

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

Katedra aplikované ekologie



Bakalářská práce

Genotoxicita odpadních vod

Autor: Aleš Rybář

Vedoucí práce: prof. Ing. Zdeňka Wittlingerová, CSc.

Konzultant: Mgr. Alena Vlková

© 2018 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE Aleš Rybář

Územní technická a správní služba

Název práce

Genotoxicita odpadních vod

Název anglicky

Genotoxicity of wastewater

Cíle práce

Cílem bakalářské práce je vypracovat rešerši na téma genotoxické znečištění odpadních vod (OV) se zaměřením na legislativu a metodiku týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí.

V úvodu bakalářské práci budou charakterizovány druhy odpadních vod a jejich zdroje genotoxického znečištění. Část bakalářské práce se bude věnovat metodám stanovení genotoxicity pomocí biotestů. V další části se budou popsány procesy čištění genotoxických rizik v čističkách odpadních vod.

Na základě literární rešerše budou zjištěny dostupné informace o mezinárodních i komunálních předpisech, směrnících a normách týkající vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí. Na základě těchto informací bude v bakalářské práci provedeno srovnání právního přístupu k tomuto druhu znečištění v různých zemích.

V práci budou uvedena rizika genotoxického znečištění na zdraví člověka a na životní prostředí.

Metodika

1. Druhy odpadních vod
 2. Zdroje genotoxicity odpadních vod
 3. Stanovení genotoxicity pomocí biotestů
 4. Metody čištění (se zaměřením na procesy čištění, které odstraňují genotoxické znečištění)
-

5. Legislativa týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí
6. Srovnání legislativy týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí v různých zemích
7. Posouzení rizik genotoxického znečištění pro životní prostředí a zdraví lidí

Student vypracuje literární rešerši současného stavu poznání k tématu, především se zaměří na legislativu, metodiku a právní přístup jednotlivých zemí týkající se vypouštění odpadních vod s genotoxickým rizikem do kanalizace a životního prostředí.

Doporučený rozsah práce

cca 30 normovaných stran textu bez příloh

Klíčová slova

genotoxicita, odpadní vody, legislativa, procesy čištění, mutagenita, Ames test, norma

Doporučené zdroje informací

- Carraro E, Bonetta S, Bertino C, Lorenzi E, Gilli G (2015). Hospital effluents management: Chemical, physical, microbiological risks and legislation in different countries. *J Environ Manage.* 168: 185-99.
 - EU, (2006). Directive 2006/11/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community. European Union. OJ, L64, 4 March 2006, p. 52-59.
 - EU, (2013). Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. European Union. OJ, L226, 24 August 2013, p. 1-17.
 - Morisawa T, Mizuno T, Ohe T, Watanabe T, Hirayama T, Nukaya H, et al. (2003). Levels and behavior of 2-phenylbenzotriazole-type mutagens in the effluent of sewage treatment plant. *Mutat Res.* 534(1-2): 123-132.
 - OECD (1983). Test No. 473: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Sec on 4. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
 - OECD (1997). Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Sec on 4. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
 - WHO, (2013). In: Chartier Y, et al. editors. World Health Organisation. Safe Management of Wastes from Health-care Activities, 2nd – ed.
-

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FŽP

Vedoucí práce

prof. Ing. Zdeňka Wittlingerová, CSc.

Garantující pracoviště
Katedra aplikované ekologie

Konzultant
Mgr. Alena Vlková

Elektronicky schváleno dne 8. 2. 2018

prof. Ing. Jan Vymazal, CSc.
Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 21. 2. 2018

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.
Děkan

V Praze dne 15. 04. 2018

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Genotoxicita odpadních vod" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu použitých zdrojů na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22. dubna 2018

Poděkování

Rád(a) bych touto cestou poděkoval prof. Ing. Zdeňce Wittlingerové, CSc. a Mgr. Aleně Vlkové za cenné rady a trpělivost při psaní této práce

Genotoxicita odpadních vod

Abstrakt

Předkládaná bakalářská práce se zabývá genotoxicitou odpadních vod se zaměřením na legislativu v České republice a ve světě a metodikou týkající se vypouštění genotoxických látek do odpadních vod a životního prostředí. V práci je vypracován přehled nepůvodních látek v odpadních vodách a souhrn zákonů České republiky, Evropské unie a dalších států světa.

Odpadní vody obsahují širokou skupinu cizorodých chemických látek, sloučenin a patogenů (těžké kovy, léčiva, pesticidy a další), vypouštěných do vod antropogenní činností. Mnohé z těchto látek, například léčiva, jsou velice obtížně odbouratelné v procesu čištění odpadních vod a úpravě vod na vodu pitnou a dostávají se do povrchových a podzemních vod, kde negativně působí na životní prostředí a zdraví lidí.

Z těchto důvodů bylo na základech výsledků testů vydána skupina zákonů, norem a vyhlášek, jako například nařízení REACH, Směrnice Evropské unie o vodě, Zákon o vodách, Stockholmská či Helsinská úmluva.

V závěrečné kapitole bakalářské práce upozorňuje autor na známá a možná rizika genotoxického znečištění odpadních vod, kterým mohou být růstové a vývojové vady, nádorová onemocnění, omezování dýchání u ryb a vodních organismů až po jejich úplnou smrt.

Klíčová slova: genotoxicita, odpadní vody, legislativa, procesy čištění, mutagenita, Ames test, norma

Genotoxicity of wastewater

Abstract

This bachelor thesis deals with the genotoxicity of sewage with a focus on legislation in the Czech Republic and in the world and on the methodology for the release of genotoxic substances into waste water and the environment. In the thesis is a summary of non-indigenous substances in waste water and a summary of laws of the Czech Republic, European Union and other states of the world.

Waste water contains a wide range of foreign chemicals, compounds and pathogens (heavy metals, pharmaceuticals, pesticides and others) discharged into the waters by anthropogenic activities. Many of these substances, such as pharmaceuticals, are very difficult to degrade in the process of wastewater treatment and in the treatment of drinking water and they are discharged into surface water and groundwater, where it negatively affects the environment and human health.

For these reasons, a set of laws, norms were issued on the basis of test results and regulations, such as the REACH Regulation, the EU Water Directive, the Act on water, the Stockholm Convention or the Helsinki Convention.

In the final chapter of the bachelor thesis, the author draws attention to the known and possible risks of genotoxic pollution of waste water, which can be growth and developmental defects, cancer, respiratory and respiratory restrictions to their complete death.

