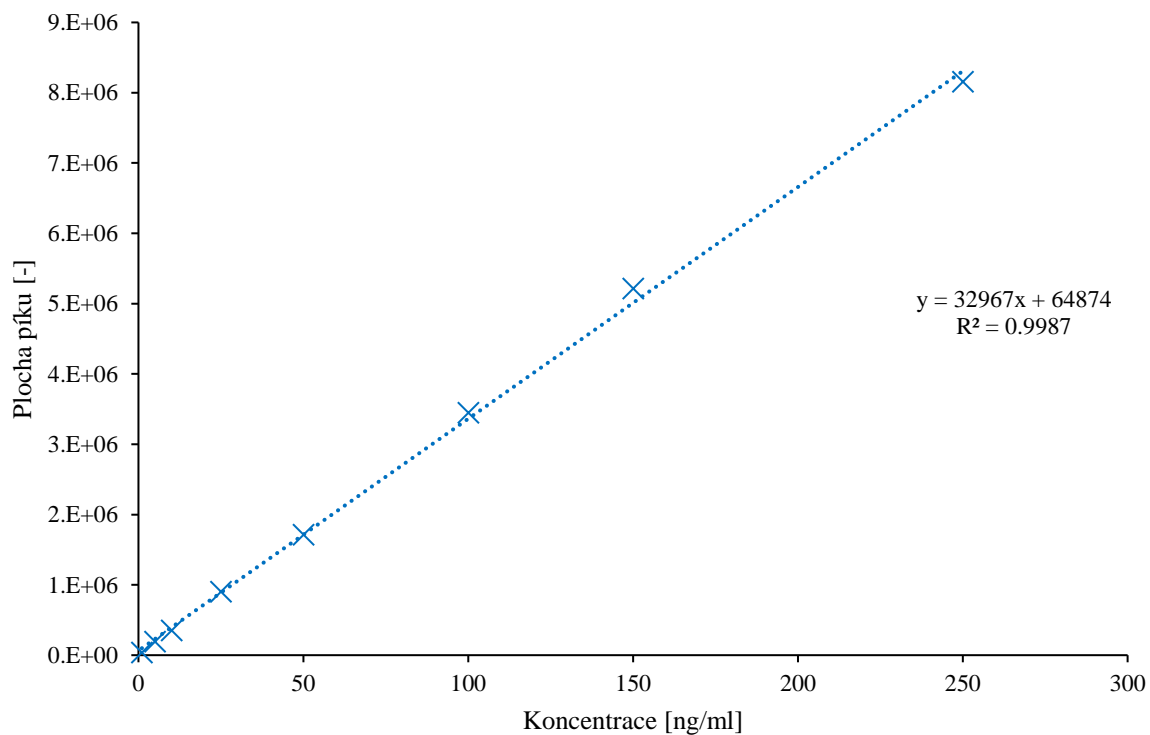
Obrázek 17: Kalibrační přímka NSAID – ketoprofen (kalibrace z 29.11.2021)



Obrázek 18: Kalibrační přímka antidepressiva – citalopram (kalibrace z 29.11.2021)



Obrázek 19: Kalibrační přímka antiepileptika – karbamazepin (kalibrace z 29.11.2021)



Obrázek 20: Kalibrační přímka sulfonamidy – sulfamethoxazol (kalibrace z 29.11. 2021)