

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Bakalářská práce

**Distribuce vybraných léčiv mezi články
potravního řetězce ve vodním prostředí**

Autor: Veronika Lexová DiS.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Kateřina Grabicová, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: MSc. Maria Eugenia Sancho Santos

Studijní program a obor: Ekologie a ochrana prostředí, Ochrana vod

Forma studia: Prezenční

Ročník: Třetí

České Budějovice, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne:

.....

Veronika Lexová

Poděkování

Touto formou bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Ing. Kateřině Grabicové, Ph.D. a konzultantce MSc. Marii Eugénii Sancho Santos za poskytnutí odborné pomoci při zpracování vzorků, při psaní odborné části práce a také za jejich ochotu, cenné rady a aktivní přístup. Dále bych ráda poděkovala odběrovému týmu z Českého hydrometeorologického ústavu za spolupráci, odběr vzorků a možnost publikovat výsledky. Také bych chtěla poděkovat všem, kdo se jakkoliv podíleli na tom, aby mohla vzniknout tato práce.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Fakulta rybářství a ochrany vod

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Veronika LEXOVÁ
Osobní číslo: V17B035P
Studijní program: B1601 Ekologie a ochrana prostředí
Studijní obor: Ochrana vod
Téma práce: Distribuce vybraných léčiv mezi články potravního řetězce ve vodním prostředí
Zadávací katedra: Ústav akvakultury a ochrany vod

Zásady pro vypracování

Farmaka jsou chemicky různorodá skupina látek používaná či vyráběná po celém světě ve velkém množství. Tyto látky jsou po použití a jejich metabolické přeměně vyloučeny a společně s odpadní vodou vstupují do čistíren odpadních vod. Ne všechny látky jsou v několika stupňovém čistícím procesu odstraněny a zbytky farmaceuticky aktivních látek se prostřednictvím výtoků z čistíren odpadních vod dostávají do životního prostředí, kde se mohou bioakumulovat ve vodních organismech.

Cílem práce je posoudit výskyt (bioakumulaci) vybraných léčiv a jejich metabolitů ve vodních organismech na jednotlivých trofických úrovních (bentické organismy, měkkýši, juvenilní a dospělé ryby) žijících v recipientech odpadních vod.

Metodický postup: Vodní organismy (ryby – juvenilní stadia ryb, dospělci jelce tluuště (*Squalius cephalus*); slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*) a bentické organismy) budou odloveny z několika lokalit ovlivněných odtokem vyčištěné odpadní vody a vzorkovány. V extraktech z jednotlivých tkání ryb a homogenátech vodních organismů budou pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií v laboratoři LECHB FROV JU stanoveny koncentrace vybraných léčiv a jejich metabolitů. Získané informace pomohou při hodnocení rizik vlivu environmentálních polutantů na vodní organismy.

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

Seznam doporučené literatury:

- Fick J, Lindberg RH, Tysklind M, Larsson DG., 2010. Predicted critical environmental concentrations for 500 pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 58: 516-23.
- Grabicova, K., Grabic, R., Blaha, M., Kumar, V., Cerveny, D., Fedorova, G., Randak, T., 2015. Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant. *Water Research* 72(0), 145-153.
- Grabicova, K., Grabic, R., Fedorova, G., Fick, J., Cerveny, D., Kolarova, J., Turek, J., Zlabek, V., Randak, T., 2017. Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream. *Water Research* 124: 654-662.
- Grabicova, K., Vojs Staňová, A., Koba Ucin, O., Borik, A., Randak, 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.
- Kalač, P., Tříška, J., Kolář, L., Jírovcová, E., 2010. *Chemie životního prostředí. JU v Českých Budějovicích*, ZF, s. 171, ISBN 978-80-7394-232-8
- McMaster, M.C., 2007. *HPLC a practical user's guide – 2nd ed.*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, s. 238, ISBN 978-0-471-75401-5
- Nováková, L., Douša, M. a kol., 2013. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I + II*. Europrint, s. 299, ISBN 978-80-260-4243-3 + s. 235, ISBN 978-80-260-4244-0

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Bc. Kateřina Grabicová, Ph.D.**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Konzultant bakalářské práce: **MSc. Maria Eugenia Sancho Santos**
Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický

Datum zadání bakalářské práce: **11. ledna 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. května 2020**

V Českých Budějovicích dne 25. února 2019

 
prof. Ing. Pavel Kozák, Ph.D. doc. Ing. Jan Mráz, Ph.D.
děkan ředitel

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
Zátiší 728/II
389 25 Vodňany (2)

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Literární rešerše.....	9
2.1	Léčiva ve vodním prostředí	9
2.2	Vliv léčiv na necílové organismy	11
2.2.1	Bioakumulace	12
2.2.2	Změna chování	13
2.2.3	Změna funkčnosti	15
2.2.4	Histologické změny	15
2.3	Léčiva vybraná pro experimentální část	16
2.3.1	Antibiotika.....	16
2.3.2	Psychoaktivní léčiva.....	18
2.3.3	Antihistaminika	20
2.3.4	Analgetika.....	21
2.3.5	Kardiovaskulární látky	22
3	Materiál a metodika.....	24
3.1	Použité chemikálie, vybavení a přístroje	24
3.2	Testované organismy a vybrané lokality	26
3.3	Příprava vzorků.....	27
3.4	Extrakce vzorků	28
3.5	Zpracování dat	30
4	Výsledky a diskuze	31
4.1	Porovnání duplikátů a vzorků obohacených nativním standardem	31
4.2	Porovnání celkové koncentrace léčiv mezi lokalitami	33
4.3	Výskyt léčiv v jednotlivých organismech.....	37

5	Závěr	43
	Přehled použité literatury	44
	Přehled použitých webových stránek	48
	Seznam zkratek	49
	Přílohy.....	50
	Abstrakt.....	55
	Abstract.....	56

1 Úvod

Ve vodním prostředí v povrchových vodách se nachází mnoho látek, které mohou ovlivňovat vodní organismy. V této době jsou velice diskutována léčiva a jejich vliv na necílové organismy, jelikož se dostávají do recipientů spolu s vyčištěnou odpadní vodou z čistíren odpadních vod (aus der Beek a kol., 2016; Boxall a kol., 2012; Khetan a Collins, 2007). Tyto články sumarizují výskyt léčiv ve vodním prostředí, jak ve vodě, tak ve vodních organismech a další vlivy, které mohou mít na organismy žijící ve vodním prostředí. Nejvíce nacházená léčiva jsou antibiotika, psychoaktivní látky, antihistaminika, analgetika a kardiovaskulární látky. Zdůrazňují také fakt, že vzhledem ke stoupající konzumaci léčiv se jedná o globální problém, který je nutné sledovat.

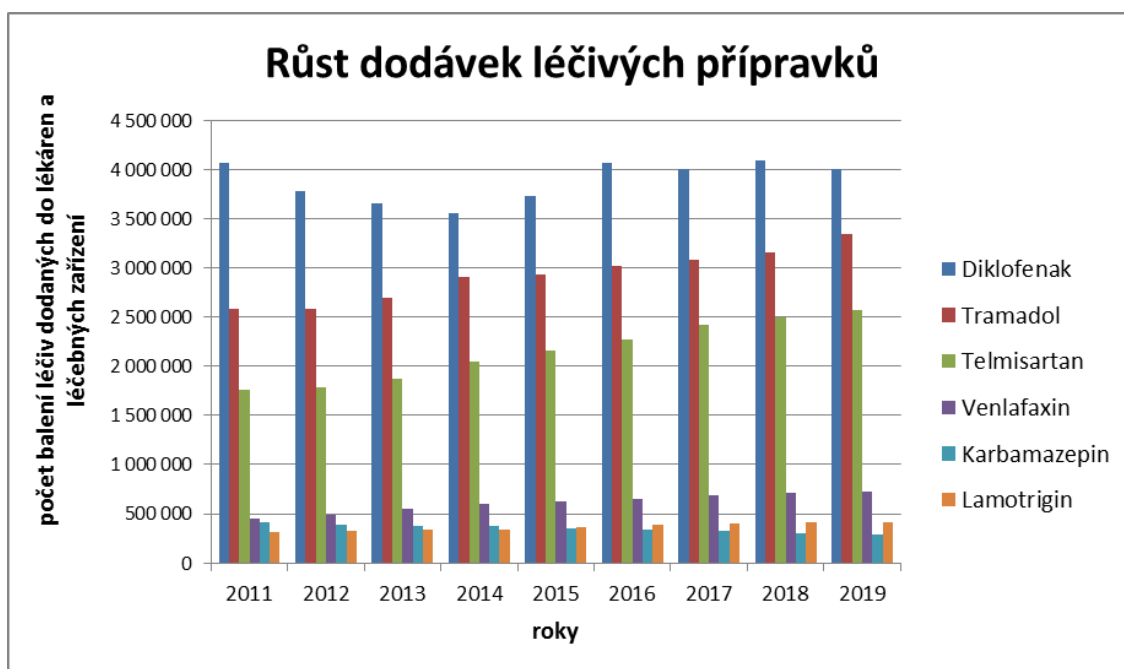
Tato bakalářská práce se zabývá distribucí vybraných léčiv mezi články potravního řetězce ve vodním prostředí. Jsou zde diskutovány vlivy léčiv, které působí na vodní organismy, jako je například jejich bioakumulace, změny chování, histologické změny orgánů nebo změny funkčnosti. Dále jsou zde diskutována léčiva, jejichž přítomnost ve vodě, bentických organismech či rybách již byla prokázána.

Cílem této práce je stanovení koncentrace dvaceti vybraných léčiv a jejich metabolitů pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií a následné posouzení jejich výskytu (bioakumulace) v organismech z různých trofických úrovní. Bylo vybráno deset lokalit na významných tocích v České republice, které spadají do každoročního monitoringu Českého hydrometeorologického ústavu. V rámci této práce jsou sledována vybraná léčiva v pěti typech matrice – plasma a sval dospělců jelce tlouště (*Squalius cephalus*), slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*), bentické organismy (převážně *Hydropsyche* sp.) a juvenilní ryby.

2 Literární rešerše

2.1 Léčiva ve vodním prostředí

V této době jsou léčiva velmi běžnou záležitostí a jejich užívání každým dnem stoupá. Užívají se ve velkém množství, a do lékáren a léčebných zařízení je každoročně dodáván stále větší počet balení (viz graf 1). Z grafu je také patrný pokles dodávek léčiva karbamazepin a nárůst dodávek léčiva lamotrigin, které v posledních letech nahrazuje karbamazepin (Bolin a kol., 2017). Po konzumaci jsou léčiva spolu s jejich metabolity, které vznikají v lidském těle, vylučovány do odpadních vod. Odpadní vody, které se dostávají do čistíren odpadních vod (ČOV) obsahují mnoho organických a anorganických látek, většina z nich je v několika stupňovém procesu čištění



Graf 1: Růst dodávek léčiv do lékáren a léčebných zařízení (Státní ústav pro kontrolu léčiv, 2010–2020)

odstraněna. Od farmak není odpadní voda zcela zbavena, většina ČOV není ani stavěna na to, aby tyto látky byly z vody úplně odstraněny. Léčiva při čisticích procesech degradují, mohou být sorbovány na určité látky nebo do kalů a odstraněny tak z odpadních vod (Verlicchi a kol., 2012). Některá léčiva nelze odstranit, některá jsou málo odstranitelná, středně odstranitelná a jsou i léčiva, která jsou účinně odstranitelná více než z 80 % (Vieno a kol., 2007a).

Odstranění léčiv v ČOV se v průběhu roku mění. V zimním období jsou koncentrace léčiv v odpadních vodách nejvyšší, může to být důsledek větší konzumace léčiv a menší účinnosti odstranění látek v tomto období. V létě jsou koncentrace v odpadních vodách menší. Touto problematikou se zabývá studie Golovko a kol. (2014a, 2014b), ve které byly studovány nátoky a odtoky odpadních vod z ČOV v Českých Budějovicích a koncentrace vybraných léčiv v těchto vodách. Také bylo zjištěno, že i když v jarních měsících stoupá konzumace antihistaminik kvůli sezonním alergiím, na výtoky z ČOV nebyly jejich koncentrace zaznamenány.

Jako další stupeň čištění odpadních vod slouží biologické dočišťovací nádrže, které dokáží odstranit mnoho organických mikropolutantů a probíhají zde biodegradační, fotodegradační a sorpční procesy. Úspěšnost odstranění znečišťujících látek závisí například na tom, jak byly nádrže vybudovány, na obsahu látek v odpadních vodách nebo typu chemické látky. Úspěšnost odstranění těchto látek závisí také na ročním období a teplotě. Při nižších teplotách čistící procesy stagnují (Gruchlik a kol., 2018).

V rybníce Čežárka (Koba a kol., 2018), který slouží pro dodatečné biologické dočištění vyčištěné odpadní vody z ČOV Vodňany, byla téměř všechna studovaná léčiva z více jak 90 % odstraněna z vody v období od července do srpna, až na některé metabolity, které prokázaly určitou rezistenci. Velká účinnost odstranění těchto látek mohla být zapříčiněna vyšší intenzitou slunečního záření, metabolickou aktivitou bakterií nebo vstřebáváním rostlinami.

Rezidua farmak a jejich metabolitů se s vyčištěnou odpadní vodou dostávají do recipientu a putují vodním prostředím, kde mohou negativně ovlivňovat necílové vodní organismy (Boxall a kol., 2012; Verlicchi a kol., 2012). Léčivé látky se mohou ukládat v jejich tkáních, neboli bioakumulovat (Grabicová a kol., 2017). Jejich bioakumulace závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech a rychlosti metabolické přeměny. Vodní ekosystém je propojen jednotlivými trofickými úrovněmi a bentické organismy jsou potravní základnou mnoha ryb (Hellman a kol., 2013).

Ve vybraných rybách a vodních bezobratlých byly studovány biokoncentrace pěti léčiv v rybníce Röbbäck ve Švédsku. Tři léčiva byla nalezena u všech zkoumaných organismů. Nejvyšší koncentrace léčiv byla nalezena u bentických organismů, kteří žijí u dna rybníku. Bentické organismy se tak zdají být prvořadými konzumenty léčiv na

nižší trofické úrovni a jejich bioakumulace může dále ovlivňovat ryby skrze jejich potravu. Farmaka tak prostupují dále v trofických úrovních (Lagesson a kol., 2016).

Hlavní skupiny léčiv nalezených v povrchových vodách ovlivněných odtokem z ČOV jsou kardiovaskulární léčiva, psychoaktivní léčiva, antibiotika, analgetika a antihistaminika.

V rybníce Čezárka byly ve vodě nalezeny kardiovaskulární léčiva v průměrných koncentracích 62–1200 ng·l⁻¹, psychoaktivní léčiva 9,1–520 ng·l⁻¹, antibiotika 8,1–280 ng·l⁻¹, analgetika 190–260 ng·l⁻¹ a antihistaminika 47–410 ng·l⁻¹. Mezi léčiva s nejvyšší koncentrací patřil irbesartan, diklofenak, metoprololová kyselina, tramadol či karbamazepin (Koba a kol., 2018)

V článku Cunha a kol. (2017) byl na základě získaných dat z 219 článků z 34 zemí sumarizován výskyt psychoaktivních látek v povrchových vodách, jejichž koncentrace se pohybovala v rozmezí 0,14–840 000 ng·l⁻¹.