Keywords: genotoxicity, wastewater, legislation, wastewater treatment processes, mutagenicity, Ames test, norm

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíle práce	2
3 Literární rešerše	3
3.1 Druhy odpadních vod	3
3.1.1 Odpadní vody splaškové	5
3.1.2 Odpadní vody průmyslové	5
3.1.3 Odpadní vody dešťové	5
3.1.4 Vody balastní	5
3.2 Zdroje genotoxicity odpadních vod.....	6
3.2.1 Znečištění desinfekcí.....	8
3.2.2 Znečištění při distribuci.....	8
3.2.3 Některé toxické kovy	9
3.2.4 Dioxiny.....	11
3.2.5 Polychlorované bifenyly	11
3.2.6 Bromičnany	11
3.2.7 Vinylchlorid	12
3.2.8 Fenoly.....	12
3.2.9 Polycyklické aromatické uhlovodíky.....	12
3.2.10 Dusičnany a dusitany	12
3.2.11 Pesticidy	13
3.2.12 Léčiva	13
3.2.12.1 Cytostatika	14
3.2.12.2 Antibiotika	15
3.2.12.3 Chlorhydrát	15
3.2.12.4 Metamfetamin.....	15
3.3 Stanovení genotoxicity pomocí biotestů	16
3.3.1 Testy na úrovni molekulární	17
3.3.2 Testy na úrovni genové	17
3.3.3 Testy na úrovni chromozomální	19
3.4 Metody čištění odpadních vod se zaměřením na genotoxické látky	20
3.4.1 Kontaminace ve vodách	20
3.4.2 Čištění odpadních vod.....	21
3.4.3 Metody biologického čištění vod ze zdravotnických zařízení	22
3.4.3.1 Aktivovaný kal.....	22
3.4.3.2 Prodloužená aerace	22
3.4.3.3 SBR reaktor.....	23

3.4.3.4	FBR reaktor.....	23
3.4.3.5	SAFF reaktor.....	23
3.4.3.6	Membránové filtrace a reaktory.....	24
3.4.3.7	Adsorpce na aktivní uhlí.....	25
3.4.3.8	Desinfekce UV zářením.....	25
3.4.3.9	Oxidační procesy	26
3.4.4	Kombinace procesů.....	26
3.5	Legislativa týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí v ČR	27
3.5.1	Chemické látky v životním prostředí	28
3.5.2	Legislativa odpadních vod v České republice.....	30
3.5.3	Legislativa odpadních vody z nemocničních zařízení	32
3.5.4	Srovnání legislativy v různých zemích	33
3.5.5	Legislativa Evropské unie	34
3.5.6	Porovnání limitů z nemocničních zařízení.....	35
3.5.7	Průmyslové limity ve světě	36
3.6	Posouzení rizik genotoxického znečištění pro životní prostředí a zdraví lidí 37	
3.6.1	Důsledky ve světě	38
3.6.2	Nádorová onemocnění	39
3.6.3	Rizika léčiv pro vodní organismy a lidskou populaci.....	41
3.6.4	Rizika toxických polutantů a kovů.....	42
4	Diskuze a výsledné zhodnocení	43
5	Závěr a přínos práce	44
6	Přehled literatury a použitých zdrojů	45
7	Seznam použitých obrázků a tabulek.....	59

Seznam zkratek

- AOP – Advanced oxidation processes
- ATB – Antibiotika
- BSK – Biochemická spotřeba kyslíku
- ČOV – Čistička odpadních vod
- DDT – Dichlordifenyltrichlorethan
- DNA – Deoxyribonukleová kyselina
- EO – Ekvivalentní obyvatel
- FBR – Fast breeder reactor
- CHSK – Chemická spotřeba kyslíku
- OSN – Organizace spojených národů
- OV – Odpadní vody
- PAH – Polycyklické aromatické uhlovodíky
- PCB – Polychlorované bifenyly
- PVC – Polyvinylchlorid
- RNA – Ribonukleová kyselina
- SBR – Sequential batch reactor
- UV – Ultrafialové záření
- WHO – World Health Organization
- ZZ – Zdravotnické zařízení

1 Úvod

Voda, jejíž chemickým vzorcem je H_2O , je základním prvkem života na naší planetě. Cirkuluje ve vodním cyklu, který je v dnešní době velice změněn a vody v něm jsou silně znečištěny těžkými kovy, látkami používanými v zemědělství či průmyslu a odpady z lidských sídel a nemocničních zařízení. Tato kombinace látek, která na nás působí a bude působiti v dalších letech, může mít na lidský organismus velice negativní dopad. Jaký, nám není známo, jelikož nejsou známy účinky chronické toxicity některých látek uvedených v této práci, ale pouze akutní. Vliv těchto látek na lidský organismus, se může projevit i mnohem později, nebo i v následujících generacích.

Čištění odpadních vod má za cíl vrátit vodě původní složení bez kontaminujících látek, aby mohla být vypuštěna zpět do přírody. Díky nejmodernějším technologiím jde vývoj v této oblasti velice rychle kupředu, například v použití nanomateriálů ve vodárenském průmyslu je Česká republika lídrem ve světě. Díky těmto technologickým pokrokům, můžeme nyní čistit z vody i látky, které mohou mít na lidský organismus genotoxický, karcinogenní nebo teratogenní účinek a nevznikají vedlejší produkty jako například při chlorování. Této problematice se lidstvo věnuje jen krátce a velice krátce, když zvážíme závažnost působení těchto látek na lidské zdraví a kvalitu životního prostředí.

Tyto problémy a jejich řešení musí být samozřejmě zakotveno v zákonech Evropské unie, našeho státu a států celého světa. Nejrůznější normy, vyhlášky a nařízení jsou přísné jen pro určité skupiny látek, a v pouze v určitých zemích. Samozřejmě, závisí na vedení státu, jak tyto normy hlídá a kontroluje. Na právní zakotvení těchto direktiv jsem blíže ukázal ve druhé polovině této práce.

2 Cíle práce

Cílem bakalářské práce je vypracovat rešerši na téma genotoxické znečištění odpadních vod (OV) se zaměřením na legislativu a metodiku týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí.

V úvodu bakalářské práci budou charakterizovány druhy odpadních vod a jejich zdroje genotoxického znečištění. Část bakalářské práce se bude věnovat metodám stanovení genotoxicity pomocí biotestů. V další části budou popsány procesy čištění genotoxických rizik v čističkách odpadních vod.

Na základě literární rešerše budou zjištěny dostupné informace o mezinárodních i komunálních předpisech, směrnicích a normách týkající vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí. Na základě těchto informací bude v bakalářské práci provedeno srovnání právního přístupu k tomuto druhu znečištění v různých zemích.

Dále budou uvedena rizika genotoxického znečištění na zdraví člověka a na životní prostředí.

Práce bude zpracována v následujících bodech:

1. Druhy odpadních vod
2. Zdroje genotoxicity odpadních vod
3. Stanovení genotoxicity pomocí biotestů
4. Metody čištění (se zaměřením na procesy čištění, které odstraňují genotoxické znečištění)
5. Legislativa týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí
6. Srovnání legislativy týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí v různých zemích
7. Posouzení rizik genotoxického znečištění pro životní prostředí a zdraví lidí

Student vypracuje literární rešerši současného stavu poznání k tématu, především se zaměří na legislativu, metodiku a právní přístup jednotlivých zemí týkající se vypouštění odpadních vod s genotoxickým rizikem do kanalizace a životního prostředí.

