

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**Baktericidy v životním prostředí: Výskyt
vybraných baktericidů v odpadních
vodách a jejich vliv na vodní životní
prostředí**

Autor: Monika Dušánková

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Helena Švecová, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Ing. Petra Nováková

Studijní program a obor: V21B021K, Ochrana vod

Forma studia: kombinovaná

Ročník: 4

České Budějovice, 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích, dne

podpis

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat především vedoucí bakalářské práce Ing. Heleně Švecové, Ph. D. a konzultantce Ing. Petře Novákové za metodické vedení, odbornou pomoc, poskytnuté rady, cenné připomínky a vstřícnost při zpracování této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat za odborné vedení při analýzách v laboratoři LECHB FROV JU. Nakonec bych chtěla poděkovat personálu Čistírny odpadních vod v Prachaticích provozované firmou ČEVAK a.s. za pomoc při odběru vzorků.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Monika DUŠÁNKOVÁ**
Osobní číslo: **V19B025P**
Studijní program: **B1601 Ekologie a ochrana prostředí**
Studijní obor: **Ochrana vod**
Téma práce: **Baktericidy v životním prostředí: Výskyt vybraných baktericidů v odpadních vodách a jejich vliv na vodní životní prostředí**
Zadávací katedra: **Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

Zásady pro vypracování

Řada chemikálií, které lidé používají, končí v komunální odpadní vodě. Osud chemických látek, které dorazí do čistírny odpadních vod, se liší na škále od úplné eliminace po nulový efekt odstranění v čistícím procesu. Část látek není v čistírnách odpadních vod zcela odstraněna a prochází dále skrze efluent do recipientu. Jiná část přechází do kalu, který se dále používá pro hnojení polí. Celá řada látek je v průběhu čištění rozložena na metabolity s neznámými efekty v životním prostředí. Baktericidy jsou látky ničící bakterie jako desinfektanty, antiseptika, antibiotika a další látky s antimikrobiálními účinky. Vyskytují se často i ve velkém množství v odpadní vodě, aniž by jim byla věnována pozornost a zhodnocení jejich vlivu na vodní životní prostředí. Cíl práce: Posoudit účinnost odstranění baktericidů na vybrané čistírně odpadních vod v závislosti na používané technologii čištění. Metodický postup: Ve spolupráci s čistírnou odpadních vod budou odebrány vzorky vody a kalu v různých částech technologického procesu. Ve vzorcích vod a extraktech kalu budou pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií v laboratoři LECHB FROV JU stanoveny koncentrace vybraných baktericidů. Získané informace pomohou při sledování osudu vybraných látek v čistírnách odpadních vod a stanovení jejich koeficientů odstranění. Dále budou zhodnocena rizika vlivu baktericidů na vodní životní prostředí.

Rozsah pracovní zprávy: **30-50 stran**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Kalač, P., Tříška, J., Kolář, L., Jírovcová, E., 2010. Chemie životního prostředí. JU v Českých Budějovicích, ZF, 171 s. ISBN 978-80-7394-232-8
Bindzar, J. a kol., 2009. Základy úpravy a čištění vod. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 251 s. ISBN 978-80-7080-729-3
Östman, M., 2018. Antimicrobials in sewage treatment plants. Occurrence, fate and resistance. VMC-KBC, Umea University in Umea, Sweden, 77 s. ISBN 978-91-7601-938-2
Lindberg, R.H., Östman, M., Olofsson, U., Grabic, R., Fick, J., 2014. Occurrence and behaviour of 105 active pharmaceutical ingredients in sewage waters of a municipal sewer collection system. Water Research 58, 221-229

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Helena Švecová, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Petra Nováková**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: **8. ledna 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. května 2022**


prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Zátiší 728/II
389 25 Vodňany


prof. Ing. Tomáš Randák, Ph.D.
ředitel

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	LEGISLATIVA	9
2.2	BAKTERICIDY	10
2.2.1	ANTIBIOTIKA	11
2.2.2	BIOCIDY	12
2.3	SLEDOVANÉ LÁTKY	12
2.3.1	BENZOTRIAZOLY (BT)	13
2.3.2	MAKROLIDOVÁ ANTIBIOTIKA	13
2.3.3	OSTATNÍ ANTIBIOTIKA	14
2.3.4	KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SLOUČENINY (KAS)	15
2.4	ODPADNÍ VODY	16
2.4.1	TECHNOLOGIE ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD	17
2.4.1.1	TECHNOLOGIE MALÝCH ČISTÍREN	17
2.4.1.2	TECHNOLOGIE VELKÝCH ČISTÍREN	18
2.5	VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE S TANDEMOVOU HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ	18
3	MATERIÁL A METODY	20
3.1	ČISTÍRNA ODPADNÍCH VOD PRACHATICE	20
3.1.1	TECHNOLOGIE ČOV PRACHATICE	21
3.1.1.1	MECHANICKÝ STUPEŇ	21
3.1.1.2	BIOLOGICKÉ ČIŠTĚNÍ	23
3.1.1.3	KALOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ	24
3.2	LOKALITY ODBĚRU	25
3.2.1	POPIS LOKALIT	25
3.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ	28
3.3.1	PŘÍPRAVA KALŮ A SEDIMENTŮ	29
3.3.2	PŘÍPRAVA VZORKŮ VODY	30

3.3.3	PŘÍPRAVA KALIBRAČNÍ KŘIVKY.....	30
3.4	LC-MS.....	31
4	VÝSLEDKY	33
4.1	BENZOTRIAZOLY	34
4.2	ANTIBIOTIKA	35
4.3	KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SLOUČENINY	38
4.4	ÚČINNOST ODSTRANĚNÍ.....	39
5	DISKUZE.....	41
6	ZÁVĚR.....	45
7	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	47
8	SEZNAM ZKRATEK.....	51
9	SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A PŘÍLOH	52
10	PŘÍLOHY	54
11	ABSTRAKT.....	56
12	ABSTRACT.....	57

1 ÚVOD

Voda je nejdůležitější složkou životního prostředí. Zajišťuje pohyb hmoty, ale i nepřetržitě probíhající přeměnu mnoha látek a energie. Zaujímá také klíčové postavení v životě i činnosti člověka, a její úloha roste s mírou rozvoje společnosti. Ale tento rozvoj může mít negativní dopad na životní prostředí ve všech jeho složkách. Znečištění vodního prostředí z různých zdrojů ohrožuje všechny organismy s vodou spojené, včetně lidí. Do životního prostředí se rovněž dostávají rezidua antibiotik a jejich metabolitů a biocidní látky, čímž je jejich výskytem podpořeno znečištění vodního prostředí. Přítomnost těchto látek, vykazujících antimikrobiální účinky, ve vodním prostředí zvyšuje rezistenci patogenních bakterií a naopak potlačují přirozenou mikroflóru vod nezbytnou pro samočistící pochody (Kalač a kol., 2010).

Látky vykazující antimikrobiální účinky jsou známy pod termínem baktericidy. Jedná se například o antibiotika, biocidy a další látky, které ničí bakterie nebo inhibují jejich růst. V současné době jsou již nedílnou součástí života lidí, kteří tyto látky používají v širokém měřítku. Baktericidy uplatňují své využití především v oblasti medicíny, ve formě antibiotik a dezinfekčních prostředků, ale také lze tyto látky nalézt v prostředcích osobní péče a desinfekčních prostředcích v domácnostech, ale i v průmyslu (Östman a kol., 2017).

Řada těchto chemických látek, které lidé používají, končí v komunální odpadní vodě, která je vedena do čistírny odpadních vod. Eliminace některých baktericidů konvenčními čistícími procesy může být problematická a mohou se dostat zpět do životního prostředí, a to buď skrze efluent do recipientu či použitím kalu z čistíren odpadních vod (ČOV) pro hnojení polí. Celá řada látek je v průběhu čištění rozložena na metabolity s neznámými efekty v životním prostředí. Baktericidy se často vyskytují ve velkém množství v odpadní vodě, aniž by jim byla věnována pozornost a byl tak zhodnocen jejich vliv na životní prostředí.

Cílem bakalářské práce je odběr vzorků odpadní a povrchové vody, čistírenského kalu a sedimentu v různých částech technologického procesu čistírny odpadních vod v Prachaticích a Živného potoka. Ze získaných vzorků následně stanovit koncentrace vybraných baktericidů, které jsou součástí odebraných vzorků. Záměrem práce je pomoci

stanovených výsledků, posoudit účinnost odstranění těchto látek ve vybrané čistírně odpadních vod v závislosti na používané technologii čištění.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 LEGISLATIVA

Základní předpis české legislativy, řešící problematiku veškerých vod v rámci České republiky, je zákon č. 254/2001 Sb., ve znění pozdějších přepisů a s ním spjaté prováděcí vyhlášky a nařízení. Tento zákon známý též jako „Vodní zákon“, či „zákon o Vodách“ definuje svůj účel podle § 1 odstavce 1 následovně: „účelem tohoto zákona je chránit povrchové a podzemní vody, stanovit podmínky pro hospodárné využívání vodních zdrojů a pro zachování i zlepšení jakosti povrchových a podzemních vod, vytvořit podmínky pro snižování nepříznivých účinků povodní a sucha a zajistit bezpečnost vodních děl“. Dále dle § 2 odst. 2 zákon „upravuje právní vztahy k povrchovým a podzemním vodám, vztahy fyzických a právnických osob k využívání povrchových a podzemních vod, jakož i vztahy k pozemkům a stavbám, s nimiž výskyt těchto vod přímo souvisí, a to v zájmu zajištění trvale udržitelného užívání těchto vod, bezpečnosti vodních děl a ochrany před účinky povodní a sucha“.

Rozvoj, výstavbu a provoz vodovodů a kanalizací řídí zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích). Tento zákon dle § 1 odstavce 1 „upravuje některé vztahy vznikající při rozvoji, výstavbě a provozu vodovodů a kanalizací sloužících veřejné potřebě, přípojek na ně, jakož i působnost orgánů územních samosprávných celků a správních úřadů na tomto úseku“.

V rámci Evropské unie je základním předpisem v oblasti čištění odpadních vod směrnice Rady 91/271/EHS o čištění městských odpadních vod. Tato směrnice se týká odvádění, čištění a vypouštění městských odpadních vod a čištění a vypouštění odpadních vody z určitých průmyslových odvětví. Cílem směrnice je ochrana životního prostředí před nepříznivými účinky vypouštění již uvedených odpadních vod. Pro zamezení vzniku nepříznivých účinků vypouštěním odpadních vod z čistíren, požaduje tato směrnice

stanovení emisních limitů a systém vzorkování, rozborů a kontroly. Tato stanovení jsou zajištěna nařízením vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.

Nakládání s kaly z čistíren odpadních vod je v České republice legislativně opatřeno zákonem č. 541/2020 Sb., o odpadech a vyhláškou č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady. Na úrovni EU je nakládání s čistírenskými kaly na půdě regulováno Směrnicí o čistírenských kálech 86/278/EHS a v každé zemi EU jsou v souladu s touto směrnicí stanoveny národní předpisy. Národní předpisy stanovují maximální přípustné koncentrace potenciálně toxických prvků v půdě po aplikaci čistírenských kalů a maximální roční aplikační dávky. Zmíněné legislativní dokumenty však nezahrnují maximální přípustné koncentrace baktericidní látek, pouze upravují podrobnosti nakládání s léčivy z domácností.

Používání biocidních přípravků reguluje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012. Součástí biocidních přípravků jsou účinné látky, které hubí, tlumí nebo omezují růst škodlivých organismů. Biocidy vykazují účinky desinfekční, antiseptické nebo konzervační. Ačkoliv mohou být tyto látky škodlivé pro lidi, zvířata nebo životní prostředí, jejich využití je v řadě oblastí lidské činnosti. Ke dni 14.4.2023 se v databázi ECHA (European Chemicals Agency) nachází 929 účinných biocidních látek v celkem 6 531 biocidních přípravcích. Nadměrným používáním antibakteriálních látek, jako jsou biocidy, ale také antibiotika používané v různých aplikacích, hrozí vznik antibiotické rezistence. Rozvoj antibiotické rezistence identifikuje Světová zdravotnická organizace (WHO) jako jeden z vážných celosvětových problémů. Čistírny odpadních vod, řešené v této práci jsou místy, kudy tyto látky procházejí ve vysokých koncentracích, mají významný vliv na vstup genů antibiotické rezistence do životního prostředí.

2.2 BAKTERICIDY

Mezi baktericidy, jakožto chemické látky vykazující antimikrobiální účinky jsou řazeny antibiotika, kovy a biocidy. Tyto látky jsou v současnosti využívány v mnoha aplikacích k odstranění nežádoucích mikroorganismů. V současné době jsou již nedílnou součástí života lidí, kteří tyto látky používají v širokém měřítku. Obecně mají biocidy

širší spektrum účinnosti než antibiotika. Zatímco antibiotika mají tendenci mít specifické intracelulární cíle, biocidy jsou různorodé a negativně ovlivňují nejen bakterie, ale i rostliny či živočišné škůdce (McDonnell a Russell, 1999).

Účelem biocidů a antibiotik je zabít nebo inhibovat růst nežádoucích mikroorganismů, s rozdílem ve množství aplikace. Biocidy diskutované v této bakalářské práci používané jako konzervanty, antiseptika a dezinfekční prostředky, se obvykle aplikují v mnohem větším množství než antibiotika z důvodu zlepšení účinnosti.

2.2.1 ANTIBIOTIKA

Antibiotika jsou nedílnou součástí nynější společnosti již od roku 1928, kdy Alexander Fleming objevil první přírodní antibiotikum, penicilin, jehož název je odvozen od plísně *Penicillium*. Dříve termín antibiotikum zahrnoval pouze přírodní sloučeniny tvořené bakteriemi, nebo houbami, avšak nyní obsahuje široké spektrum syntetických či polosyntetických antibiotik, které jsou nezbytné v moderním zdravotnictví. V současné době je zaznamenáno kolem 250 různých chemikálií pro použití v humánních a veterinárních léčivech (Ozumchelouei a kol., 2020). Zmíněná léčiva se široce používají od svého zavedení ve 40. letech 20. století v humánní a veterinární léčbě bakteriálních infekcí a také jako stimulatory růstu v chovu zvířat. Vzhledem k jejich odlišným antimikrobiálním účinkům jsou antibiotika specifikována jako bakteriostatická a baktericidní. Bakteriostatická antibiotika jsou ty látky, které inhibují růst či množení mikroorganismů. V případě, kdy dojde i k jejich usmrcení, jedná se o baktericidní antibiotika.

Vysoká míra užívání a zneužívání těchto antimikrobiálních látek však vedla k nárůstu a šíření bakterií rezistentních na antibiotika a výskyt rezistentních patogenních kmenů brání jejich klinickému použití. Ačkoliv význam antibiotické rezistence byl uznán již několik desítek let zpětně, teprve nedávno byl tento fenomén považován za globální zdravotní problém (Szekeres a kol., 2017). Dnes existuje mnoho kmenů patogenů, které vykazují multirezistenci, tj. rezistenci vůči několika typům antibiotik. Vznikající problém rezistence na antibiotika byl identifikován jako hlavní hrozba pro globální zdraví, protože antibiotika jsou základem moderní zdravotní péče a jejich ztráta by byla ničující. Důraz se klade také na kontaminaci životního prostředí rezidui antibiotik, pro které je nutné

uskutečnit některé preventivní přístupy, potřebné ke zmírnění znečištění chemickými látkami (Östman a kol., 2018).