Ve vodách Jihočínského moře bylo zkoumáno 19 antibiotik. Prokázána byla přítomnost 11 antibiotik v mořské vodě při pobřeží v součtu průměrů koncentrací jednotlivých léčiv 4,17 ng·l⁻¹ (Zhang a kol., 2020). V čínském jezeře Dongting byla zkoumána přítomnost léčiv ve vodě. Nalezeny byly koncentrace následujících terapeutických skupin léčiv. Analgetika byla nalezena v koncentracích až 11,30 ng·l⁻¹, antibiotika až 9,32 ng·l⁻¹ a psychoaktivní látky až 1,42 ng·l⁻¹ (Wang a kol., 2019).

Fick a kol. (2010) na základě modelu vytipovali kritické koncentrace 500 léčiv, která by v povrchových vodách mohla mít vliv na ryby. Bylo zjištěno, že 25 léčiv má kritickou koncentraci menší než 10 ng·l⁻¹, 39 léčiv mezi 10 a 100 ng·l⁻¹, 63 léčiv mezi 100 a 1000 ng·l⁻¹ a další léčiva vyšší jak 1000 ng·l⁻¹.

2.2 Vliv léčiv na necílové organismy

Vodní ekosystém je přirozeným habitatem pro mnoho organismů, kteří jsou úzce vázáni na vodní prostředí. Vodní organismy tak mohou obývat místa s vyčištěnou odpadní vodou obsahující rezidua farmak, ty mohou pronikat do jejich těl a negativně je tak ovlivňovat (Jjemba, 2008). Vliv léčiv na vodní organismy může být studován několika různými přístupy. Jedním z nich jsou laboratorní experimenty, kdy jsou organismy vystaveny působení léčiva o zvolené koncentraci po určitou dobu expozice

(Buřič a kol., 2018; Guo a kol., 2020). Dalším způsobem je studium nepřímého vlivu farmak vycházející z přírodních podmínek (Grabicová a kol., 2015). Je důležité studovat nepřímé vlivy léčiv na organismy, protože existuje mnoho různých ekosystémů s různými podmínkami a diverzitou organismů na všech trofických úrovních (Saaristo a kol., 2018).

Léčiva mohou mít na vodní organismy různé vlivy, například se léčiva mohou bioakumulovat, může docházet ke změnám chování, změnám funkčnosti, histologickým změnám nebo změnám v jejich metabolismu. Tyto změny jsou popsány v následujících kapitolách.

2.2.1 Bioakumulace

Přítomnost léčiv v povrchových vodách představuje riziko pro ukládání těchto látek v tělech necílových organismů, které obývají tyto vody. Bioakumulace farmak již byla prokázána ve vodních organismech na mnoha trofických úrovních. Léčiva byla nalezena v bentických organismech, jako jsou chrostíci či pijavice (Grabicová a kol., 2015), ty mohou tvořit potravní základnu pro další organismy, především ryby, a tak se léčiva dostávají výše v potravním řetězci (Hellman a kol., 2013). Bioakumulace léčiv byla prokázána v rybách žijících v rybníce Čezárka ovlivněném vyčištěnou odpadní vodou. Koncentrace léčiv byly nalezeny ve svalech, ledvinách, játrech, plasmě a mozku ryb (Grabicová a kol., 2018). Nejčastěji nalezenými léčivy byla antidepresiva, jejichž cílovým orgánem působení je mozek. Z publikovaných studií je patrné, že bioakumulace léčiv závisí na cílovém orgánu (Grabicová a kol., 2014).

Živný potok (Prachaticko) je malý tok, do kterého ústí vyčištěná odpadní voda z ČOV Prachatice. V rybách žijících v tomto toku bylo nalezeno několik psychoaktivních látek. Jednalo se např. o citalopram, sertralin, mirtazapin, tramadol či venlafaxin. Tato léčiva se vyskytovala nejvíce v ledvinách a játrech, jakožto v orgánech zodpovědných za odstraňování cizorodých látek. Antidepresivum sertralin bylo nalezeno i v mozku těchto ryb. Tendence bioakumulovat se ve vodních organismech byla zjištěna pro léčiva citalopram, mianserin, mirtazapin a sertralin (Grabicová a kol., 2017). Vstup léčiv do vodních organismů se v čase liší. Některá léčiva vstupují již po krátkém čase. Citalopram byl nalezen ve svalech a mozku ryb již po několika minutové expozici (Sackerman a kol., 2010).

V řece v Texasu (Spojené státy americké) ovlivněné vodou z ČOV byly potvrzeny koncentrace léčiv v rybách, v jejich játrech, mozku a svalu. Antidepressiva sertralin, fluoxetin a jejich metabolity byly nalezeny ve všech zkoumaných tkáních v koncentraci nad $0,1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Brooks a kol., 2005).

Ve Spojených státech amerických byla dále studována přítomnost léčiv v rybách odlovených z řek z několika různých lokalit, které jsou ovlivněny odtokem vyčištěné odpadní vody z ČOV. Byly analyzovány játra a sval ryb. Z celkového počtu 24 léčiv bylo 7 nalezeno v játrech a 5 ve svalu ryb. Vyšší koncentrace sledovaných látek byly nalezeny v játrech ryb. Antidepressivum sertralin bylo nalezeno v koncentracích až $149 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Ramirez a kol., 2009).

Řeka v provincii Ontario (Kanada) je ovlivněna vyčištěnou odpadní vodou z ČOV. Studie de Solla a kol. (2016) popisuje bioakumulaci léčiv v mlžích z čeledi velevrubovití *Lasmigona costata*, v nichž byly nalezeny koncentrace antidepressiv, antibiotik, antihistaminik a kardiovaskulárních léčiv na koncentrační úrovni dosahující $77 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$.

Ve studii Zhang a kol. (2020) bylo sledováno 19 antibiotik a jejich koncentrace v 18 druzích ryb korálového útesu Jihočínského moře. Výsledky experimentu potvrdily koncentrace 17 antibiotik ve zkoumaných rybách. Maximální hodnoty průměrné koncentrace dosahovaly $0,79 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$.

Mnoho laboratorních experimentů je zaměřeno na studium jedné, maximálně několika látek. Zatím ale nikdo přesně neví, jak působí směsi těchto látek na vodní organismy. Některá léčiva mohou zvýšit účinek jiných léčiv a může například docházet k vyšší bioakumulaci, než kdyby působilo dané léčivo samostatně (Xie a Lu, 2019). Bioakumulace jednoho léčiva nebo kombinace více léčiv tak může dále vést ke změnám chování organismů.

2.2.2 Změna chování

Vodní organismy vystavené životu v habitatech ovlivňovaných vyčištěnou odpadní vodou se směsí farmak mohou měnit své chování různými způsoby. Antidepressiva ovlivňují chování vodních bezobratlých i obratlovců, u ryb mohou měnit strukturu

mezi dominantními versus podřízenými vztahy jedinců nebo sexuální chování, u obojživelníků například sociální chování (Sehonova a kol., 2018).

Bláha a kol. (2019) sledovali vlivy antidepresiva citalopram, analgetika tramadol a vyčištěné odpadní vody na larvální stádia šídla modrého (*Aeshna cyanea*) jakožto predátora plůdku kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Byly zaznamenány změny chování šídla v jeho stravovacích návycích. Při expozici tramadolem byl u predátora (šídla) zaznamenán značný vzrůst času ve vyhledávání kořisti (plůdku kapra) a delší čas ve zpracování kořisti. U expozice šídel citalopramem a vyčištěnou odpadní vodou nebyly zaznamenány žádné větší změny v chování.

Další změna chování byla zaznamenána při expozici živorodek duhových (*Poecilia reticulata*) antidepresivem fluoxetin. Zjištěny byly změny ovlivňující reprodukci u samčího pohlaví. Pozorována byla změna ve strategii páření (Fursdon a kol., 2019).

Při experimentu s raky mramorovanými (*Procambarus virginalis*) vystavenými působení citalopramu a tramadolu byla zjištěna změna jejich aktivity, rychlosti pohybu, pohybových vzdálenostech a v čase, který stráví v úkrytu či mimo něj (Buřič a kol., 2018). Při expozici tramadolem se raci, kteří neměli poskytnuty úkryty, pohybovali méně než raci v kontrole, a raci, kteří měli k dispozici úkryty, z nich téměř nevyběhali. Při expozici citalopramem se raci pohybovali pomaleji v porovnání s kontrolou bez přídatku citalopramu. Další testovanou látkou na racích mramorovaných bylo antidepresivum sertralin (Hossain a kol., 2019). U raků byla zaznamenána vyšší pohybová aktivita oproti kontrole i v případě, že měli k dispozici úkryty. Nicméně pokud neměli k dispozici úkryty, raci se pohybovali ve větších vzdálenostech a vykazovali větší rychlost pohybu. Změny v aktivitě raků a vzdálenosti, kterou urazí, byly sledovány i po expozici oxazepamu (Kubec a kol., 2019).

Guo a kol., (2020) poprvé zdokumentovali vliv tramadolu a nelegální drogy metamfetaminu (pervitinu) na raky červené (*Procambarus clarkii*) a stavění nor. Po expozici byly zjištěny změny chování ve stavění nor lišící se mezi samci a samičkami, v porovnání s kontrolou samičky stavěly menší nory a samci větší.

2.2.3 Změna funkčnosti

Antidepresiva mohou mít vliv na přežívání a vývoj ryb v raném stádiu života. U obojživelníků a bezobratlých organismů dochází také ke změnám v jejich vývoji (Sehonova a kol., 2018).

Khetan a Collins (2007) v článku zpřehlednili fakt, že přítomnost antibiotik v povrchových vodách může negativně ovlivňovat především bakterie, řasy, vířníky, korýše či některé vodní rostliny. Velkým a často diskutovaným problémem je vznik rezistence bakterií na antibiotika přítomná ve vodním prostředí.

Ve spojitosti s resistencí bakterií vůči antibiotikům byla studována i jiná léčiva (např. karbamazepin a tramadol). Bylo zjištěno, že ne pouze antimikrobiální látky, jako jsou antibiotika, mohou ovlivňovat rezistenci bakterií vůči antibiotikům (Bírošová a kol., 2020).

2.2.4 Histologické změny

Několik studií odhalilo negativní vliv farmak na histologii organismů, léčiva dokáží u zasažených organismů měnit tkáň a buňky.

Ve studii Näslund a kol. (2017) jsou popsány vlivy po expozici analgetikem diklofenak. U koljušky tříostné (*Gasterosteus aculeatus*) došlo k růstu krvetvorné tkáně v ledvinách.

Antidepresiva setrvávající ve vodním ekosystému jsou schopna zpomalovat metamorfózu u žab a vývoj u ryb s možným zpomalením pohlavního vývoje u samců (zpřehlednili Khetan a Collins, 2007).

Další látkou, která způsobuje histologické změny je metamfetamin. Je to sice nelegální droga, která se také používá k léčbě ADHD (porucha pozornosti s hyperaktivitou) a obezity. K degenerativním změnám jater a srdce došlo již při expozici koncentrace metamfetaminu, která je nalezena v povrchových vodách České republiky (Sancho Santos a kol., 2020).

2.3 Léčiva vybraná pro experimentální část

Léčiva byla vybrána na základě předchozích výsledků nalezených koncentrací ve vodě, prokázané přítomnosti ve vodních organismech a následném vyhodnocení toxikologické relevance, popsané v kapitolách výše. Koncentrace nalezené ve vodě jsou uvedeny u jednotlivých léčiv. Sumární vzorec, molární hmotnost a registrační číslo CAS jednotlivých léčiv jsou uvedeny v tabulkách 1–20, strukturální vzorce představují obrázky 1–20.

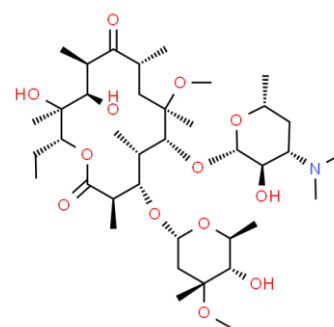
2.3.1 Antibiotika

Tabulka 1: Klarithromycin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃
molární hmotnost	748 g·mol ⁻¹
CAS	81103-11-9

Klarithromycin je antibiotikum vhodné pro léčbu mnoha bakteriálních infekcí. Hlavním metabolitem toho léčiva je 14-hydroxyklarithromycin (PubChem, 2020). Léčivo bylo nalezeno v potoce Živný (Prachaticko, Česká republika) v koncentracích ve vodě 88–120 ng·l⁻¹

(Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čežárka byl nalezen v průměrných koncentracích 11–200 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018). V Jihočínském moři v příbřežní vodě byl klarithromycin nalezen v průměru v koncentracích 0,29 ng·l⁻¹ (Zhang a kol., 2020). Klarithromycin byl zařazen na seznam léčiv, která se mají monitorovat v povrchových vodách v Evropské unii (European Commission, 2018).

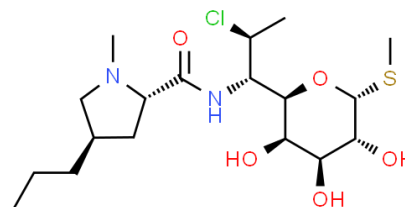


Obrázek 1: Klarithromycin (ChemSpider, 2020)

Tabulka 2: Klindamycin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₈ H ₃₃ ClN ₂ O ₅ S
molární hmotnost	425 g·mol ⁻¹
CAS	18323-44-9

Klindamycin je širokospektrální antibiotikum užívané na léčbu různých bakteriálních infekcí. V lidském těle se klindamycin přeměňuje na metabolity klindamycin sulfoxid a N-desmethyl-klindamycin (PubChem, 2020). Koncentrace toho léčiva se v potoce Živný pohybovaly od 5 do 8 ng·l⁻¹ (Grabicová



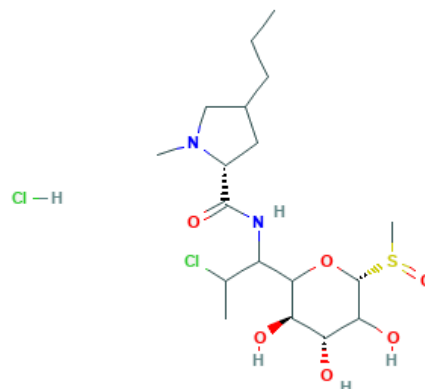
Obrázek 2: Klindamycin (ChemSpider, 2020)

a kol., 2015). V rybníku Čežárka byl nalezen v průměrných koncentracích 33–71 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018). Klindamycin byl v čínském jezeře Dongting nalezen v maximálních koncentracích 1,29 ng·l⁻¹ (Wang a kol., 2019).

Tabulka 3: Klindamycin sulfoxid (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₈ H ₃₄ Cl ₂ N ₂ O ₆ S
molární hmotnost	477,4 g·mol ⁻¹
CAS	22431-46-5

Klindamycin sulfoxid je metabolitem antibiotika klindamycin (PubChem, 2020). Metabolit byl nalezen v rybníku Čežárka v průměrných koncentracích 41 až 160 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).