3 Literární rešerše

3.1 Druhy odpadních vod

Voda se na naší planetě nevyskytuje takřka nikde v čistém stavu. Dříve bývala voda čerpána v dostatečné kvalitě, tak, aby mohla být po lehkých úpravách použita jako pitná. Dnes jsou vždy v ní přítomny různé příměsi a rozpuštěny různé nežádoucí sloučeniny. Znečištění vod je dlouhodobé (Mezřický 2005), a nastává po použití a po změně jejich vlastností, třeba vlastností fyzikálních. Nazýváme je odpadní vody, a jsou většinou vypouštěny do vod povrchových. Před tím však musí být vyčištěny na požadovanou míru stanovenou vodohospodářským ústavem a jeho rozhodnutím o povoleném vypouštěném množství, a stanovení limitů pro jednotlivé složky znečištění. Při vypracování těchto rozhodnutí se musí přihlížet na platné právní normy, vyhlášky a stanovy (Malý *et* Malá 1996).

Marková (2014) znečištění těchto vod dělí podle místa vzniku na:

- a) plošné znečištění – splachy z pastvin, polí, velkých městských a průmyslových aglomerací,
- b) bodové znečištění – zdroje ze znečištěných míst, jako jsou výpustě z kanalizace, z čistíren odpadních vod, dolů či továren
- c) havárie – nečekaná a náhlá událost, kdy se do vod dostávají látky náhle a ve vysokých koncentracích, jedná se jiný druh bodového znečištění

Dále můžeme znečištění rozlišovat dle typu, na:

- a) biologické znečištění – to jsou fekálie, močůvka, silážní šťávy a další organická hmota
- b) chemické znečištění – je celá řada látek unikající z lidských sídel, zemědělství a průmyslu unikající do povrchových a spodních vod.
- c) fyzikální znečištění – jedná se například o UV záření, tepelná a mechanická znečištění

Znečištění také můžeme rozdělovat dle hodnocení saprobity, které je založené na hodnocení kvality toku a organismů v něm žijících (Anděl 2011):

- a) katarobita – velice čistá voda, prakticky bez živočichů a rostlin
- b) limnosaprobita – přírodní vody s oživením, stav aerobní
- c) eusaprobita – vody odpadní znečištěné odbouratelnými látkami, anaerobní stav
- d) transsaprobita – odpadní vody znečištěné biologicky neodbouratelnými látkami, vody bez života

Hodnocení jednotlivých kategorií závisí na výpočtu saprobního indexu a analýze výskytu vybraných indikačních druhů. Limnosaprobita se nadále dělí na xenosaprobita, oligosaprobita, β -mezosaprobita, α -mezosaprobita a polysaprobita, což jsou silně znečištěné vody bez rybích populací. Eusaprobita se dělí na izosaprobita – městské splašky, metasaprobita – zahnívajících městské splašky, hypersaprobita – odpadní vody potravinářského průmyslu a ultrasaprobita – hustá odpadní voda, ve které ještě nezapočaly rozkladné procesy. Také transsaprobita se dají dále rozdělit, a to na kryosaprobita, antisaprobita a radiosaprobita, to jsou radioaktivně, nebo jinak znečištěné vody (Říha 2014).

Nejvýznamnější ukazatelem pro posouzení kvality městské odpadní vody je BSK₅ (Kopp *et al.* 2015). BSK znamená biochemickou spotřebu kyslíku a vyjadřuje obsah rozložitelných látek v odpadních vodách. Průměrná hodnota BSK₅ splaškových odpadních vod bývá 150 až 400 mg/l. Dalším ukazatelem, který je potřeba zmínit, je EO neboli ekvivalentní obyvatel, osoba, která způsobuje znečištění. EO je uměle stanovená jednotka znečištění vyprodukované jedním obyvatelem za jeden den na hodnotu BSK₅. Platí, že 1 EO = 60 g BSK₅ za den (Groda *et al.* 2007). Dalšími ukazateli jsou CHSK_{Cr}, NL (nerozpuštěné látky), amoniakální dusík, celkový dusík a celkový fosfor. Koncentrace CHSK_{Cr} bývají zhruba dvojnásobkem BSK₅, koncentrace nerozpuštěných látek v městských odpadních vodách bývá 100-700 mg/l a rozpuštěných látek 500-1000 mg/l. 10-50 mg/l bývá amoniakálního dusíku, řádově v desetinách mg/l dusitanů a dusičnanů. V řádu jednotkách mg/l bývá obsažen fosfor a v desítkách mg/l koncentrace sodíku, dusíku, manganu, koncentrace chloru, vápníku a síranů může přesahovat 100 mg/l (Kopp *et al.* 2015).

Další důležitou vlastností odpadních vod je její teplota, jelikož ovlivňuje rychlost biochemických reakcí. Průměrná teplota městské odpadní vody se pohybuje v rozmezí od 10 °C do 20 °C (Groda *et al.* 2007). Nižší teplota indikuje pronikání chladných

podzemních vod, vyšší je naopak vlivem ředění odpadními průmyslovými vodami (Kopp *et al.* 2015).

3.1.1 Odpadní vody splaškové

Jsou vody vypouštěné obyvatelstvem z obytných domů a bytů. Velká většina této vody odtéká do kanalizace. Nepočítáme zde ale s vodou používanou například na zalévání, která se vsákne do půdy. Skutečnou hodnotu splaškové vody na obyvatele za den zjistíme při fakturování takzvaného vodného a stočného. Výše zmíněná voda na zalévání se zde nefakturuje, často pochází z vlastních zdrojů či studen (Groda *et al.* 2007).