Primární zdroje léčiv v životním prostředí (ŽP) jsou komunální čistírny odpadních vod, zemědělská zařízení, akvakultura, nemocnice a farmaceutická výrobní zařízení. Zmíněná kontaminace ŽP antibiotiky usnadňuje vývoj a šíření antibiotické rezistence mezi bakteriemi, včetně patogenů, čemuž také napomáhají navíc kovy a další biocidy přítomné v průmyslových odpadních vodách, které podporují selekci na odolnost vůči antibiotikům (Bielen a kol., 2017).

2.2.2 BIOCIDY

Na rozdíl od antibiotik, která se používají k léčbě bakteriálních infekcí, jsou biocidy různorodou skupinou sloučenin, které se běžně používají jako konzervanty, antiseptika a dezinfekční prostředky (Östman a kol., 2017). S dezinfekčními a antiseptickými prostředky se setkáváme v domácnostech jako s hygienickými prostředky pro každodenní využívání. Další jejich využití je ve zdravotnictví, jako dezinfekční prostředky a antiseptika, ale také v kosmetice, kde fungují jako konzervační látky (Östman, 2018). Biocidy jsou chemicky aktivní látky, které mají různé antimikrobiální účinky. Těchto účinků se využívá k zabránění růstu mikrobů na nežádoucích místech (Lindberg a kol., 2014).

Hlavní obavou v souvislosti s biocidy je jejich intenzivní používání, které by mohlo vést stejně jako u antibiotik ke zvýšené bakteriální rezistenci vůči produktu a zkřížené rezistenci vůči nepříbuzným antimikrobiálním látkám včetně chemoterapeutických antibiotik (Maillard, 2018).

2.3 SLEDOVANÉ LÁTKY

Bakalářská práce je zaměřená na 22 látek s baktericidními účinky. Tři látky jsou ze skupiny benzotriazolů, dále bylo zařazeno sedm antibiotik a 12 kvartérních amoniových sloučenin. Seznam sledovaných látek se nalézá v tabulce 1 v kapitole 3 Materiál a metody.

2.3.1 *BENZOTRIAZOLY (BT)*

Benzotriazoly jsou známé jako třída heterocyklických sloučenin vykazující slabě hydrofobní povahu. Benzotriazolové sloučeniny jsou deriváty benzenového kruhu, na kterém se pár atomů uhlíku kovalentně váže na tři atomy dusíku v pětičlenném kruhu. Nejjednodušší člen této skupiny je 1*H*-benzotriazol, který se skládá z benzenového jádra fúzovaného s 1*H*-1,2,3-triazolovým kruhem. Hlavními deriváty této sloučeniny jsou 4-methyl-1*H*-benzotriazol, 5-methyl-1*H*-benzotriazol, směs 4 a 5-methyl-1*H*-benzotriazol, 5,6-dimethyl-1*H*-benzotriazol a 5-chlor-1*H*-benzotriazol (Briguglio a kol., 2015). Z nichž 1-methyl-1*H*-benzotriazol a 4/5-methyl-1*H*-benzotriazol (suma izomerů 4-methyl-1*H*-benzotriazolu a 5-methyl-1*H*-benzotriazolu) byly součástí analýzy této práce.

Vykazují dobrou inhibici koroze tím, že se snadno absorbují na povrch různých kovů a slitin, především mědi, se kterými tvoří komplexy nerozpustné ve vodě. Díky této vlastnosti jsou používány jako korozní inhibitory v kapalinách pro odmrazování a ochranu proti námraze letadel. Své uplatnění však nachází i ve formě pracích prášků obsahující detergenty či bělidel, chladicích a brzdových kapalin (Shi a kol., 2019).

Celosvětová produkce a využití těchto sloučenin jak v každodenním životě, tak i v různých průmyslových oblastech vyvolává obavy o ochranu životního prostředí. Odolnost benzotriazolových sloučenin vůči biologickému rozkladu, tvorba komplexů společně s kovy, nerozpustných ve vodě a jejich toxicita pro mikroorganismy, rostliny a vodní faunu představuje významnou roli jako kontaminant životního prostředí (Hart a kol., 2004).

2.3.2 *MAKROLIDOVÁ ANTIBIOTIKA*

Makrolidová antibiotika neboli „makrolidy“ nesou svůj název dle chemické struktury tvořené 12-16 členným makrocyklickým laktonovým kruhem. Makrolidy s 14-16 členným makrocyklickým laktonovým kruhem jsou řazeny do skupiny vykazující širokou škálu biologické účinnosti a mají antibakteriální účinky. Působení těchto látek znemožňuje syntézu bakteriálních bílkovin, tudíž je jejich účinek primárně bakteriostatický (Janas a Przybylski., 2019).

Makrolidy jsou látky, které hojně kontaminují různé složky vodního prostředí. Jejich hojný výskyt a tím i významné ovlivnění vodního prostředí, co se týče rizik dopadu pro vodní hospodářství, způsobilo na základě dostupných informací zařazení některých makrolidů na seznam sledovaných látek EU, dle rozhodnutí EU, 2015/495 ze dne 20. března 2015. Zároveň se jedná i o makrolidy sledované v této práci, a to konkrétně o erythromycin, klarithromycin a azithromycin. Tyto látky nadále zůstaly i na druhém seznamu sledovaných látek (rozhodnutí EU, 2018/840 z 5. června 2018). Na základě zprávy z přezkumu prvního sledovaného seznamu EU lze konstatovat, že nejčastěji detekovanou látku (mezi makrolidy) je klarithromycin (Felis a kol., 2020).

Dalším makrolidovým antibiotikem sledovaných látek je erythromycin, od něhož byla odvozena řada derivátů, kterými jsou 14-členný dirithromycin, klarithromycin, roxitromycin, nebo 15-členný azotrimycin. Mezi 16-členné řadíme tylosin, desmicosin, karbomycin, spiramycin, josamycin. V závislosti na koncentraci v místě infekce a citlivosti postiženého organismu, má erythromycin účinek buď bakteriostatický či baktericidní (Janas a Przubylski., 2019). Poslední makrolidové antibiotikum sledované v této práci je azithromycin, který se uplatňuje ve zdravotnictví především pro léčbu některých bakteriálních infekcí.

2.3.3 OSTATNÍ ANTIBIOTIKA

Klindamycin je vyroben chemickou modifikací mateřské sloučeniny linkomycinu. Disociuje peptidyl-tRna z bakteriálního ribozomu, čímž narušuje syntézu bakteriálních proteinů. Stejně tak jako u klarithromycinu, je i toto antibiotikum spojované se vzácnými případy akutního poškození jater. Hlavním uplatněním je především v případě některých závažných bakteriálních infekcí.

Klindamycin sulfoxid je aktivním metabolitem antibiotika klindamycinu. Tato látka, není určena pro humánní ani veterinární použití, ale k inhibici růstu určitých bakterií. Především se jedná o *P. prevoti*, *B. fragilis* a *C. sordellii*.

Trimethoprim je syntetický derivát trimethoxybenzylpyrimidu s antibakteriálními a antiprozoálními vlastnostmi. Antibakteriální aktivita tohoto činidla je potencována sulfonamidy. Nejčastěji detekovanou látkou ze skupiny sulfonamidů v životním prostředí

je sulfamethoxazol. Sulfamethoxazol je isoxazolová sloučenina, má roli antibakteriálního činidla, antiinfekčního činidla, antimikrobiálního činidla, xenobiotika a lékového alergenu. Sulfamethoxazol inhibuje dihydropteroatsyntázu, čímž zabraňuje tvorbě kyseliny dihydropteroové, prekursoru kyseliny listové, která je nezbytná pro růst bakterií.

Toto sulfonamidové bakteriostatické antibiotikum se nejčastěji používá v kombinaci s trimethoprimem. V kombinaci s trimethoprimem působí synergicky, a v tomto spojení pomáhají zpomalit rozvoj bakteriální rezistence. Tato fixní kombinace antibiotik je široce používaná při léčbě mírných až středně těžkých bakteriálních infekcí (Felis a kol., 2020). Jejich významné ovlivnění vodního ŽP zapříčinilo na základě dostupných informací zařazení těchto látek do seznamu sledovaných látek dle rozhodnutí komise EU 2020/1161, ze dne 4. srpna 2020.

2.3.4 KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SLOUČENINY (KAS)

Kvartérní amoniové sloučeniny jsou široce používány jako dezinfekční prostředky a antiseptika v různých kosmetických přípravcích, čisticích prostředcích a dalších produktech pro domácnosti jako jsou aviváže. Tyto kationtové povrchově aktivní látky mohou být velmi perzistentní v životním prostředí, protože se silně absorbují na pevné látky, jako jsou kaly a sedimenty a vykazují nízký degradační potenciál v anaerobním prostředí (Clara a kol., 2007). Je prokázán vysoký objem výroby chemikálií v mnoha zemích. Riziko uvolňování těchto látek do ŽP je v současnosti podceňována, protože mnoho sloučenin s biocidní aktivitou se používají i v nebiocidních produktech (Wieck a kol., 2016).

Tyto látky spadají do skupiny povrchově aktivních látek, znečišťujících životní prostředí, která je známá pod termínem tenzidy a detergenty. Tenzidy mají schopnost snižovat povrchové napětí na rozhraní dvou fází. Ve vodném prostředí vykazují účinek prací, smáčecí, emulgační, dispergační, stabilizační a pěnicí. Oproti tomu detergenty, tedy prací a čisticí prostředky, obsahují ještě příměsi látek zvyšující prací, resp. čisticí účinnost.

Aplikací těchto látek v průmyslu či v domácnostech se jejich velká část dostává do odpadních vod. To má však negativní dopad na kvalitu vodního prostředí z hlediska toxicity a biodegradability tenzidů a podpory eutrofizace. Toxické působení na vodní

prostředí je umožněno chemickou strukturou jejich molekuly, a z toho vyplývajícími fyzikálně chemickými vlastnostmi. Snižují povrchové napětí vody a vyšší koncentrace způsobují inhibici metabolických pochodů v buňkách. Toxické jsou rovněž produkty primární degradace tenzidů, které již nejsou povrchově aktivní a také způsobují vyšší rozpustnost jiných organických a málo rozpustných sloučenin. Svými účinky podstatně snižují kyslíkovou bilanci toků (Holoubek, 1990).

Komplikací v případě přítomnosti těchto látek v odpadních vodách je jejich náročné odstranění. Tenzidy v odpadních vodách způsobují tvorbu pěny a negativně ovlivňují čištění. Při čistícím procesu nastává nedostatečný styk povrchu vody se vzduchem a v důsledku toho se zmenšuje obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě – tedy podstatně snižují účinnost biologického způsobu čištění odpadních vod (Tölgyessy a kol., 1989).

2.4 ODPADNÍ VODY

Veškeré použité vody vykazující změnu fyzikálních, chemických či biologických vlastností vody, které omezí, či znemožní jejich následné použití k danému účelu, považujeme za vody odpadní, tedy vody využívané v domácnostech, průmyslových, zemědělských, zdravotnických a jiných stavbách a zařízeních (zákon č. 254/2001 Sb.).

Pomocí detailnějších informací o původu, složení a charakteru znečištění odpadních vod je rozlišováno základní dělení, a to na vody srážkové a městské kanalizační vody (spláskové a průmyslové). Srážkové vody, jejichž množství je ovlivněno velikostí odvodňované plochy, jejich kvalitě a intenzitě srážek, jsou odváděny z intravilánu obce jednotnou veřejnou kanalizací. Městské odpadní vody, které obsahují pouze vody z domácností a sociálních zařízení závodu, jsou pouze vodami spláskovými. Nyní však většina městských odpadních vod obsahuje i vody průmyslové. Průmyslové odpadní vody se významně liší od vod spláskových. Jejich složení a množství závisí na charakteru výroby a systému vodního hospodářství, každého jednotlivého podniku. Charakter znečištění však může být ovlivněn i v rámci jednoho podniku, který využívá více výrobních technologií. Další charakteristickým rysem těchto vod je jejich kolísání koncentrací a objemů jak v krátkých časových intervalech, tak i dlouhodobém časovém měřítku (Bindzar a kol., 2009).

Základním měřítkem pro vyjadřování znečištění je standardní jednotka ekvivalentní obyvatel (EO). Jedná se o průměrné znečištění vyprodukované od 1 obyvatele za 1 den přepočtené na hodnotu BSK₅. Ve vodohospodářské legislativě se používá především vyjádření v BSK₅ a CHSK₅. BSK₅, neboli biochemická spotřeba kyslíku, pro kterou platí, že jeden EO vyprodukuje 60g BSK₅ za den. Tato hodnota je stanovena jako dlouhodobý průměr z mnoha lokalit a takto je třeba k ní i přistupovat. Naproti tomu CHSK₅, neboli chemická spotřeba kyslíku dosahuje přibližně až dvou násobných hodnot. Průměrná hodnota v poměru BSK₅ / CHSK₅ je u splaškových vod cca 0,55 (Horáková a kol., 2003).

2.4.1 TECHNOLOGIE ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD

Předpokladem pro čištění odpadních vod je úspěšný výběr optimální technologie čištění, který je zajištěn, i detailními informacemi o cílové čištěné odpadní vodě viz kapitola 2.4. Primárním rozlišení technologií čištění je dle počtu ekvivalentních obyvatel napojených na ČOV, od kterého se pak odvíjí způsob zvolení jednotlivých fází čištění.

2.4.1.1 TECHNOLOGIE MALÝCH ČISTÍREN

Technologie malých čistíren odpadních vod, tedy do 5 000 EO, je zpravidla jednodušší, ale obsahuje podobné stupně čištění a komponenty jako velké či střední čistírny. Odlišností je zde absence primární sedimentace a anaerobní stabilizace kalu v důsledku ekonomického prodělku. Stabilizace kalu se tudíž v malých čistírnách provádí aerobně či chemicky. Charakteristickými rysy technologie jsou ve srovnání s velkými jednodušší, provozně spolehlivější s minimálními nároky na obsluhu a nároky na účinnosti má mírnější (Bindzar a kol., 2009).