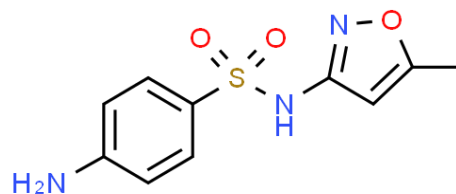


Obrázek 3: Klindamycin sulfoxid (PubChem, 2020)

Tabulka 4: Sulfamethoxazol (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S
molární hmotnost	253,28 g·mol ⁻¹
CAS	723-46-6

Antibiotikum sulfamethoxazol je vhodné pro léčbu bakteriálních infekcí způsobujících bronchitidu, zánět prostaty či infekce močových cest. Používá se v kombinaci s trimethoprimem.



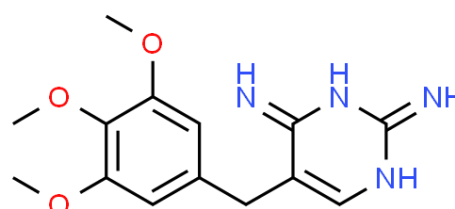
Obrázek 4: Sulfamethoxazol (ChemSpider, 2020)

Hlavním metabolitem je N4-acetyl-sulfamethoxazol (PubChem, 2020). V potoce Živný byly nalezeny koncentrace 20–32 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čežárka byl nalezen v průměrných koncentracích 33–280 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018). V Jihočínském moři v příbřežní vodě byl sulfamethoxazol nalezen v průměrných koncentracích dosahující 1,07 ng·l⁻¹ (Zhang a kol., 2020).

Tabulka 5: Trimethoprim (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃
molární hmotnost	290,32 g·mol ⁻¹
CAS	738-70-5

Pro léčbu infekcí močových cest se užívá antibiotikum trimethoprim. Je ho možné užívat i proti infekcím dýchacích cest (PubChem, 2020).



Obrázek 5: Trimethoprim (ChemSpider, 2020)

Toto léčivo se vyskytovalo v potoce Živný v koncentracích v rozmezí 55–84 ng·l⁻¹

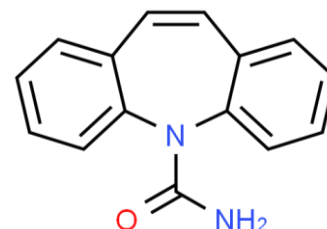
(Grabicová a kol., 2015). V Jihočínském moři v příbřežní vodě byl trimethoprim nalezen v průměru v koncentracích $0,43 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Zhang a kol., 2020). V čínském jezeře Dongting byl nalezen v koncentracích až $0,78 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Wang a kol., 2019).

2.3.2 Psychoaktivní léčiva

Tabulka 6: Karbamazepin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$
molární hmotnost	$236,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
CAS	298-46-4

Karbamazepin je lék, který se užívá pro léčbu epileptických záchvatů a pro zmírnění bolestí nervového původu. Z této látky vzniká metabolit karbamazepin-10,11-epoxid, který má také antiepileptické účinky (PubChem, 2020). Karbamazepin a jeho metabolity byly často nalezeny v povrchové vodě a jsou jedněmi z nejvíce perzistentních farmak (zpřehlednili Khetan a Collins, 2007). V potoce Živný byly nalezeny koncentrace $76\text{--}110 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích $350\text{--}440 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Koba a kol., 2018). Ve Finsku ve vyčištěných odpadních vodách byly zjištěny koncentrace karbamazepinu $290\text{--}2440 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Vieno a kol., 2007a) a v řece Vantaa $21\text{--}80 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Vieno a kol., 2007b). Léčivo bylo nalezeno i v čínském jezeře Dongting, ale v koncentracích pouze $0,16 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Wang a kol., 2019).

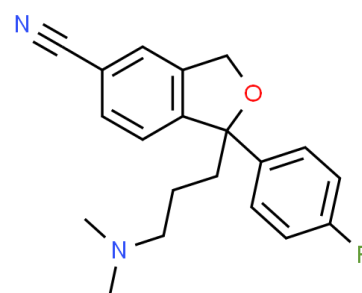


Obrázek 6: Karbamazepin (ChemSpider, 2020)

Tabulka 7: Citalopram (PubChem, 2020)

sumární vzorec	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}$
molární hmotnost	$324,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
CAS	59729-33-8

Citalopram se využívá pro léčbu depresí spojených s poruchami nálad nebo i při změnách chování po prodělání mozkové mrtvice. Patří do kategorie selektivních inhibitorů zpětného vychytávání



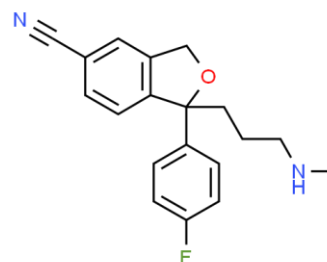
Obrázek 7: Citalopram (ChemSpider, 2020)

serotoninu (SSRI) (PubChem, 2020). V koncentracích do $58 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Grabicová a kol., 2015, 2017) byl citalopram nalezen ve vodě z Živného potoka. V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích 8 až $32 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ (Koba a kol., 2018).

Tabulka 8: N-Desmethylcitalopram (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₉ H ₁₉ FN ₂ O
molární hmotnost	310,4 g·mol ⁻¹
CAS	62498-67-3

Citalopram se v lidském organismu metabolizuje na N-Desmethylcitalopram (PubChem, 2020). Tento metabolit byl nalezen ve vodě v rybníku Čezárka v koncentracích 5,8 až 12 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).



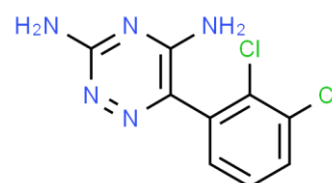
Obrázek 8: N-Desmethylcitalopram (ChemSpider, 2020)

Tabulka 9: Lamotrigin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅
molární hmotnost	256,09 g·mol ⁻¹
CAS	84057-84-1

Lamotrigin patří do skupiny antiepileptik. Léčí se jím epilepsie a také se využívá pro léčbu bipolárních poruch.

Tento lék může metabolizovat na lamotrigin-2-N-glucuronid, který není farmakologicky aktivní, dále na lamotrigin-5-N-glucuronid a 2-N-methylamotrigin (PubChem, 2020). Ve švédském jezeře Mälaren, které je zásobárnou pitné vody, bylo nalezeno až 140 ng·l⁻¹ tohoto léčiva (Rehrl a kol., 2020).



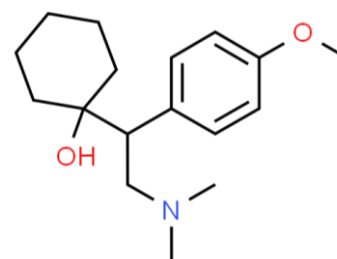
Obrázek 9: Lamotrigin (ChemSpider, 2020)

Tabulka 10: Venlafaxin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂
molární hmotnost	277,4 g·mol ⁻¹
CAS	93413-69-5

Venlafaxin se využívá k léčbě depresí, úzkostí, panických záchvatů nebo například obsedantně kompulsivní poruchy. Patří do skupiny inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu (SNRI). Toto

léčivo se metabolizuje na aktivní metabolit O-Desmethylvenlafaxin (PubChem, 2020). V Živném potoce byl lék nalezen v koncentracích do 170 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015, 2017). V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích 32–150 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).

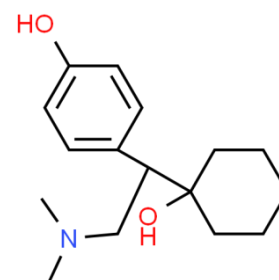


Obrázek 10: Venlafaxin (ChemSpider, 2020)

Tabulka 11: O-Desmethylvenlafaxin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂
molární hmotnost	263,37 g·mol ⁻¹
CAS	93413-62-8

O-Desmethylvenlafaxin je aktivním metabolitem venlafaxinu a může mít stejné účinky (PubChem, 2020). Koncentrace tohoto metabolitu byly nalezeny ve vodě v rybníce Čezárka v průměru 53–520 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).



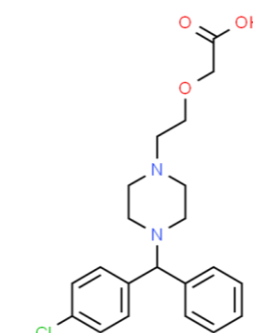
Obrázek 11: O-Desmethylvenlafaxin (ChemSpider, 2020)

2.3.3 Antihistaminika

Tabulka 12: Cetirizin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₂₁ H ₂₅ ClN ₂ O ₃
molární hmotnost	388,9 g·mol ⁻¹
CAS	83881-51-0

Léčivo cetirizin je využíváno pro léčbu sezónní a celoroční alergické rýmy nebo chronické kopřivky (PubChem, 2020). V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích 210–410 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).

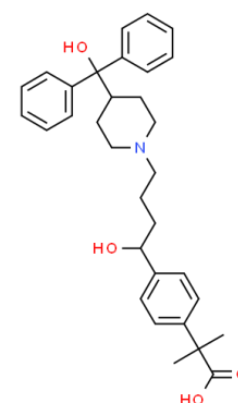


Obrázek 12: Cetirizin (ChemSpider, 2020)

Tabulka 13: Fexofenadin (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₃₂ H ₃₉ NO ₄
molární hmotnost	501,7 g·mol ⁻¹
CAS	83799-24-0

Fexofenadin se využívá pro příznivé účinky na alergickou rýmu a léčbu chronické kopřivky. Je vhodný pro úlevu při kýchání, svědění očí, nosu a krku (PubChem, 2020). Jeho koncentrace byly nalezeny ve vodě z Živného potoka v rozmezí 9–15 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích 210–410 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).

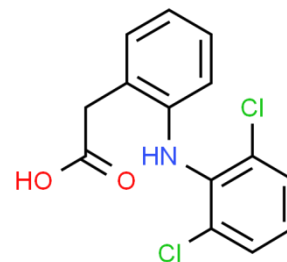


Obrázek 13: Fexofenadin (ChemSpider, 2020)

2.3.4 Analgetika

Tabulka 14: Diklofenak (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂
molární hmotnost	296,1 g·mol ⁻¹
CAS	15307-86-5

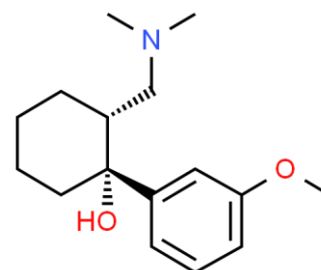


Obrázek 14: Diklofenak (ChemSpider, 2020)

Diklofenak se podává při bolestech a zánětech různého původu včetně artritidy. Patří do skupiny analgetik a nesteroidních protizánětlivých léků. 4'-hydroxydiklofenak je jeho hlavním metabolitem (PubChem, 2020). Léčivo bylo nalezeno ve vodách v různých koncentracích. V potoce Živný byly zjištěny koncentrace od 65 až po 94 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čežárka byl nalezen v průměrných koncentracích 190–660 ng·l⁻¹ v závislosti na ročním období (Koba a kol., 2018). Ve finské řece Vantaa byly zjištěny koncentrace 10–55 ng·l⁻¹ (Vieno a kol., 2007b). Diklofenak byl v čínském jezeře Dongting nalezen v maximálních koncentracích 11,10 ng·l⁻¹ (Wang a kol., 2019).

Tabulka 15: Tramadol (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂
molární hmotnost	263,37 g·mol ⁻¹
CAS	27203-92-5



Obrázek 15: Tramadol (ChemSpider, 2020)

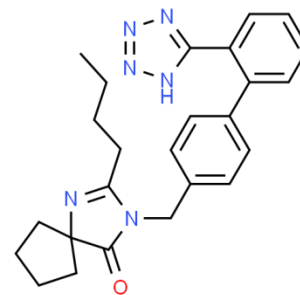
Tramadol patří mezi opioidní analgetika a užívá se při mírných až středně silných bolestech. Vznikají z něj metabolity O-desmethyltramadol a N-desmethyltramadol. Tramadol i jeho metabolity mají i SNRI aktivitu (PubChem, 2020). Tato látka byla ve vodě z Živného potoka nalezena v nejvyšších koncentracích ze všech zkoumaných léčiv, průměrné koncentrace dosahovaly hodnot až 1400 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015, 2017). V rybníku Čežárka byl nalezen v průměrných koncentracích 47–160 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018). Ve švédském jezeře Mälaren byl nalezen v maximální koncentraci 46 ng·l⁻¹ (Rehrl a kol., 2020).

2.3.5 Kardiovaskulární látky

Tabulka 16: Irbesartan (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₂₅ H ₂₈ N ₆ O
molární hmotnost	428,5 g·mol ⁻¹
CAS	138402-11-6

Lék irbesartan se používá k léčbě vysokého krevního tlaku (PubChem, 2020). V Živném potoce byly jeho koncentrace ve vodě 74–88 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čezárka byl irbesartan nalezen v průměrných koncentracích 57–230 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018).



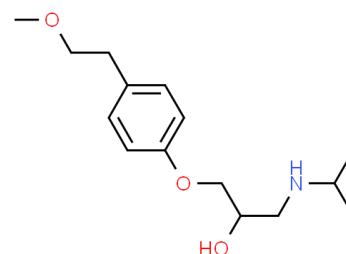
Obrázek 16: Irbesartan (ChemSpider, 2020)

Tabulka 17: Metoprolol (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃
molární hmotnost	267,36 g·mol ⁻¹
CAS	51384-51-1

Metoprolol je látka s účinky snižujícími krevní tlak a je vhodná pro léčbu anginy pectoris (PubChem, 2020).

Koncentrace této látky v Živném potoce byly jedny z nejvyšších nalezených, a to od 130 do 210 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015). V rybníku Čezárka byl nalezen v průměrných koncentracích 60–340 ng·l⁻¹ (Koba a kol., 2018). Ve Finsku ve vyčištěných odpadních vodách byly zjištěny koncentrace metoprololu 280–1600 ng·l⁻¹ (Vieno a kol., 2007a) a v řece Vantaa 9–107 ng·l⁻¹ (Vieno a kol., 2007b). V čínském jezeře Dongting byl metoprolol nalezen v maximálních koncentracích 0,24 ng·l⁻¹ (Wang a kol., 2019).

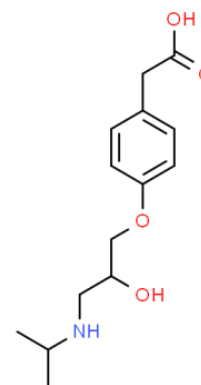


Obrázek 17: Metoprolol (ChemSpider, 2020)

Tabulka 18: Metoprololová kyselina (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄
molární hmotnost	267,32 g·mol ⁻¹
CAS	56392-14-4

Metoprololová kyselina je metabolitem metoprololu (PubChem, 2020). Její koncentrace ve vodě v rybníce Čezárka byla v rozmezí 620–920 ng·l⁻¹, vyšší než koncentrace metoprololu (Koba a kol., 2018).