3.1.2 Odpadní vody průmyslové

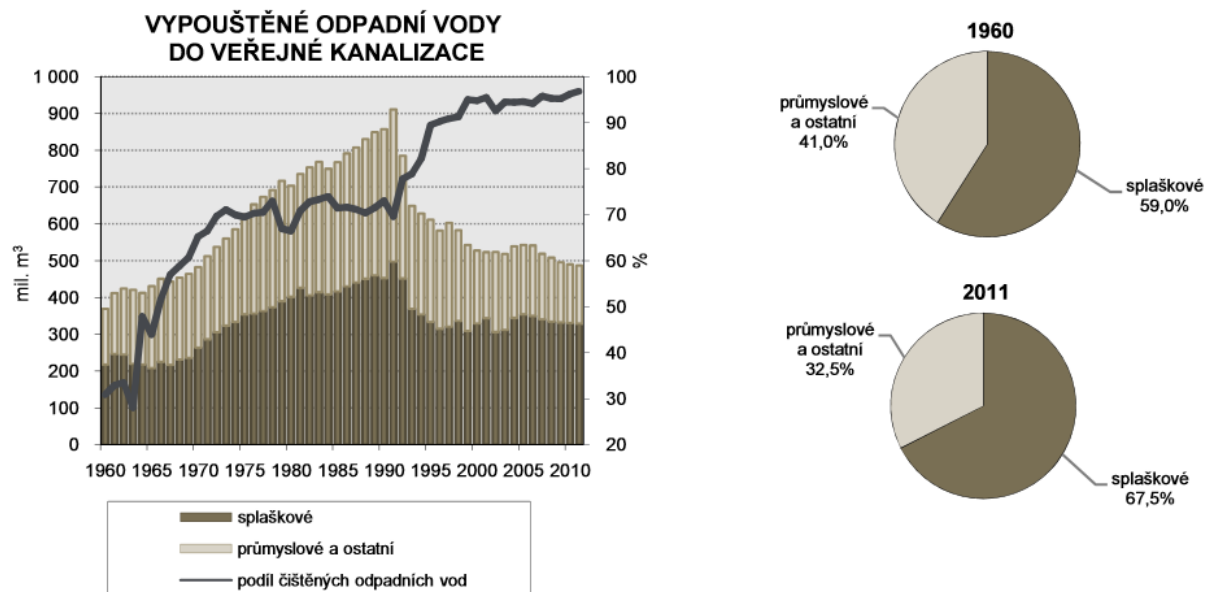
Jedná se o vody vypouštěné do kanalizace z průmyslových závodů. Tyto vody, musí být před vypuštěním ze závodu upraveny, aby vyhovovaly provoznímu řádu, respektive, aby byly čističky odpadních vod (ČOV) je schopny dále čistit. Obecně by mělo být pravidlem, že průmyslové závody vlastní svoji ČOV (Groda *et al.* 2007). Poměr splaškové a průmyslové vody vidíme na obrázku č. 1.

3.1.3 Odpadní vody dešťové

Jsou vody z intravilánu, výrobního závodu nebo jiných ploch odváděné stokami nebo kanalizací mimo obec. Tyto vody jsou odváděny buď odděleně jiným potrubím než vody splaškové, nebo společně se splaškovými (Groda *et al.* 2007).

3.1.4 Vody balastní

Jsou hlavně podzemní vody, které se dostávají netěsnostmi do kanalizace, či povrchové toky zaústěné přímo do kanalizace, byť se může jednat o čistou, nezávadnou vodu. Balastní vody pořád představují vysoké procento z celkového počtu OV, mají negativní vliv na čištění odpadních vod, protože ředí městské odpadní vody (Groda *et al.* 2007).



Obrázek č.1 : Objem vypouštěné odpadní vody a její složení, (ČSÚ 2017)

3.2 Zdroje genotoxicity odpadních vod

Genotoxický účinek představuje kvalitativní typ biologického působení genotoxických faktorů, který vede ke strukturním a informačním změnám v DNA, jejichž důsledkem je letalita, vznik mutace, chromozomální aberace a karcinogeneze. Genotoxické riziko představuje kvantitativní parametr vyjadřovaný v podobě pravděpodobnosti, která je výsledkem procesu analýzy rizik. Do nich patří genotoxický materiál daného faktoru a jeho koncentrace, intenzita a expozice dávky, který vyjadřuje možnost pozorovat sledovaný jev, jako vznik mutace, či nádorového onemocnění. V dnešní době se genetická toxikologie zabývá studiem látek, které způsobují předčasné stárnutí, autoimunní a degenerativní choroby (Kočí *et* Halousková 2002). Jednotlivé genotoxické účinky níže uvedených látek se liší. Zatímco fyzikální působení je přímé a vznikají při něm jedno nebo dvouřetězcové zlomy, v případě chemického působení modifikátorů bází, mono-, di- a polyalkylačních látek, jako mytomicin, cis-platina, vinylchlorid, látky se schopností tvorby DNA aduktů, například aflatoxin, PAH a kovy je narušen řetězec v oblasti DNA léze až při procesu DNA reparace a replikace (Malachová 1993).

Karcinogenita a její účinek je spojen se vznikem rakoviny a nádorového onemocnění. Prvotní příčinou může být mutace, ale její vztah s karcinogenitou není

důkladně prozkoumán. Mutace není nezbytnou, ani postačující podmínkou pro vznik karcinogenity. Látky jí způsobující, se nazývají karcinogeny a dělí se dle klasifikace IARC na 4 skupiny (Hon 2013):

- a) 1) Látky karcinogenní pro člověka, například benzen, asbest, vinylchlorid, ethanol, aflatoxiny
- b) 2A) Látky pravděpodobně karcinogenní pro člověka, například PCB
- c) 2B) Látky s potencialem karcinogenním účinkem pro člověka, do této kategorie patří například DDT, chloroform, furan, hydrazin
- d) 3) Látky, které nejsou klasifikované jako lidské karcinogeny, jako toluen, polypropylen, ethylen, antracen. U těchto skupin se bavíme o lidech, nevylučuje se, že nejsou škodlivé pro zvířata
- e) 4) Látky pravděpodobně nekarcinogenní pro člověka

Mutace je náhle vzniklá a trvalá změna vlastností organismu zapříčiněná změnou genetického materiálu buňky. Faktory vyvolávající mutaci se nazývají mutageny. Mutace může vznikat v pohlavních buňkách (gametické) i v buňkách ostatních tkáních (somatické). Gametické mutace způsobují nepříznivý vývoj plodu, jejich samovolný potrat a snižují plodnost jejich nositelů. Somatické mutace mohou spouštět nádorový proces, a pokud postihnou zárodek během vývoje, můžou způsobit jeho smrt. Proto se účinek může překrývat s teratogenitou (Hon 2013). Mutace mohou vznikat spontánně, nebo introdukovaně. Spontánní mutace je mutace vznikající bez pozorovatelného vlivu mutagenu, introdukovaná mutace je způsobena mutagenem Vystavení jakékoliv složky životního prostředí účinku mutagenu se nazývá mutageneze (Rosypal 2002). DNA má ovšem své reparační mechanismy, které slouží pro opravy změn při působení toxických látek. V našich buňkách proběhne těchto oprav několik tisíc za hodinu, proto i šance vzniku mutace je nízká. Ovšem opakované ataky DNA a narušování těchto oprav však vznik mutace podporují (Hon 2013).

Voda, je obrovský otevřený systém. Jedná se o výborné rozpouštědlo, s čímkoliv přijde do styku, to rozpouští a do sebe přijímá. Koloběh vody na Zemi nemá žádné hranice, před kterými by se mohla civilizace, a její biologické a chemické znečištění zastavit. Například stopy pesticidu DDT byly objeveny v grónském ledu, kde nikdy nebylo DDT aplikováno (Kožíšek 2006).