2.4.1.2 TECHNOLOGIE VELKÝCH ČISTÍREN

Jedná se o čistírny s celkovým počtem připojených EO od 5 000. Mechanické čištění, jakožto první fáze této technologické linky, představuje zbavení surové vody hrubých nerozpuštěných předmětů a látek, jejichž přítomnost je nežádoucí v dalších procesech čištění. Do mechanického čištění jsou zařazeny lapáky šterku, česle a lapáky písku, za které se zřídka zařazují lapáky tuků. Posledním stupněm první fáze čištění je primární sedimentace prováděná v usazovacích nádržích. Druhou fází čištění je biologické, které probíhá v aktivačních nádržích s biomasou ve formě suspenze, nebo v reaktorech s biomasou ve formě biofilmu. Biologický reaktor musí být vždy doplněn separačním stupněm, kde se oddělí biomasa od vyčištěné vody. Tento separační proces se uskutečňuje v usazovacích nádržích. V případě, že voda po biologickém stupni dosahuje požadované kvality, vypouští se do recipientu. Terciální čištění či chemický stupeň se využívá v technologii v případě, že mechanicko-biologické čištění nestačí k dosažení potřebné kvality vyčištěné vody. V této fázi se využívá některých z fyzikálně-chemických procesů, které jsou voleny dle specifického typu zbytkového znečištění (Bindzar a kol., 2009).

2.5 VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE S TANDEMOVOU HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ

Z hlediska analýzy antimikrobiálních látek jsou nejvíce využívané metody chromatografické. Tyto metody jsou určeny k separaci sledovaného analytu od dalších látek ve vzorku tak, aby za pomoci vhodné detekční techniky bylo v dalším kroku možné tento analyt jednoznačně identifikovat a kvantifikovat. Principem chromatografických metod je rozdělení látek mezi dvě fáze, a to fáze mobilní a stacionární. Mobilní fáze unáší vzorek prostorem, kde dochází k separaci, a stacionární fáze představuje nepohybující se náplň separačního prostoru. Při průchodu vzorku separačním prostorem dochází k jeho opakované interakci ve stacionární fázi. Komponenty vzorku jsou touto interakcí selektivně brzděny ve svém pohybu, míra brzdění je úměrná vazebné síle této interakce (Opekar a kol., 2005)

Základním kritériem, pro rozdělení chromatografických metod, je skupenství použité mobilní fáze. V případě, kdy se tato fáze nachází v plynném skupenství, jedná se o

plynovou chromatografií (GC – Gas Chromatography), pokud se však ve skupenství kapalném, jedná se o kapalinovou chromatografií (LC – Liquid Chromatography).

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s tandemovou hmotnostní detekcí (MS) se řadí mezi nejcitlivější separační metody určené ke kvantitativní a kvalitativní analýze organických i anorganických látek. Spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS) bylo velmi náročně až do vynálezu elektrosprejové ionizace (Östman a kol., 2018). S vývojem dostupnějších a spolehlivějších přístrojů hraje LC-MS důležitou roli v oblasti potravinářského a farmaceutického průmyslu, dále v oblasti toxikologie a ekologie. Tato technika se nakonec stala volbou pro analýzu polárních sloučenin, jako jsou například léčiva a pesticidy (Štulík a kol., 2005).

Systém LC-MS se skládá ze tří částí. První je systém zavádění vzorku, které se skládá z LC jednotky a autosampleru, druhá část je tvořena analytickou kolonou pro separaci sloučeniny a poslední je systém MS, který se používá k ionizaci a detekci analytů (Östman a kol., 2018).

Prvotní částí jsou láhve se zásobou mobilních fází odplyňovány v tzv. degaseru, následně míchány a čerpány vysokotlakou pumpou. Mobilní fáze dále prochází přes nástřikové zařízení (autosampler). Pomocí autosampleru je do systému vstřikován fixní objem vzorku. Tento vzorek smíchaný společně s mobilní fází je dále tlačěn na analytickou kolonu, kde probíhá separační proces. Dle typu separovaných sloučenin se volí uspořádání HPLC metody. Rozlišuje se buď „normální“ nebo „reverzní“ uspořádání. „Normální“ je založené na větší polaritě stacionární fáze, než je polarita fáze mobilní. Druhou možností uspořádání je „reverzní“ (RP-HPLC). Je vhodné pro látky málo polární a nepolární, mezi které patří většina bioanalytů, včetně léčiv nebo drog. Takto separovaný vzorek následně míří do hmotnostního spektrometru. Základním principem hmotnostní spektrometrie je tvorba pozitivně či negativně nabitých částic, které jsou rozlišeny na základě poměru jejich hmotnosti a náboje (m/z) hmotnostním analyzátozem a poté jsou kvalitativně a kvantitativně zaznamenány detektorem. V iontovém zdroji dochází k ionizaci a převodu vzorku do plynné fáze. Po převodu molekul na ionty v plynné fázi dochází k jejich rozdělení na základě poměru m/z v hmotnostním analyzátozem. Tyto separované ionty jsou dále pomocí detektoru převedeny na použitelný signál. Konečnou částí je řídicí jednotka, jejíž součástí je počítač pro zpracování dat a následné grafické,

datové či textové vyhodnocení. V počítači jsou zaznamenány jednotlivé charakteristiky jako např.: retenční čas, intenzita píků při dané vlnové délce, MS spektrum a intenzita při daném m/z atd. (Cíbeček a kol., 2014).

3 MATERIÁL A METODY

3.1 ČISTÍRNA ODPADNÍCH VOD PRACHATICE

Město Prachatice se nachází v jihozápadní části České republiky a je součástí Jihočeského kraje. Městem protéká Živný potok, západně od města se nachází řeka Blanice a Husinecká přehrada. V Prachaticích je vyšší technická i občanská vybavenost, ale převážnou část zástavby tvoří rodinné a bytové domy. Občanská vybavenost zahrnuje mateřské školy, základní, střední a vyšší odborné školy, obchody, hotely a penziony, restaurace a kulturní zařízení. Důležité z hlediska objemu použití antibiotik a desinfektantů je nemocnice, domy s pečovatelskou službou (DPS Skalka, DPS Sady), zařízení pro péči o seniory (Mistra Křišťana), hospic sv. Jana Neumanna. Jihovýchodní část Prachatic je tvořena průmyslovými objekty. V průmyslové oblasti převažuje průmysl se strojírenskými, elektrotechnickými a dřevařskými obory.

Odpadní vody z výše zmíněných objektů jsou z převážné většiny odváděny jednotnou kanalizační sítí na čistírnu odpadních vod. Průmyslová zóna je odkanalizována oddílnou kanalizací. Vyčištěné odpadní vody odtékají do Živného potoka.

Čistírna odpadních vod byla poprvé uvedena do provozu v roce 1964 s původním navržením technologické linky s mechanickým předčištěním a bio-filtrem. Toto provedení sloužilo více jak 30 let. I přes snahu o rozšíření technologie ČOV o další bio-filtr v roce 1998, nedošlo k zajištění potřebné kvality vypouštěných odpadních vod. Proto v roce 2005 došlo k celkové rekonstrukci ČOV. Původní, již poškozený, bio-filtr prvního stupně byl nahrazen aktivační nádrží v tzv. kaskádní uspořádání DN-DN-DN (denitrifikace-nitrifikace). Stáří kalu bylo zvýšeno zařazením regenerace a pro dočištění vody zůstal zachován druhý filtrační stupeň s nitrifikační náplní. Všechny tyto změny, vzniklé rekonstrukcí dle projektu VAK, byly navrhovány pro zvýšení celkové stability provozu a dosažení potřebné účinnosti ČOV.

Současný počet napojených obyvatel na ČOV, dle provedeného odhadu v roce 2020, odpovídá 9 700. Projektovaná kapacita ČOV je situována na 33 000 EO, ale nynější provozovaná kapacita odpovídá 8 200 EO.

Celková délka kanalizační sítě je přibližně 50 km dlouhá. K roku 2016 odpovídá délka jednotné kanalizace 46 km a délka oddílné kanalizace 4 km. Srážkový normál pro území kanalizační sítě odpovídá $699 \text{ mm} \cdot \text{rok}^{-1}$. Setkáváme se zde s průměrným denním průtokem $3\,567 \text{ m}^3 \cdot \text{den}^{-1}$. V období vzorkování došlo však k výraznému výkyvu. Byly zaznamenány až dvakrát vyšší hodnoty oproti průměrnému dennímu průtoku.

Z celkového množství odpadních vod, se zde jedná o 15 % vod průmyslových. Množství balastních vod v kanalizační síti je přibližně 25 %. Čistírna odpadních vod zaznamenává o 10 – 20 % vyšší produkci OV o víkendech, než v pracovních dnech.

3.1.1 TECHNOLOGIE ČOV PRACHATICE

3.1.1.1 MECHANICKÝ STUPEŇ

Odpadní vody z města jsou přiváděny jednotnou kanalizací k části mechanického stupně čištění. V tomto stupni dochází k předúpravě surové odpadní vody odstraněním všech makroskopických částic, které jsou nežádoucí v dalších fázích čištění odpadních vod.

Součástí přítokové kanalizace je lapák šterku a odlehčovací komora, která hraje významnou roli v případě přívalových dešťů. Komora činní objem 680 m^3 a je vybavena vyplachovací klapkou. Přítoková kanalizace je zároveň vybavena přístroji PARS 5 pro měření průtoku.

K prvnímu mechanickému předčištění dochází v místě hrubých česlí, které jsou čištěny ručně. Pomocí česlí jsou odstraněny větší předměty, jako jsou papír, plasty a dřevo. Následně je voda svedena k lapáku písku (viz Obrázek č. 1) v provzdušňovaném provedení. Zde pískový šnekový dopravník transportuje separovaný písek do dalšího dopravníku, který je již nakloněn, aby vyvedl písek ven ze zařízení. Za lapáky písku je zřízen i lapák tuků. Na ČOV se nachází 4 usazovací nádrže o ploše $4 \times 54 \text{ m}^2$ a objemu $4 \times 135 \text{ m}^3$ zobrazené na Obrázku č. 2. V každé nádrži je zahloubena kalová jámka.



Obrázek 1: lapák písku (autor textu, 2022)



Obrázek 2: usazovací nádrže (autor textu, 2022)

3.1.1.2 BIOLOGICKÉ ČIŠTĚNÍ

V této části se pracuje s již mechanicky předčištěnou vodou. Z mechanické části je převedena do biologické pomocí čerpací stanice s čerpáním do aktivační části o celkovém objemu 3 000 m³. Ještě před samotnou aktivací je do rozdělovacího objektu dávkován síran železitý pro srážení fosforu. Aktivace je zde rozdělena do dvou samostatných linek v sestavě: R-DN-DN-DN. Regenerovaný kal přepadá na začátek každé linky a přítok vody je rovnoměrně rozdělen do dvou biologických linek. Denitrifikační nádrže jsou obohaceny míchadly a nitrifikační nádrže jemno-bublinnou aerací s řízenou dávkou vzduchu (viz Obrázek č. 4). Systém pracuje bez vnitřní cirkulace. Voda z aktivační části je dále vedena do dvou kruhových dosazovacích nádrží (viz Obrázek č. 3). Nádrže jsou opatřeny pojezdovým mostem pro stírání dna a hladiny. Vyčištěná voda odtéká přes dočišťovací síto na měrný žlab.



Obrázek 3: kruhová dosazovací nádrž (autor textu, 2022)



Obrázek 4: aktivační nádrž (autor textu, 2022)

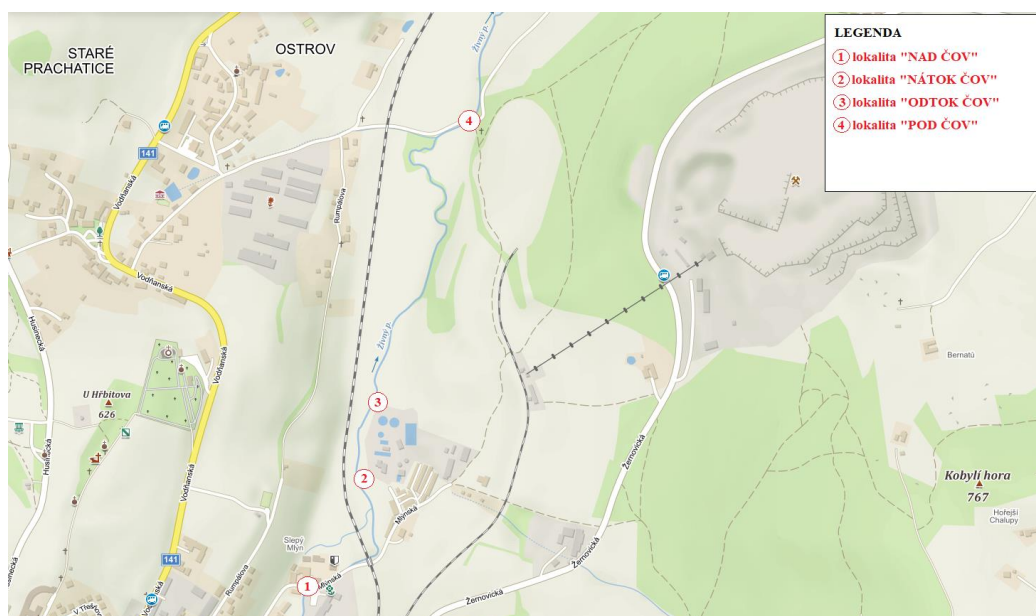
3.1.1.3 KALOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ

Kalové hospodářství ČOV Prachatice je tvořeno zahušťovací sítí, vyhnívací nádrží, uskladňovací nádrží a pásovým lisem. Celkový kal zahrnuje aktivovaný a usazovací kal. Aktivovaný kal představuje až 60 % celkového množství kalu v ČOV a usazovací kal 40 %. Využívá se zde princip zahuštění kalů ve vyhnívací nádrži, ve které se udržuje stálá teplota okolo 40 °C. Dalším využitím kalů je tvorba bioplynu. Tento způsob využití kalu napomáhá k redukci kalu. 20 % bioplynu je spotřebováno k provozu ČOV.

3.2 LOKALITY ODBĚRU

Odběr vzorků odpadních vod a kalů byl proveden na čistírně odpadních vod v Prachaticích a na přilehlém Živném potoce. Celkový úsek vzorkování a popis lokalit je zobrazen na Obrázku č. 5. Ten pramení asi jeden km severozápadně od Chrobol v nadmořské výšce 755 m. Protéká městem Prachatice a ústí u Těšovic, kde tvoří pravostranný přítok řeky Blanice. Délka toku činí 13,6 km. Největším přítokem je Feferský potok, který se vlévá do Živného v Prachaticích.

3.2.1 POPIS LOKALIT



Obrázek 5: odběrná místa (zdroj: mapy.cz - <https://mapy.cz/zakladni?x=14.0148671&y=49.0241581&z=16>)

Odběry vzorků byly prováděny 22.6.2021 - 25.6.2021. Získané vzorky vody představovali bodové nebo 24 h slévané vzorky vody, odebrané vzorky sedimentu ze Živného potoka, aktivovaný a stabilizovaný kal z ČOV. Dalším odběrem 9.8.2021 byl získán vzorek sedimentu z lokality nad ČOV a pod ČOV.

První lokalita, na které byl prováděn odběr, nese pracovní název „NAD ČOV“ (viz Obrázek č. 6). Lokalita leží přibližně 200 m proti proudu nad přítokem do ČOV.

V místě vzorkování je tok přibližně 3 m široký a 0,3 m hluboký. Z této lokality byly získány bodové vzorky vody a sedimentu. Tato lokalita představuje kvalitu vody v recipientu bez vlivu ČOV.