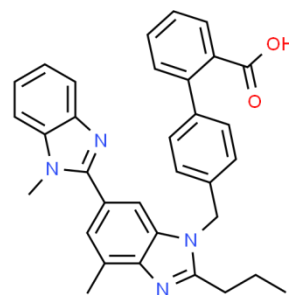


Obrázek 18: Metoprololová kyselina (ChemSpider, 2020)

Tabulka 19: Telmisartan (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₃₃ H ₃₀ N ₄ O ₂
molární hmotnost	514,6 g·mol ⁻¹
CAS	144701-48-4

Látka telmisartan je používána pro léčbu vysokého krevního tlaku (PubChem, 2020). Telmisartan je jedním z významných kardiovaskulárních léčiv, která se v nátoky na slovenské ČOV vyskytuje v koncentraci až 17000 ng·l⁻¹ (Fáberová a kol., 2017), na odtoku je jeho koncentrace nižší, nicméně stále vysoká (rozmezí 930–1800 ng·l⁻¹; Szabová a kol., 2020). V povrchových vodách ve Španělsku byl nalezen v koncentracích až 788 ng·l⁻¹ (Castro a kol., 2019).

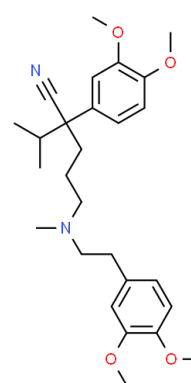


Obrázek 19: Termisartan (ChemSpider, 2020)

Tabulka 20: Verapamil (PubChem, 2020)

sumární vzorec	C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄
molární hmotnost	454,6 g·mol ⁻¹
CAS	52-53-9

Verapamil je využíván pro léčbu vysokého krevního tlaku, anginy pectoris nebo například srdeční arytmie. Hlavním metabolitem tohoto léčiva je norverapamil (PubChem, 2020). Léčivo bylo nalezeno ve vodě z Živného potoka v koncentracích pouze 4–9 ng·l⁻¹ (Grabicová a kol., 2015).



Obrázek 20: Verapamil (ChemSpider, 2020)

3 Materiál a metodika

Pro stanovení koncentrace vybraných léčiv a jejich metabolitů v jednotlivých druzích vodních organismů byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie s vysokorozlišující hmotnostní detekcí (HPLC-HRMS). Díky validované metodě uvedené ve studii Grabicová a kol. (2018), kde byla validována příprava a analýza několika typů biologických vzorků, bylo možné metodu využít pro přípravu a stanovení vzorků rybích tkání, ale i pro ostatní organismy, jako jsou například bentické organismy či slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*).

Odlovy testovaných organismů byly prováděny v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání (246/1992 Sb.) a vnitřními etickými předpisy Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity.

3.1 Použité chemikálie, vybavení a přístroje

Zpracování vzorků bylo provedeno za pomoci následujících chemikálií, vybavení a přístrojů. Chemikálie acetonitril (LC-MS čistota, Merck) a ultra čistá voda (AquaMax Basic 360 Series and Ultra 370 Series instrument Younglin, Korea), oboje okyselené kyselinou mravenčí (0,1%), byly použity jako mobilní fáze. Pro extrakci byl použit okyselený acetonitril a isopropanol (LC-MS grade, Merck).



Obrázek 21: Homogenizátor



Obrázek 22: Centrifuga

Standards léčiv byly použity na přípravu kalibrační křivky, fortifikovaných vzorků a maticových standardů: Cetirizin, diklofenak, fexofenadin, karbamazepin, klarithromycin, klindamycin, lamotrigin, metoprolol, N-Desmethylcitalopram, O-Desmethylvenlafaxin, tramadol, trimethoprim, verapamil (získány od Sigma

Aldrich); citalopram, telmisartan, venlafaxin (AK Scientific); metoprololová kyselina, klindamycin sulfoxid (Toronto Research Chemicals); irbesartan (Chemos GmbH); sulfamethoxazol (Riedel-de Haen).

Izotopicky značená léčiva byla použita jako vnitřní standard: Venlafaxine_D₆, tramadol_D₃ (Lipomed); trimethoprim-¹³C₆, klindamycin_D₃, klarithromycin_D₃ (TRC); metoprolol_D₇ (Alsa Chim); diklofenak-¹³C₆ (Sigma Aldrich).



Obrázek 23: Kapalinový chromatograf s vysokorozlišujícím hmotnostním detektorem Q-Exacte (foto Kateřina Grabicová)

Pro extrakci a analýzu vzorků byly použity následující přístroje: Homogenizátor (TissueLyser II, Quiagen, Německo, obrázek 21), centrifuga (Mini spin, Eppendorf, Německo, obrázek 22), třepačka vortex (Biosan Ltd., Lotyšsko), kapalinový chromatograf s vysokorozlišujícím hmotnostním detektorem Q-Exacte (Thermo Fisher Scientific, USA, obrázek 23). Dále byly použity pipety, vialky, zkumavky Eppendorf, homogenizační kuličky, stříkačkové filtry s náplní regenerované celulózy.

3.2 Testované organismy a vybrané lokality

Pro stanovení výskytu vybraných léčiv bylo vybráno několik druhů a skupin vodních organismů – juvenilní stádia kaprovitých ryb, například plotice obecná (*Rutilus rutilus*), jelec tloušť (*Squalius cephalus*), bolen dravý (*Leuciscus aspius*), hrouzek obecný (*Gobio gobio*) nebo ouklej obecná (*Alburnus alburnus*), dále dospělci jelce tlouště (*Squalius cephalus*, obrázek 24), slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*) a bentické organismy (převážně larvy chrostíků *Hydropsyche* sp., pokud jich na některých lokalitách byl nedostatek, tak pijavky *Erpobdella* sp.). Tyto vodní organismy



Obrázek 24: Jelec tloušť (*Squalius cephalus*)



Obrázek 25: Mapa odběrových lokalit (převzato a upraveno, Mapy Google 2020)

byly odloveny v rámci každoročního monitoringu povrchových vod ve spolupráci s Českým hydrometeorologickým ústavem (ČHMÚ) na jimi vybraných lokalitách, které jsou ovlivněny nejen vyčištěnou komunální odpadní vodou, ale některé také vodami z nemocnic či průmyslu. Poloha vybraných lokalit je zaznamenána body na mapě na obrázku 25 a GPS souřadnice a průměrné roční průtoky řek v lokalitě je možné nalézt v tabulce 21.

Tabulka 21: Vybrané lokality a jejich GPS souřadnice a průtok (data z ČHMÚ).

lokality	GPS souřadnice	průměrný roční průtok [$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$]
Labe-Obříství	N 50,2964° E 14,4818°	104
Sázava-Poříčí	N 49,8570° E 14,6580°	19
Jizera-Předměřice	N 50,2510° E 14,7744°	25
Otava-Topělec	N 49,3433° E 14,1521°	23
Vltava-Zelčín	N 50,2804° E 14,3138°	152
Svratka-Židlochovice	N 49,0929° E 16,6198°	15
Morava-Lanžhot	N 48,6874° E 16,9897°	61
Ohře-Terezín	N 50,4069° E 14,0701°	37
Bílina-Ústí nad Labem	N 50,6458° E 14,0065°	7,2
Bečva-Troubky	N 49,4481° E 17,4081°	17

3.3 Příprava vzorků

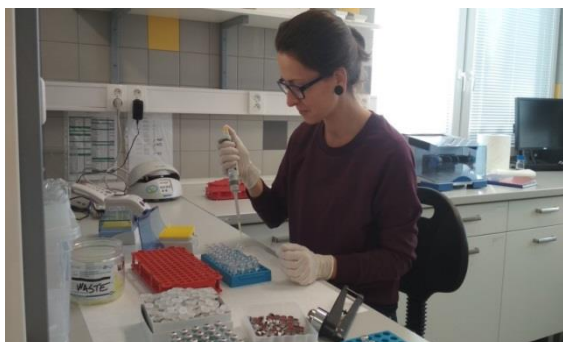
Vybrané druhy nebo skupiny vodních organismů byly pro experiment odloveny příslušnými způsoby na každé lokalitě. Ryby byly odloveny za pomoci elektrického agregátu. Slávičky mnohotvárné z referenční lokality byly umístěny do klecí a exponované po dobu dvou měsíců. Bentické organismy byly sesbírány pinzetou ze spodní strany kamenů, které byly ponořené ve vodě.

Třem dospělým jelce tlouště z každé lokality byla odebrána krev, tyto vzorky krve byly centrifugovány, aby bylo možné získat plasmu. Poté byly ryby usmrceny a mohly tak být odebrány vzorky svaloviny. Z každé lokality byl připraven jeden směsný vzorek svaloviny. Vzorky byly zmrazeny v $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do dalšího zpracování (extrakce a analýzy).

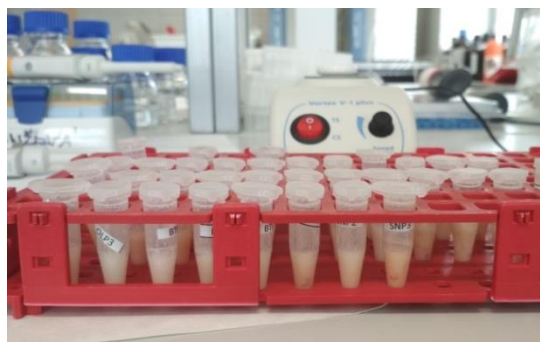
Juvenilní stádia ryb, slávička mnohotvárná a bentické organismy byly pro extrakci připraveny jako homogenizovaný směsný vzorek pro každou skupinu organismů a jednotlivou lokalitu. Následovalo zmrazení vzorků v $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ před finální extrakcí a analýzou.

3.4 Extrakce vzorků

Nejprve bylo naváženo 0,5 g vzorku bentosu, juvenilních ryb, slávičky a svalů dospělých ryb jelce tlouště z jednotlivých odběrových lokalit do zkumavek Eppendorf. Ke každému vzorku bylo přidáno 10 ng vnitřního standardu (tzn., bylo přidáno 10 μl koncentrace 1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), poté byla přidána homogenizační kulička a 1 ml extrakčního rozpouštědla (acetonitril, ACN: isopropanol, ISP v objemovém poměru 3:1, okyselené kyselinou mravenčí). Takto připravené vzorky byly homogenizovány po dobu 10 minut při kmitočtu 30 Hz. Po homogenizaci byly vzorky centrifugovány po dobu 5 minut při 10 000 otáčkách za minutu. Poté byly vzorky filtrovány pomocí filtrů s póry 0,45 μm a následně zmrazeny v $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 24 hodin. Po uplynulé době mražení bylo nutné vzorky znovu centrifugovat, a to 3 minuty při 10 000 otáček/minutu, aby bylo možné odebrat potřebný alikvót 100 μl do inzertu vialek. Vzorky byly poté zanalyzovány pomocí HPLC-HRMS (Grabicová a kol., 2018). Extrakce vzorků je zdokumentována na obrázku 26 a 27.



Obrázek 26: Extrakce vzorků

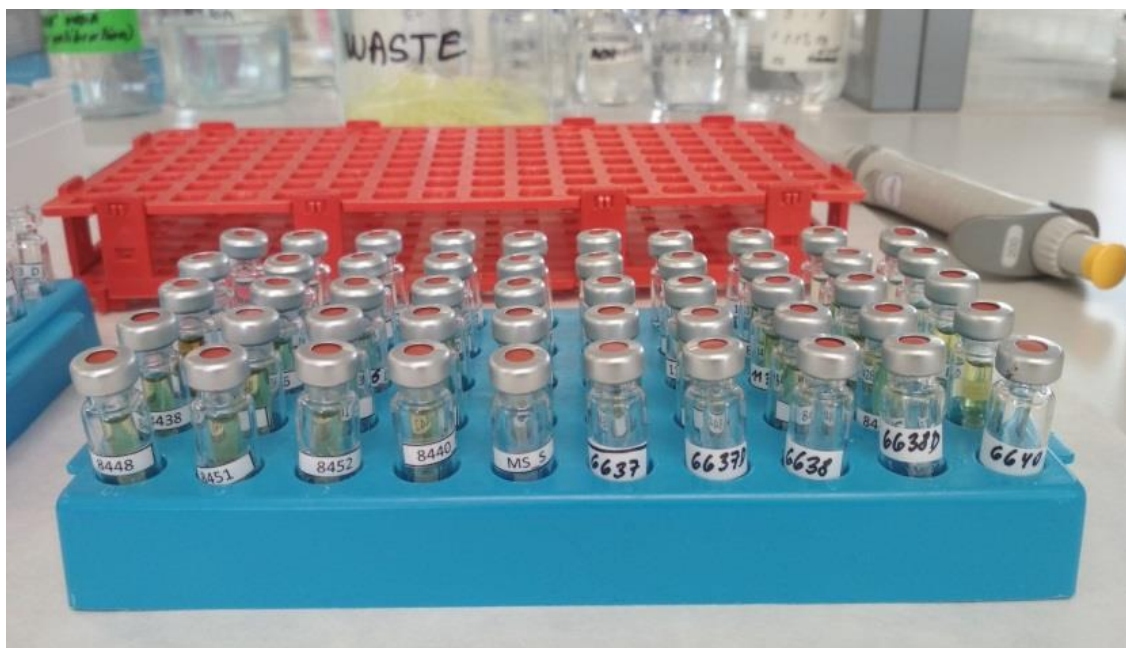


Obrázek 28: Vzorky plasmy před zmražením

Příprava vzorků plasmy jelce tlouště se lišila od přípravy zbylých vzorků. Do zkumavek Eppendorf bylo napipetováno 0,25 ml plasmy. Ke vzorku bylo poté přidáno 5 ng vnitřního standardu (5 μl koncentrace 1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) a 0,25 ml ACN (okyseleného kyselinou mravenčí). Připravený vzorek byl promíchán na vortexu a zmrazen v $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 24 hodin. Zkumavky Eppendorf se vzorky plasmy jsou zdokumentovány na obrázku 28. Po 24 hodinách byly vzorky centrifugovány 5 minut při 10 000 otáčkách za minutu. Do inzertu ve vialce byl odměřen alikvótní podíl 100 μl vzorku, který byl analyzován.

Pro pokus byl stejným způsobem připraven blank, slepý vzorek, pouze bez přidání zkoumané matrice. Slepý vzorek tedy obsahoval pouze vnitřní standard, homogenizační kuličku a extrakční rozpouštědlo.

Pro kontrolu opakovatelnosti analýz bylo připraveno několik duplikátů, kdy z jednoho vzorku byly připraveny a analyzovány vzorky dva. Příprava byla stejná, jako bylo popsáno výše.



Obrázek 27: Vzorky připravené pro analýzu pomocí HPLC-HRMS

Pro ověření správnosti metody byly připraveny fortifikované vzorky, které byly navíc obohacené nativním standardem. Příprava vzorku se lišila pouze tím, že byl na začátku před homogenizací přidán i nativní standard, a to 50 ng (5 μ l koncentrace 10 μ g·ml⁻¹). K zohlednění vlivu matrice, tkáně, byly připraveny matricové standardy, kdy interní a nativní standard (10 ng a 50 ng) byly přidány do extraktu vzorku těsně před odebráním alikvótu pro analýzu.