3.2.1 Znečištění desinfekcí

Genotoxické látky se mohou do vody dostat jako vedlejší produkt při dezinfekci, která je nejrozšířenější úpravou vody na světě (Liviác *et al.* 2010). Různé způsoby chemické dezinfekce, a to hlavně chlorování, má za vznik různých nežádoucích látek, jako například karboxylové kyseliny, nehalogenované aldehydy a halogenované acetáty, aldehydy, acetonitrily či furanony. Ovšem mezi nejznámější vedlejší produkty chlorace patří konkrétně: trihalometan, chloroform, trichlorethen, heptachlor a chlorbenzen. Přestože u těchto látek, se laboratorními testy na zvířatech nebo buněčných kulturách prokázalo, že tyto látky jsou mutagenní a toxické, s poškozením zdraví člověka při požití vodou je toto dokázání velice obtížné, vzhledem k nízkým koncentracím těchto látek ve vodě. Nicméně neustále dochází ke zvýšení výskytu nádorového onemocnění trávicího traktu a měchýře, v důsledku požívání kontaminované vody (Kožíšek 2006, Malachová 1993). Genotoxicitu těchto látek později potvrdili Liman *et al.* (2013) kombinací Testu *Allium cepa* a Komet testu, kteří taktéž stanovili genotoxicitu bromoformu. Bromoform je další vedlejší produkt chlorací. Tato bezbarvá kapalina, se dnes v praxi používá málo, dříve se používala v lékařství jako lék proti kašli a sedativum (SZÚ ©1999). Jako další vedlejší produkty při desinfekci oxidem chloričitým jsou chloritany a chlorečnany, při UV záření vznikají dusitany a formaldehyd. Při ozonizaci vznikají aldehydy, karboxylové sloučeniny, peroxidy a epoxidy (Hon 2013). Vedlejších produktů desinfekce bylo celkem uvedeno kolem 600, ale jen zlomek z nich byl podrobně zkoumán (Liviác *et al.* 2010).

Nie *et al.* (2017) ověřovali pomocí Umu a Ames testu genotoxicitu vod, ošetřených šesti různými způsoby desinfekce – a) chlorací, b) chloraminací, c) UV lampou, d) UV s chlorací, e) UV s chloraminací a f) chlorací s chloraminací. Za nejbezpečnější metodu považují UV lampu s chloraminací, jelikož UV lampa deaktivuje většinu zbylých mikroorganismů. Nejhorších výsledků a také nejvyšší genotoxicity dosáhla samotná chlorace a UV s chlorací.

3.2.2 Znečištění při distribuci

V méně rozvinutých zemích se může stát, že se odpadní vody vlivem poklesu tlaku a špatného stavu sítě dostane do vod pitných. U nás spíše hrozí, že voda je k uživatelům dodávána nevhodnými materiály, jako může být vinylchlorid, olovo

nebo starší typy PVC. Z těchto materiálů se může vyluhovat nikl, a z čerstvě vycementovaných trub i hliník (Kožíšek 2006).

3.2.3 Některé toxické kovy

Paz *et al.* (2017) upozorňují na hliník, který je dle testů *in vitro* a *in vivo* genotoxický, i v malých koncentracích. Dále způsobuje poruchy centrální nervové soustavy, jater, varlat a ledvin. Je třetím nejrozšířenějším prvkem v zemské kůře (8,13 %). Hliník se v přírodě vyskytuje v podobě minerálů, jako například bauxit nebo kaolinit, antropogenní zdroje znečištění odpadních vod pochází ze zpracování hliníku a jeho slitin, z výroby papíru a barviv. Ke zvýšení koncentrace napomáhají také kyselé deště a stavební činnost, či čištění a úprava vod koagulací síranem hlinitým (SiO_2). Dále se používá pro výrobu obalů a elektrotechnických součástí, kuchyňských potřeb, deodorantů a léčiv (Paz *et al.* 2017, Komínková 2008, Kopp *et al.* 2015). Jeho spotřeba v západní Evropě vrostla od roku 1970 od 100 % (Mezřický 2005).

Beryllium a jeho sloučeniny, tvoří rozpuštěné berylnaté soli a jsou velice toxické. Beryllium je mutagenní a karcinogenní (Horák *et al.* 2004). Používá se pro výrobu raket, vodičů, palivových článků, slitin a televizních obrazovek (Komínková 2008).

Dalším kovem je nikl, který v některých studiích prokázal poškození DNA a jeho sloučeniny patří do skupiny 1 z hlediska karcinogenity. Do vod se dostává z rozvodů vody, ale rozhodně se nejedná o častý prvek ve vodách. Antropogenní zdroj niklu v odpadních pochází z povrchových úprav kovů a barevné metalurgie (Kožíšek *et al.* 2010). Nikl se používá v hutnictví, galvanickém pokovování a výrobě nikl-galvanických článků (Horák *et al.* 2004).

Kožíšek (2006) dále uvádí chrom, vyskytující se v odpadních vodách z kožedělného, chemického, sklářského a hutního průmyslu, je genotoxický a podezřelý z karcinogenních účinků.

U arsenu byla dlouho genotoxicita sporná. Dnes víme, že arsen stojí za změnami DNA a způsobuje aneuploidii, a další nemoci (Faita 2013). V Bangladéši, bylo otráveno mnoho obyvatel, vlivem kontaminace tamějších vod arsenem. Tato katastrofa dosahuje větších rozměrů než výbuch Černobylu v roce 1986 a řadí se mezi největší hromadné otravy světa. Ohroženo je 35-77 milionů obyvatel. Neustálé vystavení expozici arsenu, vede k rakovině kůže, a dalším problémům (Smith 2000).

Arsen se používá jako aditivum do skla, při zpracování rud, výroby hnojiv a insekticidů (Hon 2013).

Dalším prvkem, který zde uvedu, je rtuť. Její toxicita je závislá na formě a její sloučeniny patří mezi nejvíce toxické látky vyskytující se v ekosystémech. Expozice člověka jejím sloučeninám se projevují genotoxickými a karcinogenními účinky a mohou končit i smrtí. Mutagenní a teratogenní účinky mohou mít také organické formy rtuti, jako methylртуť (Kenšová *et al.* 2014). Rtuť se dostává do odpadních vod mnoha cestami. Z amalgámů ze zubních zařízení, výroby a používání hnojiv, barev, ze skládkových výluhů a domácího odpadu, ze spalování fosilních paliv a katalytických procesů (Hargreaves *et al.* 2016, Hon 2013), a je obsažena v mnoha zdravotnických potřebách (WHO ©2013).

Dalším kontaminantem je chrom, vyskytující se v přírodě ve dvou oxidačních stavech – jako trojmocný chrom Cr (III) a chrom šestimocný Cr (VI), jsou prokázány z mutagenních a karcinogenních účinků. Chrom (VI) se používá při svařování, výrobě cementu, zpracování dřeva, kůže, v metalurgickém průmyslu, výrobcích kovových povrchů, slitin a litin (Bagchi *et al.* 2002, Hon 2013). Spotřeba chromu v západní Evropě vrostla od roku 1970 od 40 % (Mezřický 2005).