Obrázek 6: lokalita „NAD ČOV“ (autor textu, 2021)

Druhá lokalita vzorkování nazvaná „NÁTOK ČOV“, je přítok odpadní vody do ČOV za česlemi. V tomto místě zároveň dochází k těžbě písku, jak můžete vidět na Obrázku 7 níže. Součástí stokové sítě je zde odlehčovací komora, jejíž využití slouží v období přívalových dešťových vod. V tomto místě byly odebrány dva typy vzorků. Bodový 22.6.2021 a 24h slévaný vzorek v období od 23.6.2021 – 25.6.2021.



Obrázek 7: lokalita „NÁTOK ČOV“ (autor textu 2021)

„ODTOK ČOV“ je další lokalitou vzorkování. Zde odtéká vycištěná voda z ČOV přes dočišťovací síto skrz měrný žlab, na kterém vzorkování proběhlo (viz Obrázek č. 8). V této lokalitě proběhlo vzorkování stejně jako u předešlé lokality „NÁTOK ČOV“. Byl odebrán bodový 22.6.2021 a 24h slévaný vzorek v období od 23.6.2021 – 25.6.2021.



Obrázek 8: lokalita „ODTOK ČOV“ (autor textu, 2021)

Poslední lokalitou zobrazenou na Obrázku č. 9 byla oblast Živného potoku nacházející se přibližně 800 m pod lokalitou „POD ČOV“. V tomto úseku je tok přibližně 1 m široký a 0,5 m hluboký. Zde byly získány bodové vzorky vody v období od 22.6.2021 – 25.6.2021 a sedimentu 9.8.2021. V tomto místě je pozorovatelný vliv ČOV Prachatice na kvalitu vody.



Obrázek 9: lokalita „POD ČOV“ (autor textu, 2022)

3.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro stanovení koncentrací sledovaných sloučenin ve vzorcích odpadních vod, kalů a sedimentů bylo zapotřebí vzorky pro analýzu předupravit a připravit si kalibrační křivku ze standardů.

Pro extrakci a následnou analýzu byly použity tyto chemikálie: methanol (MeOH; LiChrosolv Hypergrade), acetonitril (ACN; LiChrosolv Hypergrade), 2-propanol (ISP; LiChrosolv Hypergrade) a kyselina mravenčí (FA; LC/MS). Tyto chemikálie byly zakoupeny u firmy Merck (Německo). Ultračistá voda (DDW) byla získána z přístroje Aqua-MAX.Ultra systém (Younglin, Korea) a Dobrá voda pochází od Dobrá voda (ČR).

Nativní a vnitřní (izotopicky značené) standardy byly nakoupeny od firmy HPST (ČR). Zásobní roztoky standardů byly připraveny rozpuštěním látky v MeOH na koncentraci 1 mg·ml⁻¹ a skladovány při teplotě -20 °C.

Tabulka 1: seznam sledovaných látek a použitých vnitřních standardů

sledovaná látka	CAS	typ	použitý vnitřní standard
1H-benzotriazol	95-14-7	benzotriazol	Trimethoprim-13C3
1-methyl-1H-benzotriazol	13351-73-0	benzotriazol	Trimethoprim-13C3
4/5-methyl-1H-benzotriazol	136-85-6	benzotriazol	Trimethoprim-13C3
ATAC-C08	2083-68-3	KAS	Venlafaxin-D6
ATAC-C10	2082-84-0	KAS	Venlafaxin-D6
ATAC-C12	1119-94-4	KAS	Venlafaxin-D6
ATAC-C14	1119-97-7	KAS	Venlafaxin-D6
ATAC-C16	57-09-0	KAS	Karbamazepin-D10
Azithromycin	83905-01-5	makrolidové antibiotikum	Klindamycin-D3
BAC-C08	959-55-7	KAS	Venlafaxin-D6
BAC-C10	965-32-2	KAS	Venlafaxin-D6
BAC-C12	139-07-1	KAS	Karbamazepin-D10
BAC-C14	139-08-2	KAS	Karbamazepin-D10
BAC-C16	122-18-9	KAS	Karbamazepin-D10
Benzethonium	121-54-0	KAS	Venlafaxin-D6
Klarithromycin	81103-11-9	makrolidové antibiotikum	Klarithromycin-D3
Klindamycin	18323-44-9	antibiotikum	Klindamycin-D3
Klindamycin sulfoxid	22431-46-5	antibiotikum	Klindamycin-D3
DADMAC-C10	2390-68-3	KAS	Karbamazepin-D10
Erythromycin	114-07-8	makrolidové antibiotikum	Klindamycin-D3
Sulfamethoxazol	723-46-6	antibiotikum	Sulfamethoxazol-13C6
Trimethoprim	738-70-5	antibiotikum	Trimethoprim-13C3

3.3.1 PŘÍPRAVA KALŮ A SEDIMENTŮ

Pro chemickou analýzu byly použity vzorky aktivovaného a stabilizovaného kalu z ČOV Prachatice a vzorky sedimentu ze Živného potoka. Po rozmrazení odebraných vzorků byla část vzorku odebrána a zvážena pro další zpracování. Ke dvěma gramům vzorku bylo přidáno 20 ng vnitřních standardů (IS). Poté byl vzorek extrahován dle práce

Golovko a kol., (2016) a to ve dvou krocích se dvěma extrakčními činidly A (acetonitril + voda = 1:1 + 0,1 % FA) a B (acetonitril + 2-propanol + voda = 3:3:4 + 0,1 % FA). Po přidání extrakčního rozpouštědla A byly vzorky vloženy do ultrazvukové lázně, kde dochází k fyzikálnímu procesu oddělení pevné části od kapalného média. Supernatant byl následně odebrán injekční stříkačkou a přefiltrován přes filtry z regenerované celulózy o velikosti pórů 0,45 μm (Sartorius, Německo). Po přidání dalšího extrakčního rozpouštědla B byl tento proces opakován. Takto získané dva supernatanty byly smíchány a k analýze se odebral alikvotní podíl vzorku. Příprava blanku představovala stejný postup, ale s absencí vzorku kalu či sedimentu.

U matricového standardu se prováděl stejný postup s odlišností přidání vnitřních a nativních standardů po extrakci k alikvotnímu podílu vzorku před analýzou. Vnitřní standardy byly přidávány v množství 20 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a nativní standardy 100 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ vzorku. V případě fortifikovaných vzorků byly vnitřní a nativní standardy přidávány ke vzorku před extrakcí ve stejném množství. Takto připravené vzorky sloužily ke kontrole extrakčního procesu.

3.3.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ VODY

K analýze vzorků odpadní a povrchové vody bylo přefiltrováno 10 ml vzorku do vialky (filtr z regenerované celulózy, velikost pórů 0,22 μm). K tomuto množství vody byl přidán roztok vnitřního standardu (1 ng). I zde se využila kombinace vnitřního standardu a matricového standardu pro vyhodnocení kvantifikace cílových analytů. Pro blank bylo použito 10 ml Dobré vody (Dobrá voda, ČR) a přidal se vnitřní standard (1 ng).

3.3.3 PŘÍPRAVA KALIBRAČNÍ KŘIVKY

Kalibrační křivka byla připravena ze směsi vnitřních standardů (IS) a nativních standardů (NS). Ke stejné koncentraci IS byla přidána různá koncentrace NS.

Pro analýzu kalů a sedimentů byla vytvořena sedmibodová kalibrační křivka o koncentraci NS 0,1-100 ng·ml⁻¹ a stálé koncentraci IS 20 ng·ml⁻¹. Jako rozpouštědlo byla použita směs ACN + 0,1 % FA:DDW + 0,1 % FA = 1:1. Kalibrační bod 100 ng·ml⁻¹ NS přibližně odpovídá koncentraci stanovovaných látek ve vzorku 400 ng·g⁻¹.

Pro analýzu vzorků vody byla použita osmibodová kalibrační křivka v Dobré vodě o koncentraci NS od 0,01 ng·l⁻¹ po 2 000 ng·l⁻¹. Koncentrace IS byla 100 ng·l⁻¹.

3.4 LC-MS

Analýza probíhala pomocí vysokorozlišující hmotnostní spektrometrie spojené s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC-HESI-HRPS). Koncentrace sledovaných látek byly stanoveny metodou matricového standardu v kombinaci s přidavkem vnitřního standardu (Grabicova a kol., 2018). Připravené vzorky vody i extraktů byly analyzovány na sestavě Q ExactiveTM Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific, USA) s vyhřívanou elektrosprejovou ionizací (HESI), Accela 1250 pumpy (Thermo Firsher Scientific, USA) a HTS XT-CTC autosampler (CTC Analytics AG, Switzerland). Pro chromatografickou separaci analytů byla použita analytická kolona Hypersil Gold aQ (50 mm x 2,1 mm i.d., 5µm částice, Thermo Fisher Scientific) a gradientová eluce pomocí mobilních fází. Mobilní fáze byly složeny z acetonitrilu a ultračisté vody okyselených 0,1 % kyselinou mravenčí. Všechny sledované analyty byly měřeny v pozitivním módu. V tabulce 2 jsou uvedeny přechody pro hmotnostní spektrometrii a retenční časy (RT) pro chromatografií.

Tabulka 2: hodnoty m/z pro prekurzor pro hmotnostní spektrometrii a retenční časy pro chromatografii

název sloučeniny	m/z	retenční čas
1H-benzotriazol	120,06	4,45
1-methyl-1H-benzotriazol	134,07	5
4/5-methyl-1H-benzotriazol	134,07	5,24
ATAC-C08	172,21	6,1
ATAC-C10	200,24	7,38
ATAC-C12	228,27	8,45
ATAC-C14	256,3	9,52
ATAC-C16	284,33	10,74
Azithromycin	375,26	5,64
BAC-C08	248,24	7,52
BAC-C10	276,27	8,54
BAC-C12	304,3	9,51
BAC-C14	332,33	10,5
BAC-C16	360,36	11,81
Benzethonium	412,32	9,48
Klarithromycin	748,5	6,92
Klindamycin	425,19	5,64
Klindamycin sulfoxid	441,18	5,02
DADMAC-C10	326,38	10,82
Erythromycin	734,5	6,32
Sulfamethoxazol	254,06	5,29
Trimethoprim	291,15	4,62

Koncentrace sledovaných látek byly vyhodnoceny pomocí TraceFinder 3.3 software (Thermo Fisher Scientific, USA). Výpočet je založen na stanovení odezvového faktoru pro každý analyt a vzorek, sestavení kalibrační křivky a získání průměrného odezvového faktoru, úpravou odezvového faktoru získaného z kalibrace podle vlivu matrice a výpočtem koncentrace analytu ve vzorku.

Pro výpočet odezvového faktoru je zapotřebí znát plochu píku analytu (P_A) a plochu píku značeného standardu (P_{IS}). Vydělením těchto dvou hodnot je získán odezvový faktor, který je potřebný pro dokončení výpočtu. Rovnice 1 odpovídá výpočtu odezvového faktoru.

$$R_f = P_A/P_{IS}$$

Rovnice 1: výpočet odezvového faktoru

Pro sestavení kalibrační křivky se využije získaných hodnot odezvového faktoru a koncentrace ($\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ nebo $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) v kalibračních bodech. Získáním regresní rovnice z grafu kalibrační křivky je dokončen výpočet koncentrace jednotlivých analytů. Získaná regresní rovnice odpovídá vztahu: $y = ax + b$. Rovnici pro výpočet koncentrace analytů odpovídá Rovnice 2.

$$C_A = \frac{PA/P_{IS} - b}{a}$$

Rovnice 2: výpočet koncentrace

Ze stanovených hodnot koncentrací v odpadní vodě je možné vypočítat koeficient odstranění (RE – removal efficiency) dle Rovnice 3. C_n je koncentrace analytu v nátoku do ČOV a C_o odpovídá koncentraci analytu z odtoku z ČOV (Švecová a kol., 2019). V této práci jsem vypočítala RE pomocí zprůměrovaných koncentrací.

$$RE = \frac{C_{n\emptyset} - C_{o\emptyset}}{C_{n\emptyset}}$$

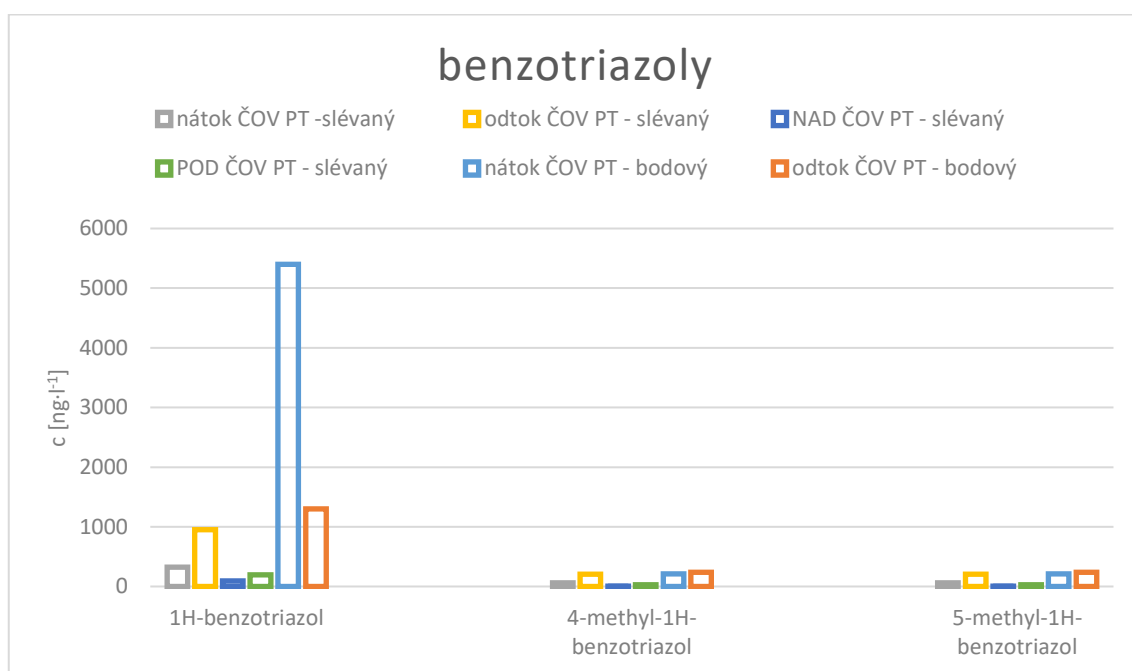
Rovnice 3: výpočet koeficientu odstranění

4 VÝSLEDKY

Pro vybrané látky této bakalářské práce (zobrazeny v Tabulce č. 1 – seznam sledovaných látek a použitých vnitřních standardů, kapitola 3.3.), byly stanoveny jejich koncentrace ve vzorcích odpadních a povrchových vod, sedimentů a kalů. Ze získaných průměrných hodnot koncentrací jednotlivých látek, byla následně zjištěna účinnost odstranění těchto baktericidů na vybrané čistírně odpadních vod. Naměřené koncentrace z vodných vzorků sledovaných látek jsou uvedené v Příloze č. 2. Dále Příloha č. 1 zobrazuje koncentrace získané ze vzorků odebraných sedimentů ze Živného potoka, aktivovaného kalu a stabilizovaného kalu.