Kalibrační křivka byla připravena do směsi ACN:destilovaná voda (1:1) v rozsahu 0,05 až 50 ng·ml⁻¹ pro homogenizované tkáně a v rozsahu 0,02 až 50 ng·ml⁻¹ pro plasmu.

3.5 Zpracování dat

Po naměření vzorků kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí byla získaná data zpracována pomocí softwaru TraceFinder (Thermo Fisher Scientific). K výpočtu koncentrací vybraných léčiv a jejich metabolitů v jednotlivých matricích byla použita metoda vnitřního standardu v kombinaci s matricovým standardem.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Porovnání duplikátů a vzorků obohacených nativním standardem

Pro kontrolu opakovatelnosti analýz bylo připraveno několik kontrolních vzorků, duplikátů, kdy jeden vzorek byl připraven a zanalyzován dvakrát. Tabulka 22 porovnává koncentraci vzorku bentických organismů z lokality Bečva-Troubky s připraveným duplikátem u léčiv, která byla nad mezí stanovitelnosti. Duplicitní vzorky se lišily o několik procent, chyba stanovení nepřesahovala kvalifikovaný odhad 30 % stanovený na základě validace metody. Jelikož se duplicitní vzorky téměř nelišily, je možné konstatovat, že metoda přípravy a měření vzorků byla správná a že byly vybrány reprezentativní vzorky.

Tabulka 22: Porovnání koncentrací pozitivně nalezených léčiv ve vzorku a jeho duplikátu v bentických organismech na lokalitě Bečva-Troubky

[ng·g ⁻¹]		chyba stanovení < 30%		
léčiva	vzorek 1	spodní hodnota	horní hodnota	duplikát
Metoprololová kyselina	1,3	0,91	1,7	1,7
N-Desmethylocitalopram	0,25	0,18	0,33	0,24
O-Desmethylvenlafaxin	0,14	0,10	0,18	0,17
Telmisartan	5,7	4,0	7,4	6,5
Tramadol	0,72	0,50	0,94	0,82
Venlafaxin	0,32	0,22	0,42	0,36
Verapamil	0,30	0,21	0,39	0,30

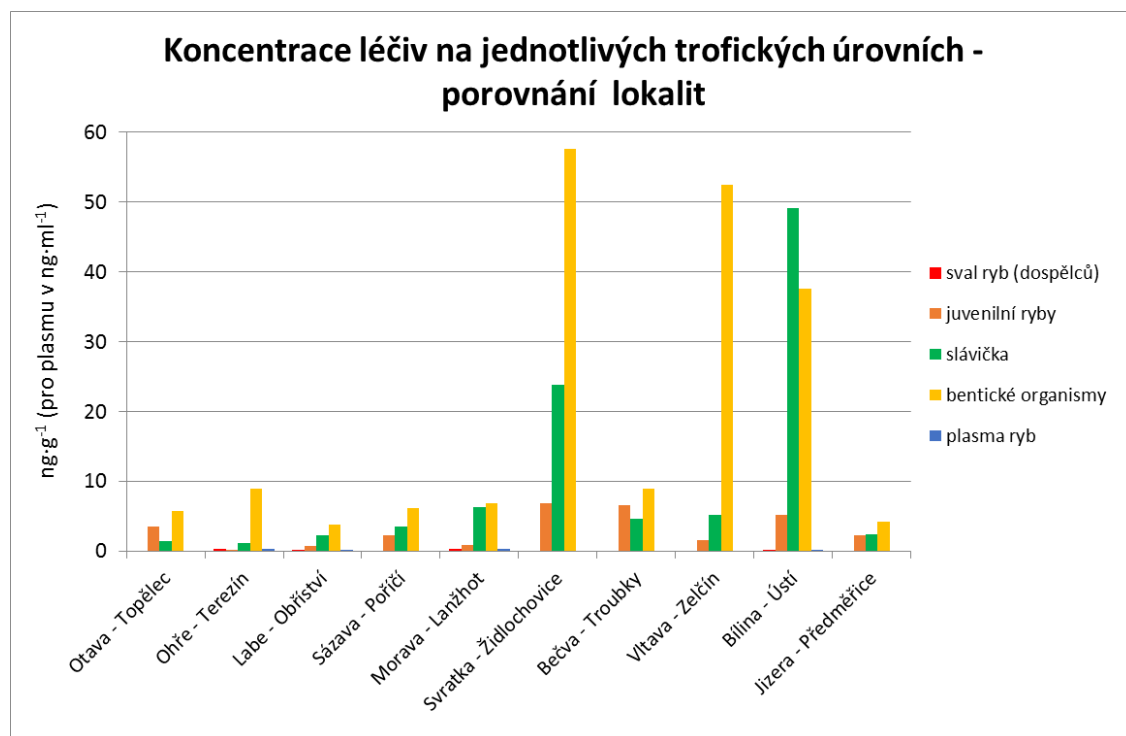
Pro kontrolu správnosti metody využitě pro analýzu vzorků byly dále připraveny vzorky obohacené o nativní standard (fortifikované vzorky, na koncentrační hladině 100 ng·g⁻¹). V tabulce 23 jsou zaznamenána procenta hodnotící správnost metody, čím více se získaná hodnota blíží 100 %, tím je možné s větší jistotou konstatovat, že výsledky jsou správné. Procenta v tabulce se pohybují v rozmezí 65 až 140 %. Podle parametrů pro hodnocení analytických metod daných směrnicí Evropské Unie (2002) je metoda správná, pokud se získaná data pohybují v rozmezí 60 až 140 %.

Tabulka 23: Fortifikované vzorky - výtěžnost metody

léčiva	sval ryb (dospělců)	juvenilní ryby	slávička	bentické organismy	plasma ryb
Cetirizin	101 %	94 %	85 %	135 %	74 %
Citalopram	122 %	123 %	99 %	97 %	83 %
Karbamazepin	93 %	113 %	99 %	103 %	89 %
Klarithromycin	102 %	100 %	89 %	90 %	100 %
Klindamycin	112 %	102 %	109 %	114 %	120 %
Klindamycin sulfoxid	85 %	92 %	95 %	96 %	97 %
Diklofenak	122 %	133 %	99 %	95 %	130 %
Fexofenadin	122 %	95 %	86 %	140 %	79 %
Irbesartan	84 %	113 %	86 %	103 %	86 %
Lamotrigin	79 %	85 %	83 %	114 %	99 %
Metoprolol	112 %	113 %	109 %	114 %	83 %
Metoprololová kyselina	112 %	100 %	109 %	89 %	110 %
N-Desmethylcitalopram	112 %	123 %	109 %	135 %	75 %
O-Desmethylvenlafaxin	94 %	102 %	99 %	75 %	89 %
Sulfamethoxazol	112 %	113 %	109 %	103 %	120 %
Telmisartan	112 %	90 %	84 %	97 %	65 %
Tramadol	92 %	96 %	91 %	91 %	90 %
Trimethoprim	102 %	113 %	98 %	103 %	110 %
Venlafaxin	102 %	113 %	109 %	114 %	94 %
Verapamil	94 %	102 %	90 %	140 %	74 %

4.2 Porovnání celkové koncentrace léčiv mezi lokalitami

Léčiva byla nalezena na všech lokalitách nad mezí kvantifikace alespoň ve třech různých matricích. Graf 2 znázorňuje celkovou míru znečištění na jednotlivých lokalitách udanou v $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (pro plazmu v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$). Na základě výsledků bylo zjištěno, že lokality Otava-Topělec, Ohře-Terezín, Labe-Obříství, Sázava-Poříčí, Morava-Lanžhot a Jizera-Předměrice patří mezi nejméně znečištěné. Z výsledků



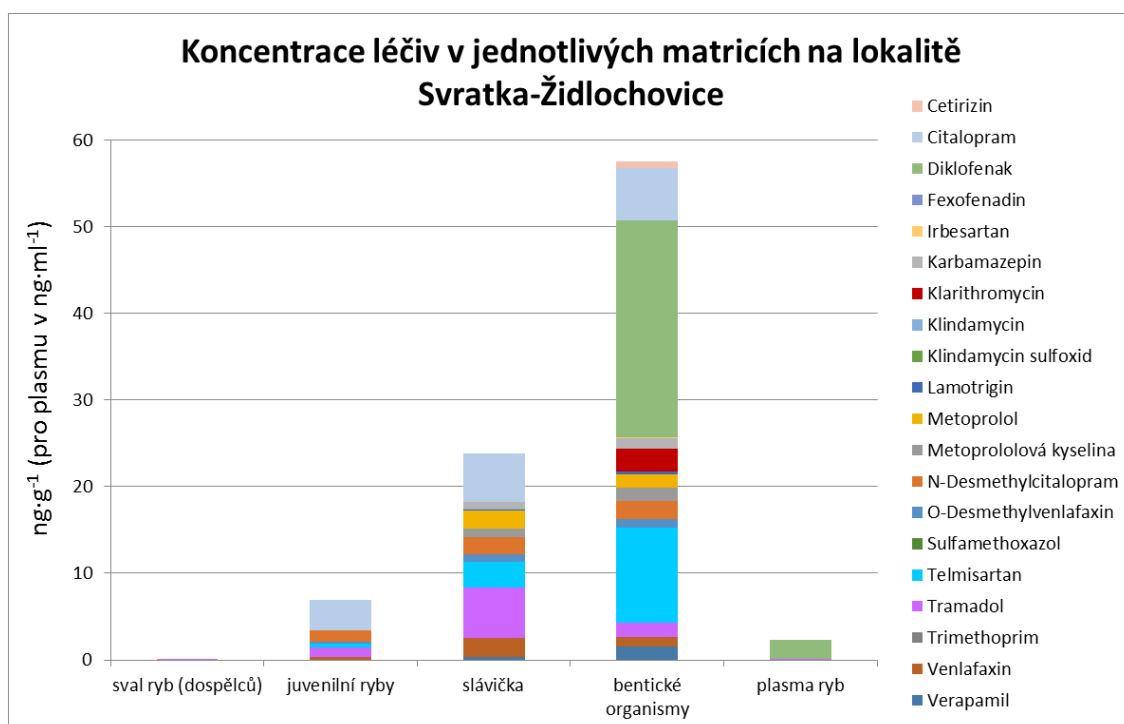
Graf 2: Celková koncentrace léčiv v $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (pro plazmu v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$) na jednotlivých trofických úrovních

vyplývá, že lokality Svratka-Židlochovice a Bílina-Ústí nad Labem jsou nejvíce znečištěné vybranými léčivy, sumy koncentrací všech léčiv ve všech testovaných matricích u obou lokalit přesáhly $90 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Z grafu 2 je patrné, že nejvyšší koncentrace léčiv byly nalezeny v bentických organismech a mlžích (slávičce). Rozdíl v expozici těchto dvou organismů je, že slávička mnohotvárná byla odebrána z referenční lokality (koncentrace všech léčiv ve všech vzorcích z této lokality byly pod mezí kvantifikace) a na sledovaných lokalitách byla exponovaná v klecích pouze po dobu dvou měsíců, zatímco bentické organismy získané pro experiment obývají jednotlivé lokality celý svůj život (viz kapitola 3.2).

Z toho vyplývá, že slávička exponovaná po určitou dobu je vhodným bioindikátorem znečištění farmaky, která se kumulují v biotě.

Graf 3 znázorňuje zastoupení individuálních léčiv v jednotlivých trofických úrovních nejznečištěnější lokality Svratka-Židlochovice. Na této lokalitě se našla léčiva celkově nejvíce v bentických organismech. Suma farmak u bentických organismů činila $58 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. V bentických organismech bylo nalezeno nejvíce diklofenaku o koncentraci $25 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, dále $11 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ telmisartanu, $6,1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ citalopramu a $2,6 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ klarithromycinu. Slávička byla na dalším místě v bioakumulaci léčiv. V mlžích bylo



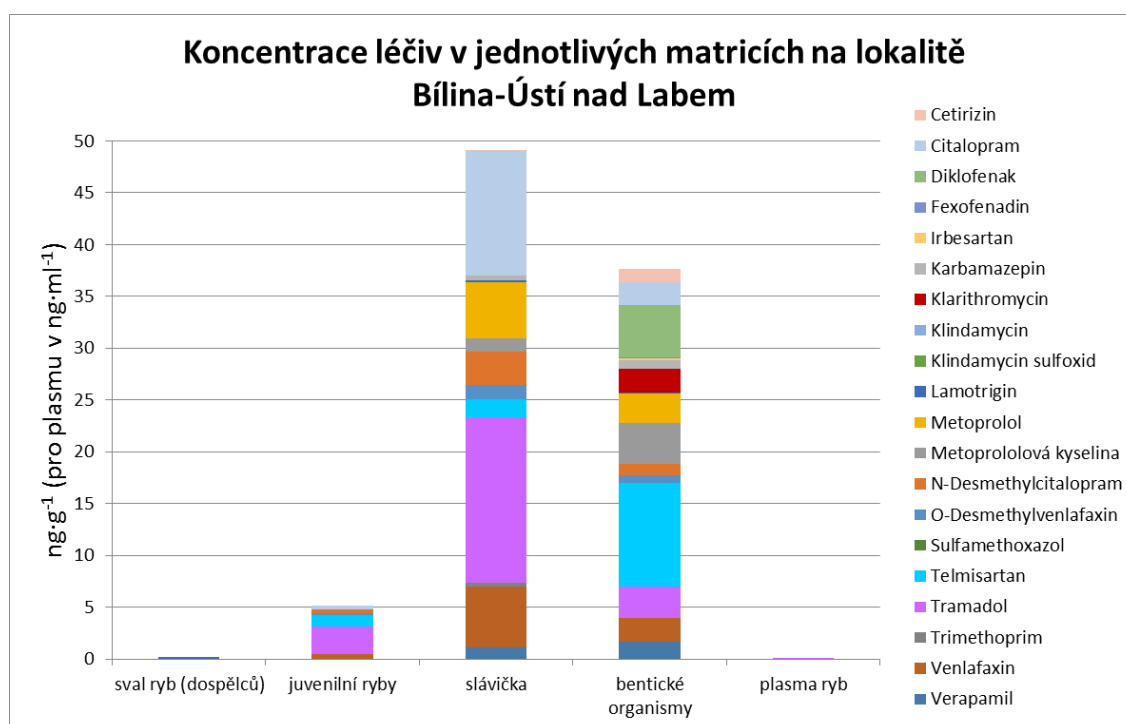
Graf 3: Koncentrace léčiv v $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (pro plasmu v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$) na lokalitě Svratka-Židlochovice

nalezeno nejvíce tramadolu ($5,8 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) a citalopramu ($5,7 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$). Z těchto výsledků vyplývá, že různé organismy bioakumulují různá léčiva, což může odpovídat jejich postavení v potravním řetězci. Největší znečištění na této lokalitě tvořila analgetika v celkové koncentraci všech testovaných matricí $36 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a psychoaktivní léčiva v celkové koncentraci $29 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Řeka Svratka má v odběrové lokalitě průměrný roční průtok $15 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ a protéká našim druhým největším městem Brnem. Do řeky jsou vypouštěny vyčištěné odpadní vody z ČOV Brno, která čistí vodu pro 382000 stálých obyvatel. Malý průtok řeky

nenaradí takto velké znečištění, a proto jsou koncentrace léčiv ve vodních organismech vyšší (viz kapitola 3.2; Grabicová a kol. 2020).