Jindal *et Verma* (2014) zkoumali účinek chloridu kademnatého *in vivo* na rybě *Labeo rohita* a potvrdil genotoxicitu i cytotoxicitu sloučeniny pomocí Komet a Mikronukleus testu, kdy prokázal poškození DNA. Kadmium je těžký kov s nežádoucími účinky na vodní prostředí a člověka. Ve vodách došlo k výraznému zvýšení koncentrace díky lidské činnosti, jako byla výroba hnojiv, barev, slitin, baterií a plastů, či spalováním fosilních paliv.

Na závěr je třeba doplnit seznam o železo, způsobující ve vyšších koncentracích oxidativní stres, a mangan, který ve vysokých koncentracích stojí za vyvoláním degenerativních změn nervové soustavy (Kožíšek 2006), a o cín, olovo a vzácnější kovy jako jsou germanium, bismut, antimon, lithium, galium, baryum, indium, thalium a vanad (Komínková 2008). Neméně důležitá v poslední době jsou rizika nanočástic oxidů kovů a těžkých kovů, jako TiO₂, ZnO, SiO₂, zlata a stříbra, podezřelých z genotoxických účinků, nicméně jejich účinek je závislý na velikosti, struktuře a povrchu částic. Avšak vztah mezi genotoxicitou a fyzikálními vlastnostmi je stále nejasný. Jejich toxikologický účinek je stále neprobádaný důkladně a je předmětem zkoumání moderními metodami stanovování toxicity. Koncentrace

nanočástic v odpadních vodách prudce stoupají, díky využití ve farmácii, průmyslu a kosmetice (Mahaye *et al.* 2017).

3.2.4 Dioxiny

Této skupině látek, se připisuje velmi vysoká toxicita a genotoxicita. Jedná se polychlorované dibenzo-p-dioxiny, označované jako PCDD a polychlorované dibenzofurany, jako PCDF. Dioxiny se nikdy samostatně nevyráběly, ale vznikají při spalování nemocničního a komunálního odpadu, spalování látek s vysokým obsahem chloru a při chemických procesech obsahující chlor. Je možné je také zaznamenat při spalování dřeva, rašeliny a uhlí. Přírodně vznikají při požárech lesů a při sopečných erupcích. Jejich toxicita je až 500x vyšší než u polychlorovaných bifenyly (Herčík *et Dirner* 2013, Hon 2013).

3.2.5 Polychlorované bifenyly

Známé pod zkratkou PCB, jejich skupina čítá přes 200 sloučenin. Jejich akutní toxicita není nijak významná, ale chronická a pozdní se projevuje mutagenitou, teratogenitou, karcinogenitou, dále mají hepatotoxické a neurotoxické účinky. Celková produkce se od počátku výroby odhaduje přes 2 miliony tun a z toho asi 20 % - 30 % uniklo do životního prostředí, a to hlavně vod. Jeho výroba byla zastavena v Československu roku 1984. V minulosti byly velmi rozšířené v průmyslu, vyrábějící plasty, elektrotechnické součástky, nátěrové hmoty, přísady do olejů a nábytek (Hon 2012, Kopp *et al.* 2015).

3.2.6 Bromičnany

Bromičnany jsou mutagenní, dostávají se do vod jako vedlejší produkt ozonizace vody za přítomnosti bromidových iontů, a z textilního průmyslu. Byly objeveny i v kohoutkové a balené vodě (Ahmad *et al.* 2013, Kožíšek 2006). Bromičnan draselný KBrO_3 je genotoxický. Tento prvek se používá mimo jiné v sýrašství, jako potravinářské aditivum do mouky a při ošetřování ječmene v pivovarnictví (Ahmad *et al.* 2013).

3.2.7 Vinylchlorid

Vinylchlorid neboli také chlorethen, je karcinogenní (Kožíšek 2006) a genotoxický (ATSDR ©2004). Vyluhuje se z PVC materiálů, ze kterých se vyrábí nejrůznější folie, potrubí, nádrže apod., a vzniká též jako degradační produkt v podzemních vodách znečištěných trichlorethem a tetrachlorethemem (Kožíšek 2006).

3.2.8 Fenoly

Fenol a jeho sloučeniny, byly potvrzeny jako mutagenní (2,3–dinitrofenol, bisfenol), 4 - aminofenol přímo poškozují DNA, 1,4- dihydroxyfenol vyvolává poškození chromozómů v lymfocytech a genotoxické jsou například sloučeniny butylhydroxyanisol a butylhydroxytoluen. Vody s obsahem fenolů pocházejí z výroby koksu a uhelného dehtu, gumy, pryskyřic a kosmetiky (Michalowitz *et* Duda, 2006).

3.2.9 Polycyklické aromatické uhlovodíky

Mezi jednotlivými PAH existují rozdíly, nicméně platí, že všechny karcinogenní PAH jsou mutagenní, i když ne všechny mutagenní PAH vykazují karcinogenní aktivitu. PAH pocházejí z přirozeného průsaku ropy, výroby a zpracování asfaltu, výroby tepelné a elektrické energie, a další (Tomaniová 1997). Polycyklické aromatické uhlíky, se vyskytují v asfaltových protikorozních nátěrech ocelových a litinových vodovodních řadů, a jsou také vedlejším produktem spalování. Nejsilnější účinky má benzo[a]pyren, který se nejčastěji stanovuje a je silně mutagenní. (Kožíšek 2006). Jelikož vyšší obsah benzo[a]pyrenu indikuje přítomnost i ostatních PAH, slouží jako indikátor celkové kontaminace. PAH do životního prostředí, kromě spalování, unikají také oděrem asfaltových povrchů a pneumatik, obsahující saze (Herčík *et* Dirner 2013).

3.2.10 Dusičnany a dusitany

Dusičnany a dusitany jsou další kontaminanty vodního prostředí. Dusičnany lze nalézt ve všech vodách, včetně pitné. Dusitany mohou vznikat ve vodě za anoxických podmínek redukcí dusičnanů (Hon 2013, Kožíšek 2006). U N-nitroso sloučenin (nitrosaminy) byl prokázán kancerogenní účinek (Otová *et* Mihalová 2012). Ty mohou vznikat transformací na dusitany v kyselém prostředí, jako například v žaludku. Proto jsou dusičnany klasifikovány jako mutageny. Zdrojem dusitanů jsou splachy z polí, splaškové odpadní vody a atmosférické srážky. Velice rizikové jsou

pro kojence do 3 měsíců věku, kteří jsou ohroženi stravou vody s obsahem dusičnanů, u nichž následně dochází k reakci hemoglobinu, za vzniku methemoglobin, který nepřenáší kyslík a může vést k zadušení (Hon 2013, Kožíšek 2006). Celosvětová spotřeba dusitanů vzrostla mezi lety 1950-1990 ze 4 milionů tun na 81 milionů tun, z toho 2-10 % uniká do povrchových a podzemních vod, a proto jsou dusitany nejčastějším kontaminantem vod (Gray 2008).