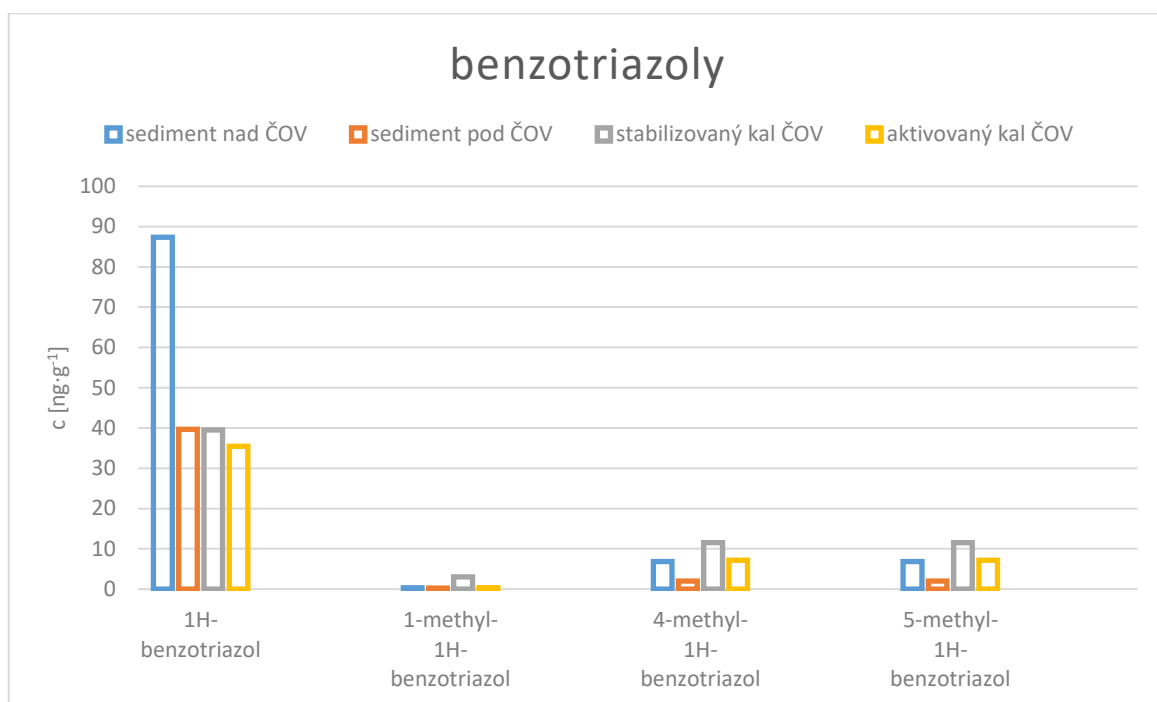
4.1 BENZOTRIAZOLY

Sledovanými sloučeninami této skupiny jsou 1*H*-benzotriazol, 1-methyl-1*H*-benzotriazol, 4-methyl-1*H*-benzotriazol, 5-methyl-1*H*-benzotriazol. Graf č. 1 vypovídá o nejvíce dominující sloučenině této skupiny a to 1*H*-benzotriazolu. V grafu jsou vyobrazeny zprůměrované hodnoty získaných koncentrací, kde nejvyšší zjištěná koncentrace byla ve vstupní vodě 390 ng·l⁻¹, což odpovídalo 1*H*-benzotriazolu. Jeho vysoké hodnoty byly detekovány i ve vyčištěné odpadní vodě, a to v rozmezí od 750 do 1300 ng·l⁻¹. Sledovaná směs 4/5-methyl-1*H*-benzotriazol vykazovala nejvyšší hodnoty v místě odtoku ČOV, a to 207 ng·l⁻¹, tedy téměř 3krát vyšší hodnoty než ve vstupní vodě. Pro sloučeninu 1-methyl-1*H*-benzotriazol byly zjištěny hodnoty pod limit kvantifikace (LOQ).



Graf 1: zjištěné koncentrace benzotriazolů v odpadních a povrchových vodách

Výskyt benzotriazolů byl zaznamenán i ve vzorcích sedimentu odebraného ze Živného potoka a ve vzorcích stabilizovaného a aktivovaného kalu. Rozsah zprůměrovaných koncentrací nalezených v sedimentech a kalech je znázorněn v Grafu č. 2. I v tomto případě byl 1*H*-benzotriazol detekován v nejvyšších koncentracích v této skupině látek 4-methyl-1*H*-benzotriazol 5-methyl-1*H*-benzotriazol se zde nacházeli v desetinách až jednotkách $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$.



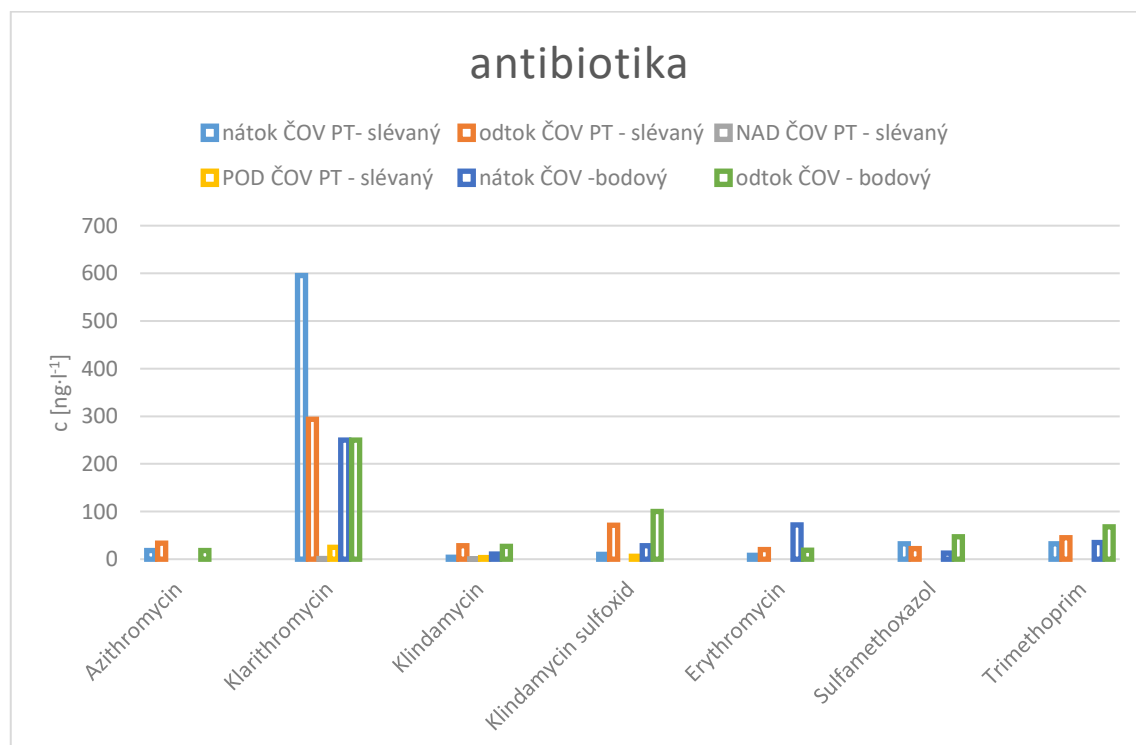
Graf 2: zjištěné koncentrace benzotriazolů obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu

4.2 ANTIBIOTIKA

V Grafu č. 3 jsou znázorněny nalezené koncentrace antibiotik v odpadových a povrchových vodách pro jednotlivé lokality. Na lokalitách nátok ČOV a odtok ČOV jsou uvedeny koncentrace ze dvou typů odebraných vzorků, tj. bodový a slévaný. Antibiotikem s nejvyšším množstvím byl klarithromycin, kdy jeho koncentrace dosahovaly i stovek $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Ve vstupní vodě byly zaznamenány koncentrace od 530 do 660 $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Ve vzorcích ze Živného potoka se tato látka vyskytovala v řádech jednotek až

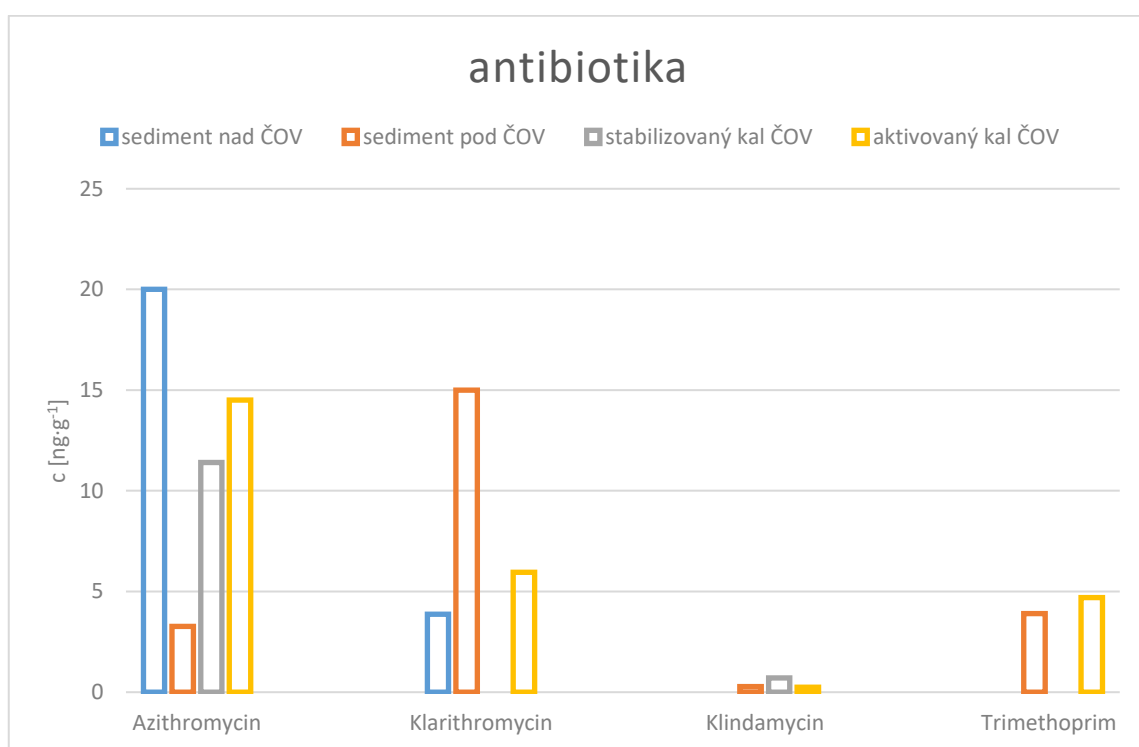
desítek $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Ze skupiny makrolidních antibiotik byla účinnost odstranění stanovena pro klarithromycin. Odstranění zbylých makrolidů (azithromycin a erythromycin) sledovaných v této práci nebylo prokázáno. Azithromycin vykazoval ve vyčištěné odpadní vodě ($34 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$) 1,8krát vyšší koncentraci oproti vodě vstupní. Ve vzorcích ze Živného potoka pod ČOV, které byly odebrány v toku přibližně 800 m pod ČOV byla detekována koncentrace $19 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$. U erythromycinu došlo k navýšení koncentrace na odtoku z ČOV 2,5krát oproti nátoku.

Ostatními sledovanými antibiotiky jsou klindamycin a jeho metabolit klindamycin sulfoxid, sulfomethoxazol a trimethoprim. Stanovená koncentrace klindamycinu sulfoxidu byla ve vstupní vodě a vyčištěné odpadní vodě téměř 2,5krát vyšší oproti klindamycinu samotnému. Hodnoty těchto sloučenin se na ČOV pohybovaly v rozmezí od $3,3$ do $80 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Ve vyčištěné odpadní vodě byla jejich koncentrace výrazně vyšší oproti vodě vstupní. Nulové odstranění se týkalo i trimethoprimu. Sulfamethoxazol jako jediný z analyzovaných antibiotik byl v nižších koncentracích (od 21 do $24 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$) ve vyčištěné odpadní vodě než ve vodě na nátok (od 27 do $37 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$).



Graf 3: zjištěné koncentrace antibiotik v odpadních a povrchových vodách

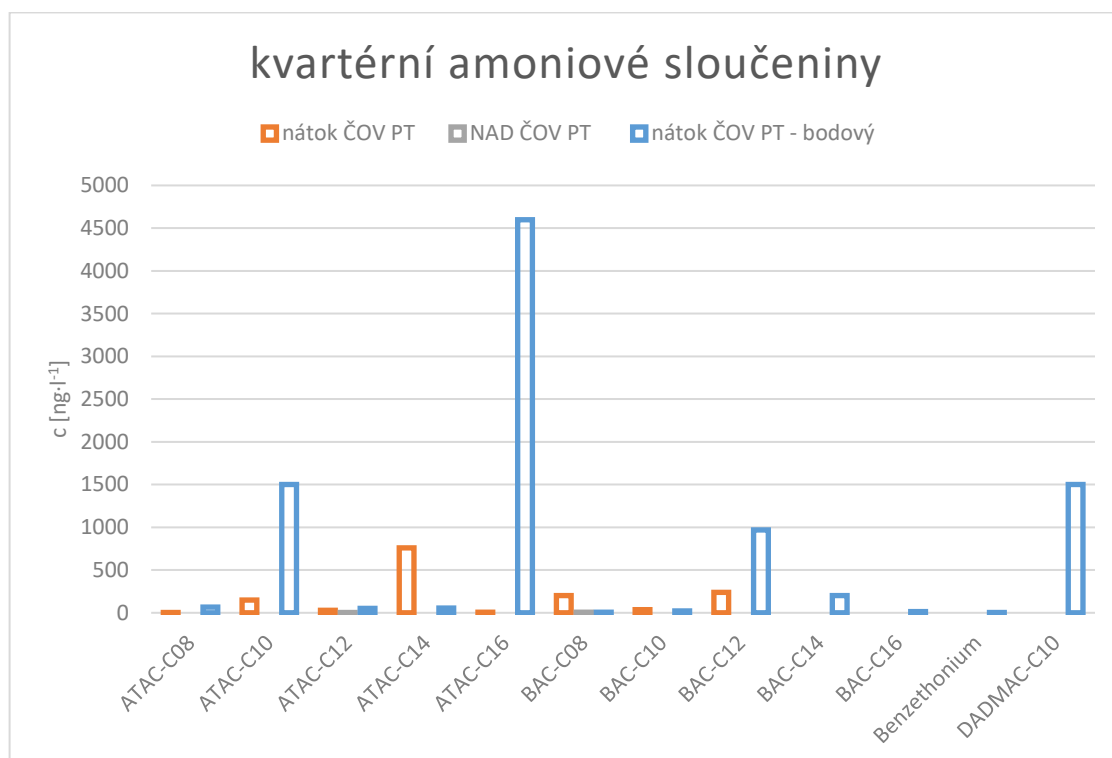
Antibiotika jsou všeobecně známa mírnou sorpcí na pevné částice. Stanovené hodnoty sledovaných antibiotik v kalech a sedimentech jsou výrazně nižší oproti vodné fázi (viz Graf č. 4). To v této situaci prokazují rozdílné hodnoty vzorků stabilizovaného kalu a kalu aktivovaného, který dosahuje u všech látek vyšších koncentrací. Nejvyšší koncentrací bylo zaznamenáno u azithromycinu s maximálními hodnotami $20 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ v sedimentu nad ČOV a u klarithromycinu v sedimentu pod ČOV v maximální koncentraci $16 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Zbývající antibiotika se v čistírenských kalech vyskytovali v desetinách až jednotkách $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$.