V grafu 4 jsou znázorněny koncentrace druhé nejznečištěnější lokality Bílina-Ústí nad Labem. Na rozdíl od lokality Svratka-Židlochovice byla nejvyšší celková koncentrace léčiv nalezena ve slávičce, a to celkem $49 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, z toho nejvíce $16 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ tramadolu a $12 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ citalopramu. Další místo v bioakumulaci léčiv představovaly bentické organismy, kde byly nejvíce zastoupené telmisartan ($10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$), diklofenak ($5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) a metoprololová kyselina, která byla u tohoto organismu nalezena ve vyšší



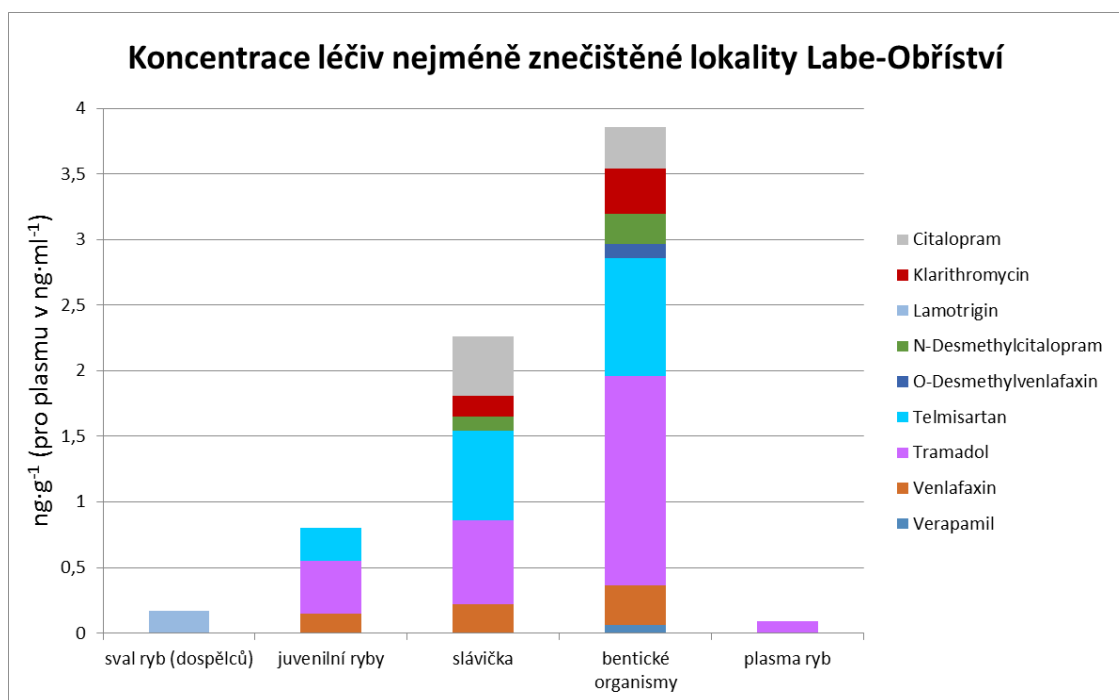
Graf 4: Koncentrace léčiv v $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (pro plasmu v $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$) na lokalitě Bílina-Ústí nad Labem

koncentraci ($4 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) než metoprolol, ze kterého je metabolizována. Největší znečištění na této lokalitě tvořily psychoaktivní léčiva v celkové koncentraci $32 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a kardiovaskulární léčiva v celkové koncentraci $29 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$.

Velké znečištění na řece Bílině může být zapříčiněno tím, že její průtok v místě odběru vzorků pro analýzu činí pouze $7,2 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ a vtéká do ní vyčištěná odpadní voda ze středně velkých měst v celkovém počtu 158000 obyvatel (viz kapitola 3.2; Grabicová a kol. 2020).

Vzhledem k tomu, že řeka Vltava protéká několika velkými městy včetně hlavního města Prahy, dalo by se předpokládat, že znečištění v lokalitě Vltava-Zelčín bude podobné či vyšší než u předchozích dvou nejvíce znečištěných lokalit. Podle koncentrací nalezených v organismech bylo zjištěno, že lokalita Vltava-Zelčín je méně znečištěná. Je to způsobeno tím, že její průtok v této lokalitě je vyšší a činí $152 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, tudíž se vypouštěné vyčištěné odpadní vody v řece naředí (Grabíková a kol. 2020).

Z pohledu výše znečištění ve stanovovaných organismech je nejméně znečištěná lokalita Labe-Obříství. Suma koncentrací farmak na této lokalitě činila pouze $7,2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. Největší znečištění zde tvořila analgetika se zastoupením tramadolu o celkové koncentraci $2,7 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. Suma farmak v jednotlivých trofických úrovních je znázorněna v grafu 5.



Graf 5: Koncentrace léčiv v $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (pro plazmu v $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) na lokalitě Labe-Obříství.

Labe v Obříství protéká několika středně velkými městy, ale v odběrovém místě je průměrný roční průtok $104 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, a vyčištěná odpadní voda je tedy dostatečně naředěna a koncentrace vybraných léčiv v analyzovaných organismech je nižší (viz kapitola 3.2). Podobně jako u ryb (Grabíková a kol., 2020), koncentrace farmak v ostatních bioindikátorech odpovídá naředění odpadních vod recipientem. Lokality s vyšším naředěním vyčištěné odpadní vody tedy vykazují nižší koncentrace léčiv v biotě. V této

práci je jasný rozdíl mezi třemi zatíženými lokalitami Svratka-Židlochovice, Bílina-Ústí nad Labem a Vltava-Zelčín a zbytkem odběrových míst, kde byly nalezeny podobné koncentrace jako v Labi-Obříství.

4.3 Výskyt léčiv v jednotlivých organismech

Koncentrace léčiv ve vodních organismech se mohou lišit na základě přijímané potravy. Wetzel (2001) zpřehlednil potravní řetězec vodních organismů. Pijavice (*Hirudinea*) jsou buďto ektoparazité a živí se tudíž krví a tělní tekutinou obratlovců nebo mohou být dravé a živit se bezobratlými organismy. Larvy chrostíků (*Trichoptera*) mohou být dravé, rostlinožravé, všežravé nebo detritofágové. Sladkovodní mlži, jako je například slávička, filtrují převážně fytoplankton. Potrava ryb se liší, filtrují zooplankton (například juvenilní ryby), živí se bentickými organismy nebo jsou dravé. Některé druhy ryb jsou omnivorové, například jelec tloušť (Dauba a kol., 1997). Pijavice a chrostíci mohou tvořit potravu ryb (Hellman a kol., 2013).

V tabulce 24 jsou uvedeny hodnoty mediánu koncentrací léčiv v jednotlivých biologických maticích ve všech lokalitách, koncentrace léčiv jsou uvedeny v přílohách 1 až 5. Zohledňuje bioakumulaci léčiv u zástupců jednotlivých trofických úrovní testovaných organismů. Nejvyšší koncentrace léčiv v sumě na všech sledovaných lokalitách byly nalezeny v bentických organismech. Celková koncentrace byla vyšší než $190 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Další organismus, ve kterém bylo nalezeno nejvíce léčiv byla slávička mnohotvárná, v sumě přes $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ léčiv.

Tabulka 24: Medián koncentrací léčiv všech lokalit v jednotlivých maticích (jednotky v ng·g⁻¹, plasma ng·l⁻¹)

léčiva	matrice	sval	juvenilní ryby	slávička	bentické organismy	plasma
Antibiotika						
Klarithromycin		0,21±0,02 (20 %)	0,36 (10 %)	0,24±0,068 (50 %)	0,85±1,3 (80 %)	<LOQ
Klindamycin		<LOQ	<LOQ	0,037±0,023 (30 %)	0,25 (10 %)	<LOQ
Klindamycin sulfoxid		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Sulfamethoxazol		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Trimethoprim		<LOQ	<LOQ	0,36 (10 %)	1,2 (10 %)	<LOQ
Psychoaktivní léčiva						
Citalopram		<LOQ	0,74±1,1 (70 %)	0,65±3,79 (100 %)	0,37±1,9 (100 %)	<LOQ
N-Desmethylocitalopram		<LOQ	0,33±0,36 (80 %)	0,36±1,1 (90 %)	0,41±0,69 (90 %)	<LOQ
Karbamazepin		<LOQ	<LOQ	0,46±0,18 (30 %)	0,61±0,45 (40 %)	<LOQ
Lamotrigin		0,074±0,051 (50 %)	<LOQ	0,18±0,007 (20 %)	0,27±0,15 (30 %)	0,16 (10 %)
Venlafaxin		<LOQ	0,28±0,18 (80 %)	0,31±1,9 (90 %)	0,26±0,71 (100 %)	<LOQ
O-Desmethylvenlafaxin		<LOQ	0,24±0,05 (40 %)	0,18±0,51 (70 %)	0,43±0,54 (60 %)	0,026±0 (20 %)
Antihistaminika						
Cetirizin		<LOQ	<LOQ	0,10 (10 %)	0,47±0,53 (40 %)	<LOQ
Fexofenadin		<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,14 (10 %)	<LOQ
Analgetika						
Diklofenak		<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,9±11 (40 %)	2,3 (10 %)
Tramadol		0,11±0,01 (30 %)	0,96±0,80 (100 %)	0,83±4,9 (100 %)	1,2±1,2 (80 %)	0,081±0,008 (90 %)
Kardiovaskulární léčiva						
Irbesartan		<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12±0,02 (30 %)	<LOQ
Metoprolol		<LOQ	<LOQ	3,8±2,3 (20 %)	2,2±0,92 (20 %)	<LOQ

Metoprololová kyselina	<LOQ	<LOQ	1,1±0,28 (20 %)	1,3±1,2 (70 %)	<LOQ
Telmisartan	<LOQ	0,40±0,81 (70 %)	1,05±0,90 (100 %)	4,2±9,1 (100 %)	<LOQ
Verapamil	<LOQ	0,12 (10 %)	0,31±0,48 (30 %)	0,29±0,92 (80 %)	<LOQ

Medián±směrodatná odchylka [$\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$; plasma $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$], <LOQ = pod limitem kvantifikace. Čísla v závorce uvádějí četnost léčiva v matrici, tzn. počet pozitivních nálezů ku počtu všech vzorků [%].

Nejvyšší koncentrace antibiotik byly nalezeny v bentických organismech, především klarithromycin. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky publikované studie, kde byl klarithromycin nalezen v larvách chrostíků v koncentraci $3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Grabicová a kol., 2015). Klarithromycin byl také nalezen ve slávičce v rozmezí koncentrací $0,16\text{-}0,35 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Ve studii de Solla a kol. (2016) byl klarithromycin nalezen ve sladkovodním mlži z čeledi velevrubovití *Lasmigona costata* z kanadské řeky ovlivněné vyčištěnou odpadní vodou z ČOV v koncentraci až $9,0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, což je řádově vyšší koncentrace než ve sledovaných slávičkách. Klindamycin byl nalezen pouze v nízkých koncentracích v bentických organismech a slávičce, a jeho metabolit klindamycin sulfoxid nebyl v žádném organismu nalezen nad mezí kvantifikace. Trimethoprim se vyskytoval pouze v jenom případě v bentosu a jednom případě ve slávičce, oba druhy z lokality Bílina-Ústí nad Labem. Tato pozorování souhlasí s výsledky studie v bentických organismech ze švédského rybníka (Lagesson a kol., 2016).

Psychoaktivní léčiva byla nalezena v nejvyšších koncentracích ve slávičce a bentických organismech. Nejvíce zastoupený byl citalopram, kde četnost výskytu byla 100 % ve slávičce i bentických organismech a 70 % v juvenilních rybách. Jeho střední hodnota byla vyšší ve slávičce. I jeho metabolit N-Desmethylcitalopram byl detekován ve výše zmíněných matricích s četností 90 % ve slávičce a bentosu a 80 % v juvenilních rybách. U obou těchto látek byla střední hodnota menší než směrodatná odchylka, což značí velký rozptyl koncentrací mezi jednotlivými odběrovými lokalitami. Citalopram byl dříve nalezen ve vodních organismech pocházejících z lokality ovlivněné vyčištěnou odpadní vodou, v larvách chrostíků ($6,1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, Grabicová a kol., 2015) a ve sladkovodním mlži ($37 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, de Solla a kol., 2016). Dalším nalezeným antidepresivem byl venlafaxin. Četnost výskytu klesala v pořadí bentické organismy (100 %), slávička

(90 %) a juvenilní ryby (80 %). Jeho maximální koncentrace $5,9 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ byla nalezena ve slávičce z lokality Bílina-Ústí nad Labem a odpovídá nižším koncentracím, které byly nalezeny ve sladkovodních mlžích ($4,6\text{--}25 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$, de Solla a kol., 2016). Antiepileptika karbamazepin a lamotrigin byly nalezeny s relativně nízkou četností v bentosu a slávičce s maximální koncentrací pro karbamazepin $1,2 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a lamotrigin $0,27 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Karbamazepin nebyl nalezen nad mezí kvantifikace ani v juvenilních rybách, ani v plazmě a svalu dospělých ryb. Tyto výsledky jsou v rozporu se studií ze Spojených států amerických, kde byl karbamazepin nalezen ve svalu ryb v průměrné koncentraci $2,3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Ramirez a kol., 2009).

V porovnání s ostatními léčivy byla antihistaminika nalezena s nižší četností, převážně v bentických organismech. Fexofenadin byl nalezen v jediné matrici (bentosu) na lokalitě Bílina-Ústí nad Labem v relativně nízké koncentraci $0,14 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Jeho nízké koncentrace v biotě byly potvrzené i z lokality Živný potok, kde nebyl nalezen ani v larvách chrostíků, ani v pijavkách (Grabicová a kol., 2015).