3.2.11 Pesticidy

Podle studií vykazují některé skupiny pesticidů mutagenní, teratogenní a karcinogenní účinky (Hon 2013). Skupina pesticidů je velice široká a zahrnuje látky k rostlinným a živočišným škůdcům, plísní a podobně. Vzhledem k různému chemickému složení mezi nimi najdeme látky vysoce toxické, až po prakticky neškodné. I jejich účinek může být velice variabilní, přes poškození ledvin, jater, až po narušení reprodukčních a hormonálních systémů. Naštěstí nové typy pesticidů už jsou snadněji odbouratelné než starší typy, jako například DDT, Heptachlor a Lindan (Kožíšek 2006).

3.2.12 Léčiva

V posledních letech se začalo více mluvit o léčivech a o jejich možných negativních dopadech na životní prostředí a člověka. Spotřeba léčiv se neustále zvyšuje a do životního prostředí se dostávají přes exkrementy prostřednictvím odpadních vod. Tento problém je závažný především pro města, které čerpají vody říční pro pitnou vodu. Například po celé délce Rýna a na spoustě dalších místech Evropy vypouštějí do řek odpadní vody sice vyčištěné, ale stále se zbytky farmak. Velcí výrobci léčiv neřeší to, co se stane, po vyloučení léčiv lidským tělem (Siegel 2017). Léčiva jsou vyráběna tak, aby měla biologický účinek a byly účinné již při nízkých koncentracích. Obsahují biologicky aktivní látky, a proto jsou hydrofilní a obtížně rozložitelné. Studie povrchových vod prokázaly přítomnost široké škály farmak, zahrnující antibiotika, antiepileptika, hormony, analgetické a protizánětlivé léky, stejně jako látky upravující krevní tlak, cytostatika a beta-blokátory (Kopp *et al.* 2015). Největší studii byla vydaná Guiliani *et al.* (1996) v roce 1996. V této studii zkoumali odpadní vody ze zdravotnického zařízení ve Švýcarsku s 1400 lůžky po dobu dvou let. Nasbíráno bylo 851 vzorků, které byly zkoumány

UmuC testem. Genotoxicitu byla potvrzena u 13 % vzorků, nejčastěji pocházely z ranních hodin od 6 do 10 hodin. Další velký průzkum provedl Atasoy *et al.* (2012) v Turecku, ze 108 vzorků ze tří nemocnic bylo pozitivních 56 % z nich. Test byl proveden Ames testem. Také (Magdaleno *et al.* 2014) zkoumali genotoxicitu vod na odtoku z předčištění nemocniční ČOV. V Buenos Aires bylo odebráno dvacet vzorků v rozmezí čtyř měsíců a Testem *Allium cepa*, z nichž 40 % bylo potvrzeno genotoxických. V Indii prokázali Gupta *et al.* (2009), Gupta *et al.* (2014) genotoxicitu u všech 6 a 12 vzorků, které však odebíral ještě před čištěním z tří indických nemocnic.

Bakare *et al.* (2009) testovali vodu z farmaceutického závodu v Nigerii a naměřil vysoký výskyt dusičnanů, chloridů, zinku, železa a mědi. Testy *Allium cepa*, Testy chromoromálních aberací a Mirkonukleus test stanovili genotoxicitu, cytotoxicitu a mutagenitu těchto odpadních vod.

V České republice se výskytem léčiv ve vodách zabývali Kozisek *et al.* (2013). Vybráno bylo pět léčiv (Diklofenak, Ibuprofen, Karbamazepin, Naproxen, 17 α -ethinylestradiol), z nichž tři byly naměřeny v pitné vodě, konkrétně se jednalo o Diklofenak, Ibuprofen a Karbamazepin.

WHO ©2013 jako genotoxická léčiva z cytostatik a dalších skupin léčiv označil Azathioprin, Chlorambucil, Chlornaphazin, Cyklosporin, Cyklofosfamid, Melfalan, Semustin, Tamoxifen, Thiotepa, Treosulfan a jako pravděpodobně či potencionálně genotoxická Azacytidin, Bleomycin, Karmustin, Chloramfenikol, Chlorozotocin, Cisplatina, Dakarbazin, Daunorubicin, Doxorubicin, Lomustin, Methylthiouracil, Metronidazol, Mitomycin, Niridazol, Oxazepam, Fenacetin, Fenobarbital, Fenytoin, Prokarbazin, Progesteron, Melfalan, Streptozocin

3.2.12.1 Cytostatika

Jednou z kritických skupin léčiv jsou cytostatika, léčiva používaná na léčení nádorových onemocnění, působící inhibičně na rychle poliferující buňky nádorů, ovšem v různé míře mají genotoxické, mutagenní, teratogenní a karcinogenní účinky. Běžná koncentrace cytostatik ve vodách se pohybuje pod 1 ng, v případě odpadních vod z nemocničních zařízení je koncentrace až 50 μ g (Šídlová 2011).

Zouneková *et al.* (2007) zkoumali genotoxický účinek pěti cytostatik (cisplatina, cyklofosfamid, 5-fluoroacil, doxorubicin, etoposid) a výsledek byl pozitivní pro cisplatina, 5-fluoroacil a doxorubicin.

3.2.12.2 Antibiotika

Druhou skupinu léčiv, které můžeme najít v odpadních vodách, jsou antibiotika. Jen Brown *et al.* (2006) jich našli 6 v odpadních vodách z nemocničních zařízeních v Novém Mexiku, konkrétně Ciprofloxacin, Penicilin, Lincomycin, Ofloxacin a další. Chang *et al.* (2010) jich v Číně odhalili dokonce 14 antibiotik v odpadních vodách a uvádí, že i tak celková koncentrace Ciprofloxacinu je nižší než v USA, Švýcarsku, Německu a Švédsku. Mezi genotoxická antibiotika patří například Metronidazol, Ciprofloxacin, Ofloxacin a Fluorochinilony. U posledních třech uvedených Kümerer *et al.* (2000) stanovil genotoxicitu. Ciprofloxacin, Penicilin, Ofloxacin jsou používány také ve veterinářství, jejich rezidua byla nalezena ve vodách Francie, Číny, Itálie a Austrálie (Botelho *et al.* 2015). Botelho objevil rezidua Oxytetracyklinu a Florfenikolu ve vodách Brazílie a Komet testem potvrdil genotoxicitu těchto antibiotik, používaných ve veterinární medicíně.

Dalšími genotoxickými látkami používanými v léčivech, jsou Proflavin, Kolchicin, Podofylotoxin, Hydroxymočovina, Nistrosoalkylmočovina, dusíkatý yperit a Toxol (Kočí *et Halousková* 2002).

3.2.12.3 Chlorhydrát

Látka chlorhydrát, stanovená jako genotoxická, která vzniká mimo jiné i chlorací jako vedlejší látka při čištění odpadních vod, a následně naměřenou v pitných vodách (Liviác *et al.* 2010), používá se v lékařství jako hypnotikum před vyšetřením elektroencefalogramem (Jan *et Aquino* 2001), a jako anestetikum při farmakologické přípravě pacientů na operaci či dentální zákrok (Vojtíšek 2015).