Graf 4: zjištěné koncentrace antibiotik obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu

4.3 KVARTÉRNÍ AMONIOVÉ SLOUČENINY

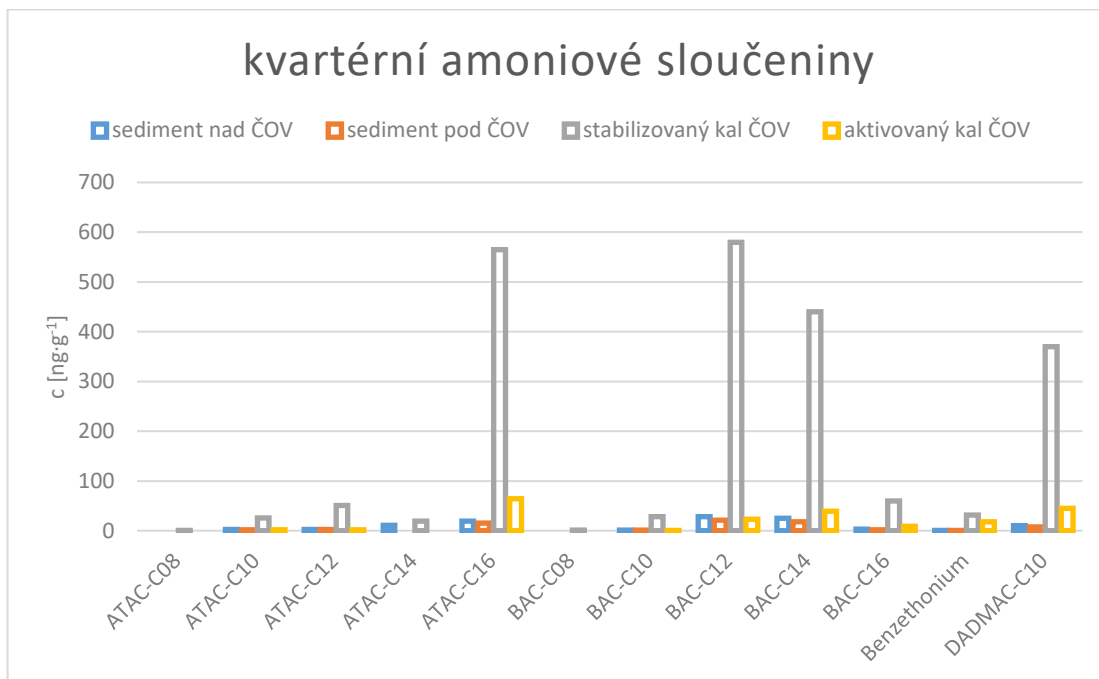
Všechny sledované sloučeniny z této skupiny kromě ATAC-C14 byly nalezeny pozitivní v nátoku s nejvyššími koncentracemi pro ATAC-C16 (viz Graf č. 5). Průměrná koncentrace této látky odpovídala $760 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$.



Graf 5: zjištěné koncentrace kvartérních amoniových sloučenin v odpadních a povrchových vodách

Kvartérní amoniové sloučeniny byly v nejvíce zastoupeny ve stabilizovaném kalu. Nejvyšší koncentrace dosahovaly sloučeniny ATAC-C16 (od 520 do $610 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$), BAC-C12 (v rozmezí od 560 do $600 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$), BAC-C14 (až $450 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) a DADMAC-C10 v rozmezí od 360 do $380 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Na lokalitě pod ČOV, která je již ovlivněna ČOV, byl zaznamenán oproti lokalitě nad ČOV mírný pokles. Zde převládá sloučenina BAC-C14 s hodnotami: nad ČOV v rozmezí od 20 do $32 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, pod ČOV v rozmezí od

15 do 23 ng·g⁻¹. Zjištěné koncentrace těchto látek v lokalitách určených na Živném potoce jsou uvedeny v Příloze 1.



Graf 6: zjištěné koncentrace kvartérních amoniových sloučenin obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu

4.4 ÚČINNOST ODSTRANĚNÍ

Ze stanovených koncentrací sledovaných látek v nátoku a odtoku z ČOV byly vypočteny koeficienty odstranění pro každou látku. Tabulka č. 3 zobrazuje účinnost technologie vybrané ČOV Prachatice odstranění baktericidů. V případě, kdy koncentrace sledovaných látek byly stanoveny pod limit kvantifikace v místech nátoku ČOV i odtoku ČOV, je výsledné RE označeno N/A (viz Tabulka č. 3). U sloučenin, kde stanovená koncentrace v nátoku byla pod LOQ, je přístupováno s pravděpodobností získání vyšší hodnoty RE, v opačném případě, například u azithromycinu, byla koncentrace stanovena pod LOQ v místě odtoku, tudíž je skutečná účinnost odstranění nižší než získaná ze stanovených hodnot.

Pozitivní účinnost odstranění byla potvrzena především u kvartérních amoniových sloučenin, sulfamethoxazolu a klarithromycinu, tedy látek, které vykazují schopnost sorpce na pevné částice.

Tabulka 3: účinnost odstranění baktericidů

TYP	sledovaná sloučenina	RE (%) slévané vzorky	RE (%) bodový vzorek
benzotriazoly	1H-benzotriazol	-188	80
	1- methyl-1H-benzotriazol	N/A	N/A
	4/5-methyl-1H-benzotriazol	-234	-14
KAS	ATAC-C08	> 35	> 97
	ATAC-C10	> 98	> 100
	ATAC-C12	> 92	> 96
	ATAC-C14	N/A	N/A
	ATAC-C16	> 74	> 96
	BAC-C08	N/A	> 94
	BAC-C10	> 71	> 94
	BAC-C12	> 96	> 99
	BAC-C14	> 89	> 98
	BAC-C16	N/A	> 78
	Benzethonium	N/A	> 60
DADMAC-C10	> 93	> 99	
antibiotika	Azithromycin	-79	< 10
	Klarithromycin	51	0
	Erythromycin	-150	74
	Klindamycin	-600	-145
	Klindamycin sulfoxid	-610	-257
	Sulfamethoxazol	31	-262
	Trimethoprim	-41	-94

5 DISKUZE

Účinnost odstranění cizorodých látek v ČOV závisí na několika faktorech, jako jsou fyzikálně-chemické vlastnosti sloučenin, klimatické podmínky, typ použitého procesu čištění, provozní podmínky procesu čištění (provozní teplota, redoxní podmínky, retenční čas pevné látky a hydraulický retenční čas) a také stáří aktivovaného kalu používaného v ČOV (Le-Minh a kol., 2010). Úkolem této práce je objasnit účinnost odstranění vybraných baktericidů stanovené v několika maticích.

Biocidně aktivní látky se mohou uvolňovat do životního prostředí přímými emisemi nebo nepřímými. K přímým emisím může dojít např. při stékání ze stavebních materiálů, jako jsou střechy nebo venkovní nátěry na fasádách. Nepřímé emise do životního prostředí do životního prostředí mohou vznikat prostřednictvím odpadních vod čistírny odpadních vod, kde nejsou všechny látky zcela odstraněny (Wieck a kol., 2016).

Odstranění některých látek může být někde pouze zdánlivé, jako například u kvartérních amoniových sloučenin. Ačkoliv je v literatuře (Holoubek, 1990) uváděné částečné odstraňování biodegradací, významný podíl odstranění zajišťuje jejich schopnost silné sorpce. Pozitivně nabitě povrchově aktivní látky se silně sorbují na záporně nabitých částicích, jako jsou například kaly, půdy a sedimenty (Madsen a kol., 2001, Ying, 2006). Odstraňované látky nejsou tedy odstraněny, ale pouze se kumulují v pevné hmotě a zůstávají tak v životním prostředí. To bylo ukázáno i v této bakalářské práci, kdy průměrná koncentrace pro ATAC-C16 ve vstupní odpadní vodě byla $760 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$, ale v efluentu koncentrace klesla pod LOQ. Hodnota RE pro ATAC-C16 byla stanovena větší než 74 % u slévaného vzorku, to znamená vysoká míra odstranění z odpadní vody. Ale ATAC-C16 byl nalezen pozitivní v aktivovaném i stabilizovaném kalu, a to dokonce v průměrné koncentraci $570 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Podobný trend byl nalezen i pro další KAS jako BAC-C10, BAC-C12, BAC-C14 a je v souladu s výsledky Östman a kol. (2018).

Řada antibiotik měla koncentraci v odtoku větší než v nátoky, a proto RE byla záporná pro azithromycin, erythromycin, klindamycin a trimethoprim. Všechny tyto látky vykazují vyšší sorpci na pevných částicích (Kodešová a kol., 2015). Při přípravě vzorků vody pro LC-MS analýzu se každý vzorek filtruje a pevné částice a koloidy přítomné v nátoky větší než $0,2 \text{ }\mu\text{m}$ jsou odfiltrovány a znepřístupněny analýze. Ve vodě,

kteřá prošla ČOV, jsou tyto shluky rozbity a chemické látky zpřístupněny analýze. Nejvyšší RE pro antibiotika byla stanovena pro klarithromycin (51%). I tak koncentrace klarithromycinu v efluentu byla $290 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$, přičemž PNEC (predicted no-effect concentration) z hlediska rozvoje antibiotické rezistence je stanovena pro tento makrolid na $0,25 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (Bengtsoon-Palme a Larsson, 2016).

Léčiva mohou být odstraněna z vodného roztoku iontovou výměnou na pevné částice, tvorbou komplexu s kovovými ionty a polárními hydrofilními interakcemi. Sulfamethoxazol patří mezi nejčastěji detekované sulfoamidy v komunálních odpadních vodách. Koncentrace tohoto léčiva v nátocích na ČOV a vyčištěných vodách se významně liší v závislosti na odebraných vzorcích a typech používaných procesů čištění odpadních vod. Le-Minh a kol., (2010) ve své práci uvádí účinnosti odstraňování sulfamethoxazolu konvenčními ČOV v rozmezí od -279 % do 100 %. Na vybrané ČOV se koeficienty tohoto léčiva pohybovali v podobném rozmezí. Koeficient RE slévaného vzorku odpovídal 30 % obdobně jako článku Golovko a kol., (2014).

Odolnost benzotriazolových sloučenin vůči biologickému rozkladu a tvorba komplexů společně s kovy nerozpustných (Hart a kol., 2004) ve vodě se prokázala i v této práci. Benzotriazoly jako jediné sledované látky vykazovaly několikanásobně vyšší hodnoty koncentrací, než antibiotika a kvartérní amoniové sloučeniny, ve vyčištěné odpadní vodě. Koeficient RE získaný ze sum těchto látek odpovídal -143 %.

Kaly vznikající při biologických a chemických procesech v ČOV obsahují široké spektrum organických a anorganických látek, ale také mikroorganismy a viry. V této práci je především potvrzena vyšší sorpce amoniových kvartérních sloučenin (znázorňuje Graf č. 6) v čistírenských kalech. Sorpce organického kontaminantu na kalu je silně ovlivněna mnoha faktory, kterými jsou vlastnosti sloučenin, druh kalu a provozní podmínky. V případě ČOV Prachatice je produkován stabilizovaný kal. Stabilizace a úprava kalu zahrnují fyzikální, chemické, mechanické a biologické procesy a změny, které by mohli ovlivnit rozdělování pevných látek, degradaci, adsorpci, a v mešní míře cesty těkání a fotolýzy produktů osobní péče a farmaceutických sloučenin, a tím tedy konečnou koncentraci těchto sloučenin (Verlicchi a Zambello, 2015).

Distribuce čistírenských kalů na zemědělské půdy může vést k akumulaci perzistentních sloučenin v půdě, což představuje hrozbu pro půdní ekosystém, zejména pro půdní živé organismy. Jakmile se distribuovaný kal na zemědělské ploše změní

v půdě, mohou být některé farmaceutické složky zadrženy v půdách, zatímco zbytek může být transportován do povrchové a podzemní vody prostřednictvím povrchového odtoku a infiltrace (Kodešová a kol., 2015).

Negativní vliv efluentu na vodní životní prostředí je v této bakalářské práci prokázán u antibiotik klarithromycinu, klindamycinu a benzotriazolů. U klarithromycinu byla prokázána nejvyšší účinnost odstranění (znázorněno v tabulce č. 4). I přes úspěšné snížení koncentrace tohoto antibiotika v procesu technologie ČOV byla koncentrace ve vodě pod ČOV přibližně 20krát vyšší než nad ČOV. Také klindamycin vykazoval podobný trend, jako u klarithromycinu, což může podporovat transport farmaceutických látek do povrchových a podzemních vod. Pro sedimenty z recipientu nebylo podobné zvýšení obsahu látek pod ČOV signifikantní. Výjimkou byla makrolidové antibiotikum klarithromycin a antibiotikum trimethoprim. U klarithromycinu bylo detekováno výraznější navýšení koncentrace oproti trimethoprimu, obsažené v sedimentech recipientu. Z $3,9 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ nad ČOV se zvýšila koncentrace pod ČOV na $15 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Benzotriazoly, slabě hydrofobní povahy, se snadno šíří vodním prostředím. Stejně tak, jako u klarithromycinu a klindamycinu, byly detekovány vyšší koncentrace pod ČOV oproti místu nad ČOV. To může být způsobeno transformací z jiných komplexních molekul, nebo rozpadu konjugovaných derivátů benzotriazolu, které jsou již obsažené v odpadních vodách. Jelikož se benzotriazoly vyznačují dobrou inhibicí koroze, jsou využívány jako korozivní inhibitory v kapalinách pro odmrazování a ochranu proti námraze letadel, ale jsou i součástí prostředků používaných v automobilovém průmyslu, jako například chladících a brzdových kapalin (Shi a kol., 2019).

Zjištěné vlastnosti a značné uplatnění těchto sloučenin je následně promítáno i do vodního životního prostředí. Téměř dvojnásobně vyšší koncentrace v místě pod ČOV oproti nátoku ČOV, které byly stanoveny v této práci, jsou podepřeny jak negativním vlivem efluentu, ale také povrchovým odtokem, kterým jsou transportovány benzotriazoly ze silnic a letišť přímo do vodního životního prostředí (Molins-Delgado a kol., 2015). Vysoce kontaminované splachové vody tak ovlivňují nejen odpadní vody, ale také přidružený recipient.