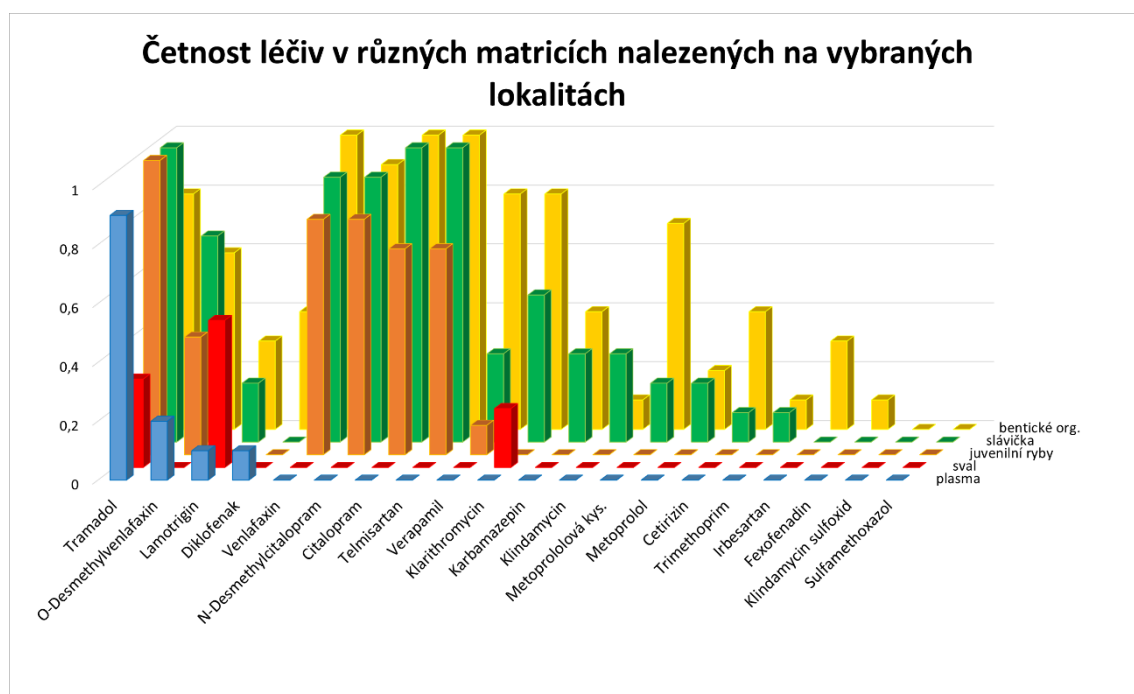
Analgetika byla nalezena v největších koncentracích v bentických organismech. Analgetikum tramadol bylo nalezeno ve všech matricích. Střední hodnota koncentrace byla nejvyšší ve slávičce ($1,2 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) následovaná hodnotou v juvenilních rybách ($0,96 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) a v bentických organismech ($0,83 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$). Hodnoty v dospělých jelcích tlouštích byly nižší, ve svalu $0,11 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ s četností výskytu 30 % a v plazmě $0,081 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ (90 %). Směrodatná odchylka byla vysoká, což opět znamená vysoce rozdílné koncentrace mezi lokalitami. Analgetikum diklofenak bylo nalezeno pouze v bentických organismech s relativně nízkou četností výskytu (pouze ve vzorcích ze čtyř lokalit). Koncentrace pozitivně nalezeného diklofenaku byly různé v závislosti na odběrovém místě v rozmezí $1,3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Vltava-Zelčín) až $25 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Svratka-Židlochovice). Jeho koncentrace v hltanovkách bahenních (*Erpobdella octoculata*) ze Živného potoka dosahovala $30 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Grabicová a kol., 2015), což je v souladu s našimi výsledky z více znečištěných lokalit.

Poslední terapeutickou skupinou, na kterou byla tato práce zaměřena, jsou kardiovaskulární léčiva. Telmisartan, používaný k léčbě vysokého krevního tlaku a srdečního selhání, byl kardiovaskulárním léčivem s nejvyšší střední hodnotou koncentrace a s nejvyšší četností výskytu. V bentických organismech byla jeho střední

hodnota $4,2 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ se 100% četností výskytu, hodnoty se vyskytovaly v rozmezí $0,67 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Otava-Topělec) až $31 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Vltava-Zelčín). Ve slávičce byla nejnižší koncentrace $0,24 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Jizera-Předměřice) a nejvyšší koncentrace $3,0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Svratka-Židlochovice). Irbesartan byl nalezen pouze u bentických organismů v nízkých koncentracích se střední hodnotou $0,12 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ a 30% četností výskytu. Metoprolol byl nalezen pouze v bentosu a slávičce spolu s jeho metabolitem metoprololovou kyselinou, která byla v bentických organismech nalezena dokonce vícekrát než metoprolol. Na rozdíl od kaprů z rybníka (Grabicová a kol., 2018), v plasmě ani svalu tlouště z této studie nebyl metoprolol ani jeho metabolit přítomen. Verapamil byl nalezen v 80 % lokalit ve vzorcích bentosu, jeho koncentrace odpovídala koncentracím nalezeným v larvách chrostíků z Živného potoka (Grabicová a kol., 2015) a sladkovodních mlžích z kanadské řeky (de Solla a kol., 2016).

Ve svalech ryb byly nalezeny výrazně nižší koncentrace léčiv než v ostatních organismech. Pouze tři z dvaceti vybraných léčiv byla nad mezí kvantifikace (antibiotikum klarithromycin, antiepileptikum lamotrigin a analgetikum tramadol). Koncentrace léčiv v dospělých jedincích jelce tlouště (jak ve svalu, tak v plasmě) byla nejnižší v porovnání s ostatními sledovanými organismy.

V grafu 6 je znázorněna četnost výskytu léčiv v jednotlivých maticích na sledovaných lokalitách. Nejvíce léčiv bylo nalezeno v bentických organismech, celkem 18 z 20, z toho 3 léčiva byla nalezená na všech lokalitách, a to antidepressiva citalopram a venlafaxin a kardiovaskulární léčivo telmisartan. Ve slávičce mnohotvárné bylo nalezeno celkem 15 léčiv z 20, z toho 3 léčiva na všech lokalitách. Kromě citalopramu a venlafaxinu i tramadol, který byl jako jediný nalezen ve všech maticích. Ve slávičce a juvenilních rybách na všech lokalitách, v plasmě byl nalezen tramadol na 9 lokalitách, v bentosu na 8 a svalu ve 3 z 10 sledovaných. V juvenilních rybách bylo nalezeno 7 léčiv z 20. Sulfamethoxazol a klindamycin sulfoxid nebyly nalezeny v žádné matici a na žádné lokalitě.



Graf 6: Četnost léčiv v maticích na sledovaných lokalitách (celkem z 10 lokalit)

5 Závěr

Cílem této práce bylo stanovení koncentrace dvaceti vybraných léčiv a jejich metabolitů pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií a následné posouzení jejich výskytu (bioakumulace) v organismech na různých trofických úrovních. Bylo vybráno deset lokalit významných toků v České republice, které spadají do každoročního monitoringu ČHMÚ. Sledováno bylo pět různých typů matric – plasma a sval dospělců jelce tlouště (*Squalius cephalus*), slávička mnohotvárná (*Dreissena polymorpha*), bentické organismy a juvenilní ryby.

Z výsledků vyplývá, jaká léčiva se kumulují v jednotlivých organismech a jaké lokality jsou méně či více znečištěné vybranými léčivy. Léčiva byla nalezena na všech lokalitách v koncentracích nad mezí kvantifikace, alespoň ve třech různých matricích. Nejvyšší koncentrace léčiv byly nalezeny v bentických organismech a slávičce. Nejvyšší počet léčiv byl nalezen v bentických organismech, celkem 18 z 20, z toho 3 léčiva byla nalezená na všech lokalitách (antidepresiva citalopram a venlafaxin a kardiovaskulární léčivo telmisartan). Léčivo tramadol bylo jako jediné nalezeno ve všech sledovaných matricích. Mezi nejvíce znečištěné lokality patří Bílina-Ústí nad Labem a Svratka-Židlochovice. Výsledky této práce poukázaly na to, že nařazení vypouštěné odpadní vody z ČOV vede k nižším koncentracím léčiv ve vodních organismech. Výsledky také ukazují, že v jednotlivých vodních organismech se kumulují rozdílná léčiva.

Na základě vyšší četnosti výskytu léčiv a vyšších nalezených koncentrací v bentických organismech a slávičce je možné konstatovat, že nižší trofické úrovně jsou lepšími bioindikátory pro sledování výskytu léčiv ve vodním prostředí.

Vzhledem k potvrzeným koncentracím vybraných léčiv ve vodních organismech, je vhodné nadále pokračovat ve výzkumech, kdy a jak dochází k jejich ovlivnění. Tyto vlivy mohou narušit nejen skupinu konkrétních organismů, ale i další trofické úrovně, a tímto může být narušen celý vodní ekosystém.

Přehled použité literatury

- aus der Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., & Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 823–835.
- Bírošová, L., Lépesová, K., Grabic, R., & Mackuřak, T. (2020). Non-antimicrobial pharmaceuticals can affect the development of antibiotic resistance in hospital wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Bláha, M., Grabicova, K., Shaliutina, O., Kubec, J., Randák, T., Zlabek, V., Buřič, M., & Veselý, L. (2019). Foraging behaviour of top predators mediated by pollution of psychoactive pharmaceuticals and effects on ecosystem stability. *Science of the Total Environment*, 662, 655–661
- Bolin, K., Berggren, F., Berling, P., Morberg, S., Gauffin, H., & Landtblom, A. M. (2017). Patterns of antiepileptic drug prescription in Sweden: A register-based approach. *Acta Neurologica Scandinavica*, 136(5), 521–527.
- Boxall, A. B. A., Rudd, M. A., Brooks, B. W., Caldwell, D. J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J. P., Verslycke, T., Ankley, G. T., Beazley, K. F., Belanger, S. E., Berninger, J. P., Carriquiriborde, P., Coors, A., DeLeo, P. C., Dyer, S. D., Ericson, J. F., ... Van Der Kraak, G. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, 120(9), 1221–1229.
- Brooks, B. W., Chambliss, C. K., Stanley, J. K., Ramirez, A., Banks, K. E., Johnson, R. D., & Lewis, R. J. (2005). Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(2), 464–469.
- Buřič, M., Grabicová, K., Kubec, J., Kouba, A., Kuklina, I., Kozák, P., Grabic, R., & Randák, T. (2018). Environmentally relevant concentrations of tramadol and citalopram alter behaviour of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology*, 200(April), 226–232.
- Castro, G., Rodríguez, I., Ramil, M., & Cela, R. (2019). Selective determination of sartan drugs in environmental water samples by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, 224, 562–571.
- Cunha, D. L., de Araujo, F. G., & Marques, M. (2017). Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(31), 24076–24091.
- Dauba, F., Lek, S., Mastrorillo, S., & Copp, G. H. (1997). Long-term recovery of macrobenthos and fish assemblages after water pollution abatement measures in the River Petite Baise (France). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 33(3), 277–285.
- de Solla, S. R., Gilroy, A. M., Klinck, J. S., King, L. E., McInnis, R., Struger, J., Backus, S. M., & Gillis, P. L. (2016). Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Lasmigona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere*, 146, 486–496.

- Fáberová, M., Bodík, I., Ivanová, L., Grabic, R., & Mackuľak, T. (2017). Frequency and use of pharmaceuticals in selected Slovakian town via wastewater analysis. *Monatshefte Fur Chemie*, 148(3), 441–448.
- Fick, J., Lindberg, R. H., Tysklind, M., & Larsson, D. G. J. (2010). Predicted critical environmental concentrations for 500 pharmaceuticals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58(3), 516–523.
- Fursdon, J. B., Martin, J. M., Bertram, M. G., Lehtonen, T. K., & Wong, B. B. M. (2019). The pharmaceutical pollutant fluoxetine alters reproductive behaviour in a fish independent of predation risk. *Science of the Total Environment*, 650, 642–652.
- Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., & Grabic, R. (2014a). Removal and seasonal variability of selected analgesics/anti-inflammatory, anti-hypertensive/cardiovascular pharmaceuticals and UV filters in wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(12), 7578–7585.
- Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., & Grabic, R. (2014b). Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 111, 418–426.
- Grabicová, K., Lindberg, R. H., Östman, M., Grabic, R., Randak, T., Joakim Larsson, D. G., & Fick, J. (2014). Tissue-specific bioconcentration of antidepressants in fish exposed to effluent from a municipal sewage treatment plant. *Science of the Total Environment*, 488–489(1), 46–50.
- Grabicová, K., Grabic, R., Blaha, M., Kumar, V., Cerveny, D., Fedorova, G., & Randak, T. (2015). Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant. *Water Research*, 72, 145–153.
- Grabicová, K., Grabic, R., Fedorova, G., Fick, J., Cerveny, D., Kolarova, J., Turek, J., Zlabek, V., & Randak, T. (2017). Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream. *Water Research*, 124, 654–662.
- Grabicová, K., Vojs Staňová, A., Koba Učun, O., Borik, A., Randak, 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.
- Grabicová, K., Grabic, R., Fedorova, G., Kolářová, J., Turek, J., Brooks, B. W., & Randák, T. (2020). Psychoactive pharmaceuticals in aquatic systems: a comparative assessment of environmental monitoring approaches for water and fish. *Environmental Pollution*, 261.
- Gruchlik, Y., Linge, K., & Joll, C. (2018). Removal of organic micropollutants in waste stabilisation ponds: a review. *Journal of Environmental Management*, 206, 202–214.
- Guo, W., Hossain, M. S., Kubec, J., Grabicová, K., Randák, T., Buřič, M., & Kouba, A. (2020). Psychoactive compounds at environmental concentration alter burrowing behavior in the freshwater crayfish. *Science of the Total Environment*, 711, 0–3.

- Hellmann, C., Wissel, B., & Winkelmann, C. (2013). Omnivores as seasonally important predators in a stream food web 1. *Freshwater Science*, 32(2), 548–562.
- Hossain, M. S., Kubec, J., Grabicová, K., Grabic, R., Randák, T., Guo, W., Kouba, A., & Buřič, M. (2019). Environmentally relevant concentrations of methamphetamine and sertraline modify the behavior and life history traits of an aquatic invertebrate. *Aquatic Toxicology*, 213(February).
- Jjemba, Patrick K., 2008. *Pharma-ecology: the occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in the environment*. Hoboken, N.J.: John Wiley, 314 s., ISBN 978-0-470-04630-2.
- Khetan, S. K., & Collins, T. J. (2007). Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. *Chemical Reviews*, 107(6), 2319–2364.
- Koba, O., Grabicova, K., Cervený, D., Turek, J., Kolarova, J., Randak, T., Zlabek, V., & Grabic, R. (2018). Transport of pharmaceuticals and their metabolites between water and sediments as a further potential exposure for aquatic organisms. *Journal of Hazardous Materials*, 342, 401–407.
- Kubec, J., Hossain, M. S., Grabicová, K., Randák, T., Kouba, A., Grabic, R., Roje, S., & Buřič, M. (2019). Oxazepam alters the behavior of crayfish at diluted concentrations, venlafaxine does not. *Water (Switzerland)*, 11(2).
- Lagesson, A., Fahlman, J., Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M., Byström, P., & Klaminder, J. (2016). Bioaccumulation of five pharmaceuticals at multiple trophic levels in an aquatic food web - Insights from a field experiment. *Science of the Total Environment*, 568, 208.
- Näslund, J., Fick, J., Asker, N., Ekman, E., Larsson, D. G. J., & Norrgren, L. (2017). Diclofenac affects kidney histology in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) at low Mg/L concentrations. *Aquatic Toxicology*, 189(April), 87–96.
- Ramirez, A. J., Brain, R. A., Usenko, S., Mottaleb, M. A., O'Donnell, J. G., Stahl, L. L., Wathen, J. B., Snyder, B. D., Pitt, J. L., Perez-Hurtado, P., Dobbins, L. L., Brooks, B. W., & Chambliss, C. K. (2009). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: Results of a national pilot study in the United States. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2587–2597.
- Rehrl, A. L., Golovko, O., Ahrens, L., & Köhler, S. (2020). Spatial and seasonal trends of organic micropollutants in Sweden's most important drinking water reservoir. *Chemosphere*, 249, 1–9.
- Saaristo, M., Brodin, T., Balshine, S., Bertram, M. G., Brooks, B. W., Ehlman, S. M., McCallum, E. S., Sih, A., Sundin, J., Wong, B. B. M., & Arnold, K. E. (2018). Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behaviour, ecology and evolution of wildlife. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1885).
- Sackerman, J., Donegan, J. J., Cunningham, C. S., Nguyen, N. N., Lawless, K., Long, A., Benno, R. H., & Gould, G. G. (2010). Zebrafish Behavior in Novel Environments: Effects of Acute Exposure to Anxiolytic Compounds and Choice of *Danio rerio* Line. *International journal of comparative psychology*, 23(1), 43–61.

- Sancho Santos, M. E., Grabicová, K., Steinbach, C., Schmidt-Posthaus, H., Šálková, E., Kolářová, J., Vojs Staňová, A., Grabic, R., & Randák, T. (2020). Environmental concentration of methamphetamine induces pathological changes in brown trout (*Salmo trutta fario*). *Chemosphere*, 254, 126882.
- Sehonova, P., Svobodova, Z., Dolezelova, P., Vosmerova, P., & Faggio, C. (2018). Effects of waterborne antidepressants on non-target animals living in the aquatic environment: a review. *Science of The Total Environment*, 631-632, 789–794.
- Szabová, P., Hencelová, K., Sameliaková, Z., Marcová, T., Staňová, A. V., Grabicová, K., & Bodík, I. (2020). Ozonation: effective way for removal of pharmaceuticals from wastewater. *Monatshefte Fur Chemie*.
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. *Science of the Total Environment*, 429, 123–155.
- Vieno, N., Tuhkanen, T., & Kronberg, L. (2007a). Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Research*, 41(5), 1001–1012.
- Vieno, N. M., Härkki, H., Tuhkanen, T., & Kronberg, L. (2007b). Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environmental Science and Technology*, 41(14), 5077–5084.
- Wang, Y., Liu, Y., Lu, S., Liu, X., Meng, Y., Zhang, G., Zhang, Y., Wang, W., & Guo, X. (2019). Occurrence and ecological risk of pharmaceutical and personal care products in surface water of the Dongting Lake, China-during rainstorm period. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(28), 28796–28807.
- Wetzel, R. G. 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. Third edition. San Diego: Academic Press, an imprint of Elsevier. ISBN 0-12-744760-1.
- Xie, Z., & Lu, G. (2019). Interactive effects of sertraline and diphenhydramine on biochemical and behavioral responses in crucian carp (*Carassius auratus*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(17).
- Yang, Y., Ok, Y. S., Kim, K. H., Kwon, E. E., & Tsang, Y. F. (2017). Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: a review. *Science of the Total Environment*, 596–597, 303–320.
- Zhang, R., Yu, K., Li, A., Wang, Y., Pan, C., & Huang, X. (2020). Antibiotics in coral reef fishes from the South China Sea: Occurrence, distribution, bioaccumulation, and dietary exposure risk to human. *Science of the Total Environment*, 704.

Přehled použitých webových stránek

European Commission: Updated surface water Watch List adopted by the Commission [online]. European Union: European Commission, 2018 [cit. 2020-02-13]. Dostupné z: <https://ec.europa.eu/jrc/en/science-update/updated-surface-water-watch-list-adopted-commission>.

Evropská unie (2002). Úřední věstník Evropské unie, L 221/8, 17.8.2002, 03/sv. 36, 493–521. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02002D0657-20040110>

ChemSpider: Search and share chemistry [online]. London: Royal Society of Chemistry, 2020 [cit. 2020-02-11]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com>.

PubChem [online]. Bethesda, Maryland: National Center for Biotechnology Information, 2020 [cit. 2020-02-11]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Státní ústav pro kontrolu léčiv: Dodávky léčiv - se zaměřením na léčivé látky [online]. Praha: SÚKL, 2010–2020 [cit. 2020-02-01]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/dodavky-leciv-se-zamerenim-na-lecive-latky/>.

Seznam zkratek

ACN	acetonitril
ČHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
ČOV	čistírna odpadních vod
HPLC-HRMS	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
ISP	isopropanol
SSRI	selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu
SNRI	inhibitor zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu

Přílohy

Příloha 1: Koncentrace léčiv ve svalu dospělých ryb jelce tlušťě (*Squalius cephalus*) na jednotlivých lokalitách [$\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$].

léčivo/lokalita	Otava-Topělec	Ohře-Terezín	Labe-Obříství	Sázava-Poříčí	Morava-Lanžhot	Svratka-Židlochovice	Bečva-Troubky	Vltava-Zelčín	Bílina-Ústí	Jizera-Předměříce
Cetirizin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Citalopram	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Diklofenak	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fexofenadin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Irbesartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Karbamazepin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klarithromycin	<LOQ	0,22	<LOQ	<LOQ	0,19	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin sulfoxid	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Lamotrigin	0,074	0,074	0,17	0,071	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,16	<LOQ
Metoprolol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Metoprololová kyselina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
N-Desmethycitalopram	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
O-Desmethylvenlafaxin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Sulfamethoxazol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Telmisartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Tramadol	<LOQ	0,11	<LOQ	<LOQ	0,12	0,11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Trimethoprim	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Venlafaxin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Verapamil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ = hodnoty pod mezí kvantifikace

Příloha 2: Koncentrace léčiv v juvenilních rybách na jednotlivých lokalitách [ng·g⁻¹].

léčivo/lokalita	Otava-Topělec	Ohře-Terezín	Labe-Obříství	Sázava-Poříčí	Morava-Lanžhot	Svratka-Židlochovice	Bečva-Troubky	Vltava-Zelčín	Bílina-Ústí	Jizera-Předměřice
Cetirizin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Citalopram	0,55	<LOQ	<LOQ	0,88	<LOQ	3,5	0,81	0,74	0,43	0,38
Diklofenak	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fexofenadin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Irbesartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Karbamazepin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klarithromycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,36	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin sulfoxid	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Lamotrigin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Metoprolol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Metoprololová kyselina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
N-Desmethylocitalopram	0,57	<LOQ	<LOQ	0,22	0,22	1,3	0,3	0,32	0,33	0,37
O-Desmethylvenlafaxin	0,27	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,25	<LOQ	0,16	0,22	<LOQ
Sulfamethoxazol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Telmisartan	0,14	<LOQ	0,25	<LOQ	0,17	0,49	2,4	<LOQ	1,1	0,4
Tramadol	1,3	0,26	0,40	1,0	0,47	1,1	2,2	0,26	2,6	0,91
Trimethoprim	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Venlafaxin	0,66	<LOQ	0,15	0,25	<LOQ	0,3	0,37	0,13	0,51	0,24
Verapamil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ = hodnoty pod mezí kvantifikace

Příloha 3: Koncentrace léčiv ve slávičce mnohotvárné (*Dreissena polymorpha*) na jednotlivých lokalitách [$\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$].

léčivo/lokalita	referenční	Otava-Topělec	Ohře-Terezín	Labe-Obříví	Sázava-Poříčí	Morava-Lanžhot	Svratka-Židlochovice	Bečva-Troubky	Vltava-Zelčín	Bílina-Ústí	Jizera-Předměřice
Cetirizin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,1	<LOQ
Citalopram	<LOQ	0,37	0,14	0,45	0,83	0,78	5,7	0,45	1,4	12	0,51
Diklofenak	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fexofenadin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Irbesartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Karbamazepin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,37	0,72	<LOQ	<LOQ	0,46	<LOQ
Klarithromycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,16	0,35	0,25	<LOQ	0,24	<LOQ	<LOQ	0,23
Klindamycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,076	<LOQ	<LOQ	0,034	0,037
Klindamycin sulfoxid	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Lamotrigin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,17	<LOQ	<LOQ	0,18	<LOQ
Metoprolol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,1	<LOQ	<LOQ	5,4	<LOQ
Metoprololová kyselina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,9	<LOQ	<LOQ	1,3	<LOQ
N-Desmethylcitalopram	<LOQ	0,14	<LOQ	0,11	0,36	0,45	2	0,17	0,46	3,2	0,12
O-Desmethylvenlafaxin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,11	0,13	0,9	0,24	0,18	1,4	0,14
Sulfamethoxazol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Telmisartan	<LOQ	0,64	0,15	0,68	1	2	3	1,1	1,9	1,7	0,24
Tramadol	<LOQ	0,36	0,69	0,64	0,73	1,9	5,8	2,1	0,59	16	0,92
Trimethoprim	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,36	<LOQ
Venlafaxin	<LOQ	<LOQ	0,17	0,22	0,24	0,43	2,2	0,31	0,43	5,9	0,27
Verapamil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,31	<LOQ	0,24	1,1	<LOQ

<LOQ = hodnoty pod mezí kvantifikace

Příloha 4: Koncentrace léčiv v bentických organismech (především *Hydropsyche* sp.) na jednotlivých lokalitách [ng·g⁻¹].

léčivo/lokality	Otava-Topělec	Ohře-Terezín	Labe-Obříví	Sázava-Poříčí	Morava-Lanžhot	Svratka-Židlochovice	Bečva-Troubky	Vltava-Zelčín	Bílina-Ústí	Jizera-Předměřice
Cetirizin	<LOQ	0,17	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,73	<LOQ	0,21	1,3	<LOQ
Citalopram	0,13	0,35	0,32	0,38	0,18	6,1	0,31	2,8	2,2	0,38
Diklofenak	4,8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	25	<LOQ	1,3	5	<LOQ
Fexofenadin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,14	<LOQ
Irbesartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12	<LOQ	0,12	0,15	<LOQ
Karbamazepin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,2	<LOQ	0,38	0,84	0,22
Klarithromycin	<LOQ	0,76	0,34	0,94	0,52	2,6	<LOQ	3,9	2,3	0,29
Klindamycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,25	<LOQ	<LOQ
Klindamycin sulfoxid	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Lamotrigin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,4	<LOQ	0,27	0,11	<LOQ
Metoprolol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,5	<LOQ	<LOQ	2,8	<LOQ
Metoprololová kyselina	<LOQ	2,7	<LOQ	1,3	<LOQ	1,6	1,3	0,89	4	0,7
N-Desmethylocitalopram	<LOQ	0,41	0,23	0,86	0,3	2	0,25	1,8	1,1	0,28
O-Desmethylvenlafaxin	<LOQ	<LOQ	0,11	<LOQ	0,14	0,99	0,14	1,4	0,72	<LOQ
Sulfamethoxazol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Telmisartan	0,67	3,8	0,9	2,3	4,5	11	5,7	31	10	2,1
Tramadol	<LOQ	0,29	1,6	0,29	0,79	1,7	0,72	3,3	3	<LOQ
Trimethoprim	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,2	<LOQ	<LOQ
Venlafaxin	0,16	0,22	0,3	0,16	0,20	1,1	0,32	1,1	2,3	0,12
Verapamil	<LOQ	0,28	0,06	<LOQ	0,27	1,5	0,3	2,5	1,7	0,15

<LOQ = hodnoty pod mezí kvantifikace

Příloha 5: Koncentrace léčiv v plasmě dospělých ryb jelce tlouště (*Squalius cephalus*) na jednotlivých lokalitách [ng·ml⁻¹].

léčivo/lokalita	Otava-Topělec	Ohře-Terezín	Labe-Obříví	Sázava-Poříčí	Morava-Lanžhot	Svratka-Židlochovice	Bečva-Troubky	Vltava-Zelčín	Bílina-Ústí	Jizera-Předměrice
Cetirizin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Citalopram	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Diklofenak	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fexofenadin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Irbesartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Karbamazepin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klarithromycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Klindamycin sulfoxid	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Lamotrigin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,16	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Metoprolol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Metoprololová kyselina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
N-Desmethylocitalopram	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
O-Desmethylvenlafaxin	<LOQ	0,026	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,026
Sulfamethoxazol	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Telmisartan	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Tramadol	0,10	0,081	0,092	<LOQ	0,089	0,097	0,081	0,081	0,081	0,081
Trimethoprim	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Venlafaxin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Verapamil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

<LOQ = hodnoty pod mezí kvantifikace

Abstrakt

Distribuce vybraných léčiv mezi články potravního řetězce ve vodním prostředí.

Tato bakalářská práce se zabývá výskytem léčiv ve vodních organismech. Léčiva se dostávají do recipientu s vyčištěnou odpadní vodou z ČOV. Nejvíce nacházená léčiva v povrchové vodě a vodních organismech patří do skupiny antibiotik, psychoaktivních látek, antihistaminik, analgetik a kardiovaskulárních léčiv. Byla sledována přítomnost 20 vybraných léčiv na 10 lokalitách českých řek v několika typech matric. Léčiva byla zkoumána v juvenilních rybách, plasmě a svalu dospělých ryb jelců tlouště (*Squalius cephalus*), slávičce mnohotvárné (*Dreissena polymorpha*) a v bentických organismech. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší koncentrace byly nalezeny v bentických organismech a slávičce mnohotvárné. Nejvyšší počet léčiv byl nalezen v bentických organismech, celkem 18 z 20, z toho 3 léčiva byla nalezená na všech lokalitách. Nejnižší počet léčiv byl nalezen ve svalu a plasmě dospělých ryb. Mezi nejvíce znečištěné lokality patří Bílina-Ústí nad Labem a Svatka-Židlochovice. Tyto řeky mají malý průtok a vypouštěné odpadní vody se méně naředí a koncentrace léčiv ve vodních organismech je vyšší.

Klíčová slova: vodní organismy, koncentrace léčiv v biotě, řeky České republiky, antibiotika, psychoaktivní léčiva, antihistaminika, analgetika, kardiovaskulární léčiva.

Abstract

Distribution of selected pharmaceuticals in a food chain of an aquatic ecosystem.

This bachelor thesis deals with occurrence of pharmaceuticals in aquatic organisms. Sources of pharmaceuticals in recipients are treated effluents from sewage treatment plants. The mostly found in surface water and aquatic organisms are antibiotics, psychoactive pharmaceuticals, antihistamines, painkillers and cardiovascular pharmaceuticals. The occurrence of 20 selected pharmaceuticals at 10 localities affected by treated effluents from sewage treatment plants was studied in several types of matrices, in juvenile fish, plasma and muscle of adult common chub (*Squalius cephalus*), zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and benthic organisms. Based on the results, the highest concentrations of pharmaceuticals were found in benthic organisms and zebra mussels. The highest number of pharmaceuticals was found in benthic organisms (18 of 20 analysed) and 3 pharmaceuticals were found at all localities. The lowest number of pharmaceuticals was found in plasma and muscle of adult fish. Bílina-Ústí nad Labem and Svratka-Židlochovice belong to the most polluted localities. These rivers have low flows and treated wastewater from sewage treatment plants are less diluted therefore the concentration of pharmaceuticals in aquatic organisms is higher.

Keywords: aquatic organisms, concentration of pharmaceuticals in biota, rivers of the Czech Republic, antibiotics, psychoactive compounds, antihistamines, painkillers, cardiovascular drugs.