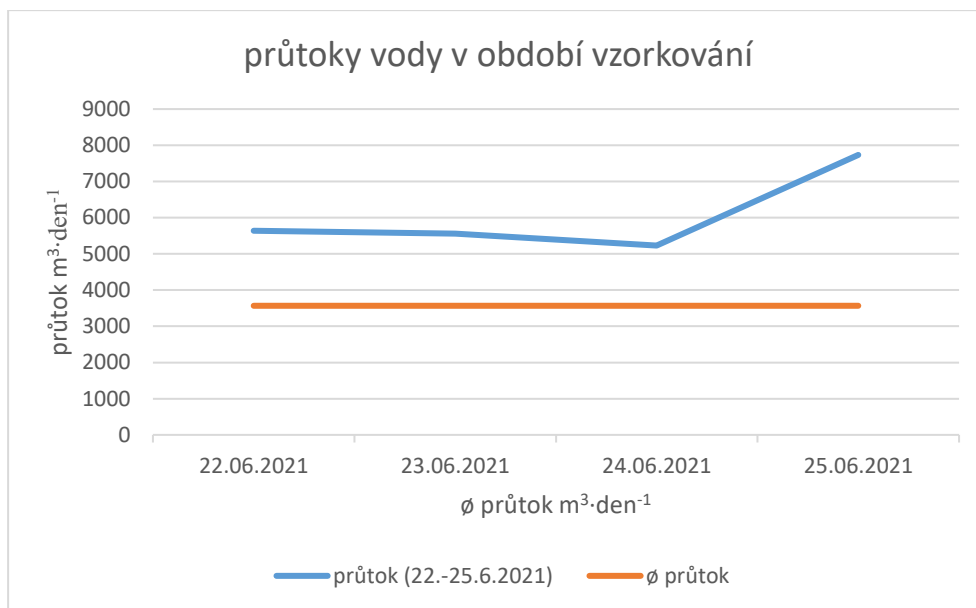
Naopak u kvartérních amoniových sloučenin vedl průchod odpadních vod skrz ČOV k výrazně nižším hodnotám koncentrací. Ve vstupní části technologie čištění odpadních vod dosahovali koncentrace KAS v odpadních vodách až stovky $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ oproti odtoku

z ČOV, kde byly zaznamenány hodnoty pod LOQ. Tato účinnost odstranění byla pozitivně prokázána i v místech recipientu pod ČOV, kde negativní vliv efluentu je naopak vyvrácen především z hlediska obsažených KAS v sedimentech.

Značný podíl na výsledných hodnotách koncentrací má i zvolený způsob odběru vzorků. Bodové vzorky odpadní a povrchové vody, které byly odebrány ve všech lokalitách v různé četnosti, obsahovaly vyšší koncentrace jednotlivých baktericidů. Vyšší koncentrace u těchto vzorků jsou způsobené zachycením aktuální situace v lokalitách, která může být zkreslena například prudkým deštěm, či odebráním vzorku v hodinách vyšší produkce odpadních vod, typických pro dané baktericidy.

U bodových vzorků stanovených pro jednotlivé baktericidy docházelo až na některé výjimky k výrazným výkyvům hodnot zjištěných koncentrací. K ovlivnění, způsobené téměř dvojnásobně větším množstvím protékající vody, došlo především v místě nátoky ČOV. Výrazné výkyvy bodových vzorků odebraných v místě nátoky ČOV vykazovaly zachycení i téměř 21krát vyšší koncentrace (viz Příloha 2 – 1 *H* benzotriazol). V průběhu procesu technologie ČOV a v lokalitách recipientu byly detekované koncentrace spíše konzistentní.

Na Grafu 8 jsou zobrazeny změřené průtoky vody v místě nátoky ČOV v období vzorkování v porovnání s průměrným denním průtokem (3 567 m³/den). Jak lze vidět, v období od 22.6.2021 do 25.6.2021 došlo k značným výkyvům průtoků, kdy 25.6.2021 byly zaznamenány až 2x vyšší hodnoty.



Graf 7: naměřené průtoky vody v místě nátku ČOV v období vzorkování v porovnání s průměrnými průtoky (zdroj: ČEVAK a.s.)

6 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo stanovení koncentrací vybraných baktericidů a zjištění účinnosti odstranění těchto látek na vybrané ČOV. V literární části byly nejdříve popsány a rozděleny baktericidní látky. Spolupráce probíhala s ČOV Prachatice provozované společností ČEVAK, která poskytla podklady technologie čištění odpadních vod a hodnoty naměřených průtoků vody v období vzorkování. Nejen na ČOV Prachatice, ale i na Živném potoce byly odebrány následně analyzované vzorky. Pomocí stanovených hodnot koncentrací sledovaných baktericidů byl zmapován jejich osud na čistírně odpadních vod a přilehlém recipientu.

Obtížné odstranění bylo prokázáno u skupiny benzotriazolů a některých antibiotik, u kterých je jejich problematika odstranění rozšířena i o značné ovlivnění recipientu pod ČOV. U benzotriazolů byla detekována vyšší koncentrace pod ČOV oproti lokalitě nad ČOV.

Odstranění antibiotik bylo úspěšné především u klarithromycinu, který stejně jako klindamycin vykazoval stejný trend výše zmíněných benzotriazolů. U klarithromycinu bylo RE nejvyšší (51 %) ze všech antibiotik. I přes značné pozitivní odstranění byla koncentrace v efluentu $290 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$, čímž negativně ovlivňuje přilehlý recipient z hlediska rozvoje antibiotické rezistence, kdy PNEC je pro klarithromycin stanoven na $0,25 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Na negativní ovlivnění recipientu se podílí i zbylá antibiotika, která byla pomocí zvolené technologie čištění odpadních vod pouze částečně odbourána.

Pozitivní odstranění bylo zcela zaznamenáno u kvartérních amoniových sloučenin, u kterých RE dosahovalo i 99 %. V průběhu technologie ČOV byly koncentrace těchto látek významně sníženy v místě odtoku z ČOV oproti nátoku ČOV. Ačkoliv RE dosahovalo značných hodnot, jejich výskyt v dané ČOV nebyl kompletně odstraněn. Tyto látky se nakumulovaly v sedimentech a v čistírenských kalech. Uplatnění čistírenských kalů, v tomto případě stabilizovaného kalu, na zemědělských půdách může pomocí infiltrace či transportu ovlivnit koncentrace znečišťujících látek jak v povrchových, tak i v podzemích vodách.

Na základě získaných výsledků a použitých studií, je důležité brát v úvahu hrozbu vzniku antibakteriální rezistence v důsledku bohatého výskytu baktericidů a jejich náročného odstraňování. Ačkoliv je regulace uvádění biocidních látek na trh legislativně řešena Nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012, a jsou do seznamu sledovaných látek zahrnuty látky, u kterých podle dostupných informací mohou představovat na úrovni Unie významné riziko pro vodní prostředí nebo jeho prostřednictvím, není tím kompletně pokryto předcházení postupného zvyšování rizika výskytu těchto látek na životní prostředí. Vzhledem k závažnosti důsledků plynoucích z jejich nadměrného používání a komplikovaného odstranění z ČOV, si toto téma zasluhuje širší pozornost.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- Bengtsson-Palme, J., Larsson, D. G. J., 2016. Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation. *Environment International* 86, 140-149.
- Bielen, A., Šimatović, Kosić-Vukšić, J., Senta, I., Ahel, M., Babić, S., Jurina, T., Plaza, J. J. G., Milaković, M., Kolić-Udiković, N., 2017. Negative environmental impacts of antibiotic – contaminated effluents from pharmaceutical industries. *Water Research* 126, 79-87.
- Bindzar, J. a kol., 2009. *Základy úpravy a čištění vod*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, ISBN 978-80-7080-729-3, s. 251-251.
- Briguglio, I., Piras, S., Corona, P., Gavini, E., Nieddu, M., Boatto, G., Carta, A., 2015. Benzotriazole: An overview on its versatile biological behavior. *European Journal of Medicinal Chemistry* 97, 612-648.
- Cibeček, N., Vacek, J., a kol., 2014. *Principy a využití vybraných analytických metod v laboratorní medicíně*, ISBN 978-80-244-3951-8, s. 159-159.
- Clara, M., Scharf, S., Scheffknecht, C., Gans, O., 2007. Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage. *Water Research* 41, 4339-4348.
- ECHA, 2023. Information on biocides [online]. European chemicals agency. [cit. 14.04.2023].
Dostupné na WWW:
<https://echa.europa.eu/cs/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>
- ECHA, 2023. Understanding the biocidal products regulation (BPR) [online]. European chemicals agency. [cit. 14.04.2023]. Dostupné na WWW:
<https://echa.europa.eu/cs/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr>
- EMA, 2023. Antimicrobial resistance. [online]. European medicines agency. [cit. 14.04.2023].
Dostupné na WWW:
<https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/antimicrobial-resistance>

- Felis, E., Kalka, J., Sochacki, A., Kowalska, K., Bajkacz, S., Harnisz, M., Korzeniewska, E., 2020. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment – occurrence and environmental implications. *European Journal of Pharmacology* 886, 172813.
- Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., Grabic, R., 2014. Seasonal changes in antibiotics, antidepressants / psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere* 111, 418-426.
- Golovko, O., Koba, O., Kodešová, R., Federová, G., Kumar, V., Grabic, R., 2016. Development of fast and robust multiresidual LC-MS/MS method for determination of pharmaceuticals in soils. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 14068-14077.
- Grabicová, K., Vojs Staňová, A., Koba Učun, O., Bořík, A., Randák, T., Grabic, R., 2018. Development of a robust extraction procedure for the HPLC-ESI-HRPS determination of multi-residual pharmaceuticals in biota samples. *Analytica Chimica Acta* 1022: 53–60.
- Hart, D. S., Davis, L. C., Erickson, L. E., Callender, T. M., 2004. Sorption and partitioning parameters of benzotriazole compounds. *Microchemical Journal* 77, 9-17.
- Holoubek, I., 1990. *Chemie a společnost: chemie životního prostředí*. Státní pedagogické nakladatelství Praha, ISBN 978-80-2100-105-3, s. 154-154.
- Horáková, M., a kolektiv, 2003. *Analytika vody*. Vydavatelství VŠCH, ISBN 978-80-7080-520-6, s. 335-335.
- Janas, A., Przybylski, P., 2019. 14 – and 15- membered lactone macrolides and their analogues and hybrids: structure, molecular mechanism of action and biological activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 182, 111662.
- Kalač, P., Tříška, J., Kolář, L., Jírovcová, E., 2010. *Chemie životního prostředí. JU v Českých Budějovicích*, Zemědělská fakulta, ISBN 978-80-7394-232-8, s. 171-171.
- Kanalizační řád pro město Prachatice [online]. Vypracoval ČEVAK a.s., České Budějovice – oddělení technické podpory, listopad 2016 [cit. 25.10.2021]. Dostupné na WWW: <https://www.cevak.cz/qf/cs/ramjet/moje-obec/detail?localPartId=404853>
- Kodešová, R., Grabic, R., Kočárek, M., Klement, A., Golovko, O., Fér, M., Nikodem, A., Jakšík, O., 2015. Pharmaceuticals' sorptions relative to properties of thirteen different soils. *Science of The Total Environment* 511, 435-443.
- Le-Minh, N., Khan, S. J., Drewes, J. E., Stuetz, R. M., 2010. Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Research* 44, 4295-4323.

- Lindberg, R.H., Östman, M., Olofsson, U., Grabic, R., Fick, J., 2014. Occurrence and behaviour of 105 active pharmaceutical ingredients in sewage waters of a municipal sewer collection system. *Water Research* 58, 221-229.
- Madsen, T., Boyd, H. B., Nylén, D., Rathmann-Pedersen, A., Petersen, G. I., Simonsen, F., 2001. Environment and health assessment of substances in household detergents and cosmetic detergent products. Environment Project No. 615, Final Report, Danish Environmental Protection Agency.
- Maillard, J., Y., 2018 Resistance of Bacteria to Biocides. *Microbiology Spectrum* 6, 2017.
- McDonnell, G., Russell, A. D., 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 147-179.
- Molins-Delgado, D., Díaz-Cruz, M. S., Barceló D., 2015. Removal of polar UV stabilizers in biological wastewater treatment and ecotoxicological implications. *Chemosphere* 119, S51-S57.
- Nářízení vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech
- Nářízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012 Sb., o dodávání biocidních přípravků na trh a jejich používání
- Opekar, F., Jelínek, I., Rychlovský, P., Plzák, Z., 2005. *Základní analytická chemie*. Karolinum Praha, ISBN 978-80-246-0553-1, s. 201-201.
- Östman, M., 2018. Antimicrobials in sewage treatment plants. Occurrence, fate and resistance. VMC-KBC, Umeå University in Umeå, Sweden, 77 s. ISBN 978-91-7601-938-2
- Östman, M., Fick, J., Tyskling, M., 2018. Detailed mass flows and removal efficiencies for biocides and antibiotics in Swedish sewage treatment plants. *Science of The Total Environment* 640-641, 327-336.
- Östman, M., Lindberg, R. H., Fick, J., Björn, E., Tyskling, M., 2017. Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water Research* 115, 318-328.
- Ozumchelouei, E. J., Hamidian, A. H., Zhang, Y., Yang, M., 2020. Physicochemical properties of antibiotics: A review with an emphasis on detection in the aquatic environment. *Water Environment Research* 92, 177-188.

Prováděcí rozhodnutí komise (EU) 2015/495 ze dne 20. března 2015, kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES

Prováděcí rozhodnutí komise (EU) 2018/840 ze dne 5. června 2018, kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES

Prováděcí rozhodnutí komise (EU) 2020/1161 ze dne 4. srpna 2020, kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES

PubChem, 2005. Clindamycin – compound summary [online]. National Centre for Biotechnology Information [cit. 24.3.2022]. Dostupné na WWW:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/446598>

PubChem, 2020. Clindamycin sulfoxide – compound summary [online]. National Centre for Biotechnology Information [cit. 24.3.2022]. Dostupné na WWW:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/406589451>

PubChem, 2005. Sulfamethoxazole – compound summary [online]. National Centre for Biotechnology Information [cit. 24.3.2022]. Dostupné na WWW:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5329>

PubChem, 2005. Trimethoprim - compound summary [online]. National Centre for Biotechnology Information [cit. 24.3.2022]. Dostupné na WWW:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5578>

Shi, Z. Q., Liu, Y. S., Xiong, Q., Cai, W. W., Ying, G. G., 2019. Occurrence, toxicity and transformation of six typical benzotriazoles in the environment: A review. Science of the Total Environment 661, 407-421.

Směrnice Rady 91/271/EHS o čištění městských odpadních vod

Směrnice Rady 86/278/EHS o ochraně životního prostředí a zejména půdy při používání kalů z čistíren odpadních vod v zemědělství

Szekeres. E., Baricz, A., Chiriac, M. C., Farkas, A., Opris, O., Soran, M. L., Andrei, A. S., Rudi, K., Balcazar, J. L., Dragos, N., Coman, C., 2017. Abundance of antibiotics, antibiotic

resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from different Romanian hospitals. *Environmental Pollution* 225, 304-315.

Štulík, K., Bosáková, Z., Coufal, P., Jelínek, I., Pacáková, V., Ševčík, J., 2005. Analytické separační metody. Karolinum Praha, ISBN 80-246-0852-9, s. 264-264.

Švecová, H., Grabic, R., Fedorova, G., Grabicová, K., Nováková, P., Randák, T., 2019. Efektivita odstranění mikropolutantů v procesu úpravy pitné vody. 13. bienální konference VODA 2019.

Töelgyessy, J., Betina, V., Lesný, J., 1989. *Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzdušia*. Bratislava VEDA, ISBN 802-24-0034-3 s. 531-531.

Verlicchi, P., Zambello, E., 2015. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil – A critical review. *Science of the Total Environment*, 538, 750-767.

Vyhláška č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady

Wieck, S., Olsson, O., Kümmerer, K., 2016. Possible underestimations of risks for the environment due to unregulated emissions of biocides from households to wastewater.

Ying, G. G., 2006. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environment International*, 32, 417-431.

Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon)

Zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích)

Zákon č. 541/2020 Sb., o odpadech a o změně některých zákonů

8 SEZNAM ZKRATEK

ACN – acetonitril

BSK₅ – biochemická spotřeba kyslíku

BT – benzotriazoly

ČOV – čistírna odpadních vod

DDW – ultračistá voda

DN – denitrifikace-nitrifikace

EO – ekvivalentní obyvatel

FA – kyselina mravenčí

GC – plynová chromatografie (gas chromatography)

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPLC-HESI- HRPS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s elektrosprejovým skenováním produkty s vysokým rozlišením

CHSK₅ – chemická spotřeba kyslíku

IS – vnitřní standard (internal standard)

KAS – kvartérní amoniové sloučeniny

LC – kapalinová chromatografie (liquid chromatography)

MeOH – methanol

MS – hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)

OV – odpadní vody

PNEC – předpokládaná koncentrace bez účinku (predicted no-effect concentration)

RE – účinnost odstranění (removal efficiency)

9 SEZNAM TABULEK, OBRÁZKŮ A PŘÍLOH

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: lapák písku (autor textu, 2022).....	22
Obrázek 2: usazovací nádrže (autor textu, 2022)	22
Obrázek 3: kruhová dosazovací nádrž (autor textu, 2022)	23
Obrázek 4: aktivační nádrž (autor textu, 2022)	24
Obrázek 5: odběrná místa (zdroj: mapy.cz - https://mapy.cz/zakladni?x=14.0148671&y=49.0241581&z=16)	25
Obrázek 6: lokalita „NAD ČOV“ (autor textu, 2021)	26
Obrázek 7: lokalita „NÁTOK ČOV“ (autor textu 2021)	27
Obrázek 8: lokalita „ODTOK ČOV“ (autor textu, 2021)	27
Obrázek 9: lokalita „POD ČOV“ (autor textu, 2022).....	28

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: seznam sledovaných látek a použitých vnitřních standardů.....	29
Tabulka 2: hodnoty m/z pro prekurzor pro hmotnostní spektrometrii a retenční časy pro chromatografii.....	32
Tabulka 3: účinnost odstranění baktericidů.....	40

SEZNAM ROVNIC

Rovnice 1: výpočet odezvového faktoru	33
Rovnice 2: výpočet koncentrace	33
Rovnice 3: výpočet koeficientu odstranění.....	33

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: zjištěné koncentrace benzotriazolů v odpadních a povrchových vodách.....	34
Graf 2: zjištěné koncentrace benzotriazolů obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu.....	35
Graf 3: zjištěné koncentrace antibiotik v odpadních a povrchových vodách	36
Graf 4: zjištěné koncentrace antibiotik obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu	37
Graf 5: zjištěné koncentrace kvartérních amoniových sloučenin v odpadních a povrchových vodách	38
Graf 6: zjištěné koncentrace kvartérních amoniových sloučenin obsažené ve vzorcích kalů a sedimentu	39
Graf 7: naměřené průtoky vody v místě nátoku ČOV v období vzorkování v porovnání s průměrnými průtoky	45

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: přehled koncentrací analyzovaných baktericidů – sediment, stabilizovaný kal a aktivovaný kal.....	54
Příloha 2: přehled koncentrací analyzovaných baktericidů – odpadní a povrchová voda.....	55

10 PŘÍLOHY

Příloha 1: přehled koncentrací analyzovaných baktericidů – sediment, stabilizovaný kal a aktivovaný kal

výsledky [ng·g ⁻¹] sloučenina	sediment nad ČOV PT			sediment pod ČOV PT			stabilizovaný kal ČOV PT			aktivovaný kal ČOV PT		
	c ø	min	max	c ø	min	max	c ø	min	max	c ø	min	max
1H-benzotriazol	87	74	100	40	34	44	40	36	43	36	35	36
1-methyl-1H-benzotriazol	<0,30	<0,26	<0,33	<0,24	<0,22	<0,25	3,1	2,4	3,7	<0,30	<0,28	<0,31
4/5-methyl-1H-benzotriazol	6,8	5,7	8,9	2	2	2,1	12	11	12	7,2	6,6	7,7
ATAC-C08	<0,12	<0,11	<0,13	<0,12	<0,11	<0,14	0,33	0,32	0,33	<0,18	<0,16	<0,2
ATAC-C10	2,4	1,5	3,5	2,0	1,5	2,7	26	17	34	2,2	1,5	2,8
ATAC-C12	2,6	1,7	4,1	2,3	1,8	3,1	51	34	67	2,0	1,6	2,3
ATAC-C14			11	<8,4	<5,8	<11	19	14	24	<7,7	<5,4	<10
ATAC-C16	19	13	27	16	15	17	570	520	610	64	58	70
Azithromycin			20	3,3	2,3	4,4	11	8,8	14	15	13	16
BAC-C08	<0,3	<0,21	<0,39	<0,29	<0,2	<0,38	1,1	0,72	1,5	<0,28	<0,19	<0,36
BAC-C10	1,2	0,73	2,1	0,95	0,62	1,5	28	20	36	0,69	0,52	0,86
BAC-C12	28	22	37	21	24	26	580	560	600	23	21	25
BAC-C14	25	20	32	18	15	23	440	430	450	40	36	43
BAC-C16	3,2	2,4	4,5	1,7	1,5	2,2	60	55	64	8,8	8,1	9,4
Benzethonium	0,71	0,47	0,94	0,66	0,49	0,96	32	28	35	18	13	23
Klarithromycin	3,9	3,4	4,7	15	14	16	<1,5	<1,3	<1,7	6,0	5,2	6,7
Klindamycin	<0,23	<0,2	<0,25	0,27	0,23	0,31	0,7	0,68	0,71	0,24	0,23	0,25
Klindamycin sulfoxid	<1,7	<1,5	<1,8	<1,6	<1,4	<1,7	<1,4	<1,2	<1,5	<1,4	<1,2	<1,5
DADMAC-C10	10	8,2	14	7,9	5,7	11	370	360	380	45	42	48
Erythromycin	<0,71	<0,62	<0,77	<0,68	<0,59	<0,73	<0,58	<0,51	<0,64	<0,58	<0,52	<0,64
Sulfamethoxazol	<1,7	<1,4	<1,8	<1,5	<1,4	<1,6	<1,9	<1,7	<2	<2,3	<2	<2,6
Trimethoprim	<2,7	<2,3	<2,9	3,9	3,9	3,9	<3,1	<2,7	<3,4	4,7	4,3	5,1

Příloha 2: přehled koncentrací analyzovaných baktericidů – odpadní a povrchová voda

výsledky [ng·l ⁻¹] sloučenina	nátok ČOV PT				odtok ČOV PT				NAD ČOV PT			POD ČOV PT		
	slévaný vzorek			bodový c	slévaný vzorek			bodový c	bodový vzorek			bodový vzorek		
	c ø	c min	c max		c ø	c min	c max		c ø	c min	c max	c ø	c min	c max
1H-benzotriazol	330	260	390	5400	950	750	1300	1100	94	25	150	200	85	280
1H-benzotriazol_1-methyl	<17	<13	<20	<18	<18	<13	<25	<20	<22	<8,8	<35	<22	<16	<30
1H-benzotriazol_4/5-methyl	62	57	67	210	207	170	220	240	4,6	2,5	6,2	29	14	39
ATAC-C08	3,7	3,3	4,1	66	<2,4	<2,1	<2,8	<1,9	<1,6	<0,91	<2,4	<2,4	<1,7	<3,4
ATAC-C10	150	130	170	1500	<3,2	<2,8	<3,8	<2,6	<2,2	<1,2	<3,3	<3,3	<2,3	<4,6
ATAC-C12	31	30	31	50	<2,4	<2,1	<2,9	<1,9	<1,8	<1,4	2,5	<2,5	<1,8	<3,4
ATAC-C14	<24	<20	<27	54	<21	<16	<23	<16	<16	<8,7	<25	<16	<16	<16
ATAC-C16	760	660	860	4600	<200	<200	<200	<200	<200	<200	<200	<200	<200	<200
Azithromycin	19	16	21	<20	34	25	42	18	<12	<6,8	<17	<19	<12	<28
BAC-C08	<0,40	0,34	0,46	5,6	<0,44	<0,39	<0,53	<0,36	<0,31	<0,17	<0,46	<0,46	<0,33	<0,64
BAC-C10	5,5	5,5	5,5	22	<1,6	<1,4	<2	<1,3	<1,3	<0,68	<2	<1,9	<1,3	<3,1
BAC-C12	200	130	270	970	<7,5	<6,4	<9,4	<6	7,7	6,3	9,1	<8,7	<5,8	<14
BAC-C14	37	26	47	200	<4,1	<3,5	<5,1	<3,3	<3,3	<1,7	<5,1	<4,8	<3,2	<7,7
BAC-C16	<4,4	<2,90	<4,4	13	<3,7	<3,1	<4,6	<2,9	<3,0	<1,5	<4,6	<4,3	<2,8	<6,9
Benzethonium	<0,96	<0,82	<1,1	2,1	<1,1	<0,97	<1,4	<0,84	<0,89	<0,46	<1,3	<1,4	<0,88	<2,2
Klarithromycin	600	530	660	250	290	230	390	250	1,2	0,45	2,1	25	11	43
Klindamycin	4	3,3	4,7	11	28	24	36	27	0,19	<0,19	<0,34	3,2	2,7	3,9
Klindamycin sulfoxid	10	8,5	11	28	71	55	80	100	<4,3	<2,1	<5,8	<4,8	<4,4	<5,3
DADMAC-C10	240	200	280	1500	<16	<14	<19	<13	<11	<6	<16	<16	<12	<22
Erythromycin	8	6,2	9,7	72	20	17	25	19	<1,7	<0,91	<2,5	<2,8	<1,7	<4,3
Sulfamethoxazol	32	27	37	13	22	21	24	47	<3,7	<1,7	<5,5	<4,1	<3,3	<4,7
Trimethoprim	32	29	35	35	45	35	59	68	<23	<9,4	<37	<23	<17	<32

11 ABSTRAKT

Baktericidy v životním prostředí: Výskyt vybraných baktericidů v odpadních vodách a jejich vliv na vodní životní prostředí

Baktericidy jsou skupinou chemicky aktivních látek, které vykazují antimikrobiální účinky. Jejich schopnost zabíjet či inhibovat růst nežádoucích mikroorganismů je hojně využíváno v průmyslových odvětvích, zdravotnictví, ale i v domácnostech. Široké používání baktericidů má však za následek bohatý výskyt těchto látek v povrchových a odpadových vodách, čímž je poté podpořen rozvoj antibiotické rezistence. Konkrétně čistírny odpadních vod (ČOV) mají významný vliv na vstup genů antibiotické rezistence do životního prostředí.

Cílem této práce bylo pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií stanovit výskyt baktericidů ve vzorcích odpadních a povrchových vod, sedimentů a čistírenských kalů. Zjištěné koncentrace byly použity k hodnocení účinnosti odstraňování a vlivu na recipient.

Pozitivní účinnost odstranění byla potvrzena především u skupiny kvartérních amoniových sloučenin, a některých antibiotik. Nejvyšší účinnost odstranění dosáhl klarithromycin. I když některé sledované látky měly vysokou účinnost odstranění na ČOV, přesto jejich konečný výskyt prokázal ovlivnění vodního životního prostředí. Kvartérní amoniové sloučeniny byly účinně odstraněny z odpadní vody. Ale především díky jejich vlastnostem jako je silná sorpce na pevné látky, tedy i sedimenty a kaly, se koncentrovaly v čistírenském kalu. Toto může vést k problémům při využívání čistírenských kalů na zemědělské plochy. Některé sledované látky mohou být zadrženy v půdách, ale zbytek může být transportován do povrchových a podzemních vod.

V této práci byl stručně zmapován osud vybraných baktericidů na čistírně odpadních vod a v přilehlém recipientu a bylo poukázáno na možná rizika používání baktericidů a jejich vstupu do životního prostředí. Vzhledem k různorodosti a množství baktericidů a závažnosti důsledků plynoucích z jejich nadměrného používání, si toto téma zasluhuje širší pozornost.

Klíčová slova: baktericidy, antibiotika, kvartérní amoniové sloučeniny, benzotriazoly, účinnost odstranění, antimikrobiální účinky

12 ABSTRACT

Bactericides in the environment: Occurrence of selected bactericides in wastewater and their impact on the aquatic environment

Bactericides are a group of chemically active substances that exhibit antimicrobial effects. Their ability to kill or inhibit the growth of unwanted microorganisms is widely used in industry and healthcare, but also in household. However, the widespread use of bactericides has resulted in the abundant occurrence of these substances in surface water and wastewater, which subsequently supports the development of antibiotic resistance. Specifically wastewater treatment plants (WWTP) significantly influence the entry of antibiotic resistance genes into the environment.

This study aimed to determine the occurrence of bactericides in wastewater and surface water samples, sediments and sewage sludge using high-performance liquid chromatography hyphenated with mass spectrometry. The detected concentrations were used to evaluate removal efficiency and impact on the recipient.

The positive removal efficiency was confirmed mainly for the group of quaternary ammonium compounds and some antibiotics. Clarithromycin achieved the highest removal efficiency. Although some monitored substances had a high removal efficiency at the WWTP, their final occurrence proved to affect the aquatic environment. Quaternary ammonium compounds were effectively removed from the wastewater. But mainly thanks to their properties, such as strong sorption to solid substances, i.e., sediments and sludge, they were concentrated in sewage sludge. Using sewage sludge on agricultural land can cause problems by retaining some monitored substances in soils or leaching them into the surface and groundwater.

This work briefly described the fate of selected bactericides at the sewage treatment plant and the adjacent recipient. The possible risks of using bactericides and their entry into the environment were pointed out. Given the variety and quantity of bactericides and the severe consequences of their excessive use, this topic deserves wider attention.

Keywords: bactericides, antibiotics, quaternary ammonium compounds, benzotriazoles, removal efficiency, antimicrobial effect, wastewater treatment plant