3.2.12.4 Metamfetamin

Metamfetamin je používán více než 80 let. Pro lidi je genotoxický, způsobuje psychické, nervové, a kardiovaskulární problémy. Je levný a lehce k dostání. Jeho užívání, může způsobit i smrt (Aronson 2009). Metamfetamin, jež je používán k výrobě pervitinu, se stává složkou odpadních vod vyloučením z organismů jeho uživatelů. Metamfetamin se dostává na ČOV, kde se hůře odbourávají a dostávají se

dále do vod povrchových. Jeho zbytkový obsah z ČOV se pohybuje v průměru 40 %. Očenášková upozorňuje, že se následně mohou dostat do vod pitných (Očenášková *et al.* 2014). Česká republika je na prvním místě ve výrobě metamfetaminu v Evropské unii (EMCDAA ©2017).

3.3 Stanovení genotoxicity pomocí biotestů

Studium genotoxických účinků látek se zabývá obor, který vznikl počátkem 70.let a nazývá se genetická toxikologie. Ta je spojovaná hlavně se studiem pozdních účinků chemických látek, a tím je vyjádřen rozdíl oproti klasické toxikologii, která studuje především akutní toxicitu neboli okamžité poškození organismu (Malachová 1993).

Toxické působení látek a směsí můžeme primárně zkoumat na jednoduchých systémech *in vitro*. Pro tyto testy se používají bakterie, červi, řasy nebo prvoci. Tento toxikologický výzkum slouží ke zkoumání biochemických procesů, sledování cytochemických a genotoxických působení. Testy *in vivo* jsou nejčastějším pro určování toxikologických dat. Jedná se o testy na živých zvířatech, která jsou bezesporu nejprůkaznějším modelem pro toxikologické experimenty (Hon 2013). Genotoxicitu látek stanovujeme především krátkodobými testy na bakteriích, tkáňových kulturách i některých savcích, zejména myších (Komínková 2008).

Bakteriální testy, představují dokonalý rychlý a levný screeningový nástroj pro detekci genotoxického potenciálu, jedná se o skupinu detekčních systémů, které jsou založeny na indukci specifické odpovědi geneticky upraveného prokaryotického organismu v důsledku interakce s genotoxickým faktorem. Jsou vhodnou alternativou, která může často ušetřit náklady, čas a pokusná zvířata při studiu genotoxických faktorů. Biotesty zažívají rozmach od 70. let a dnes jich známe přes dvacet. Z hlediska principu je můžeme rozdělit na tři skupiny

- 1) testy na indukci reverzních mutací
- 2) testy založené na indukci SOS reparačního systému
- 3) testy založené na indukci zvýšené mortality buněk.

Testy jsou doporučovány pro zkoumání čistých látek, i environmentálních vzorků – vody, vzduchu i biologického materiálu. Testy jako Mutatox a SOS umožňují přímé testování pevných matric bez extrakce, délka expozice se poté pohybuje v rozmezích hodin a dnů (Kočí *et* Halousková 2002).

3.3.1 Testy na úrovni molekulární

Metoda Kometového testu dokáže detekovat jednořetězcové zlomy DNA, a to jak primární zlomy, tak zlomy přechodné, které vznikají při opravě poškozené DNA, křížovém spojení DNA proteinů, alkali-labilní místa, ale i při oxidačním a alkylačním poškození DNA v eukarotických buňkách *in vitro* prostřednictvím fluorescenčního mikroskopu. Test umožňuje analyzovat poškození DNA na úrovni jednotlivých buněk ve všech typech, ve stabilizovaných buňkových liniích, poliferujících i nepoliferujících buňkách, primokulturách, lymfocytech, tak i v buňkách z biopsií. Poškození genetického materiálu buňky DNA, která se demonstruje jako zlom, je projevem biologického efektu genotoxické aktivity. Molekula, která má přirozeně záporný náboj, směřuje v elektrickém poli směrem k anodě – kladný pól. Rychlost migrace DNA v elektrickém poli závisí na počtu zlomů a velikosti buňky DNA. Zlomy, které jsou přítomny na DNA v čase alkalického odvíjení DNA navodí relaxaci DNA. Za přítomnosti elektrického pole je potom relaxovaná DNA přitahována směrem ke kladné elektrodě. Obraz, který se pozorujeme ve fluorescenčním mikroskopu při vhodném zabarvení připomíná tvar komety. Nepoškozená, kompaktní DNA je fixována v hlavě, poškozená DNA vytváří chvost komety. Proto název Kometový test (SZÚ ©2003).

3.3.2 Testy na úrovni genové

Amesův test je dnes nejrozšířenější a nejznámější test vyvinutý v roce 1973 Brucem Amesem, který byl zdokonalován. Jeho zavedení bylo výrazným průlomem při výzkumu mutací a rakoviny. Tento test umožnil získání prvních údajů o chemikáliích a jejich antropogenních vlastnostech v několika dnech. Je velmi dobře standardizován a je průkazný pro různá posuzování mutagenity. V Amesově testu se nejvíce využívá mutovaný kmen bakterie *Salmonella typhimurium*, v menší míře i *E. coli*. Mutace u tohoto kmenu způsobuje, že není schopna růst na půdě, která neobsahuje aminokyselinu histidin. Když je tento mutant vystaven působením

mutagenu, může dojít k reverzní mutaci, takže opět vzniknou bakterie, které mají špatné báze nahrazeny správnými. Pak jsou bakterie opět schopné růst na půdě bez histidinu. Počet kolonií vytvořených na půdě slouží jako míra mutagenity testované látky, a čím více kolonií vyrostě, tím je testovaná látka více mutagenní. Bakterie nemají enzymatické vybavení jako savčí organismus, proto se savčí metabolický systém k těmto bakteriím přidává externě. Aktivační metabolická směs (S9 mix) je tvořena z jaterního homogenátu připraveného z jater potkana. Byly provedeny také různé druhy testu, které zvýšily citlivost a usnadnily detekci. Jedna modifikace Amesova testu např. stanovuje mutace změnou červené barvy na žlutou. Tato změna je stanovována spektrofotometricky (Pavlíková *et al.* 2008).

Druhým testem je Umu test. Tato metoda umožňuje detekci genotoxického potenciálu odpadních vod. Test je založený na určení genotoxicity v testovacím vzorku, která zvyšuje expresi SOS reparačního systému spojeného s umuC genem, ve srovnání s kontrolou. Testovaným organismem jsou geneticky upravené bakterie *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002. Bakterie jsou exponovány testovaným vzorkům za kontrolovaných podmínek různými koncentracím. V důsledku schopnosti reagovat na různé druhy genotoxického poškození může jediný kmen detekovat různé druhy genotoxických látek. Měřítkem genotoxických vlastností testovaného materiálu je srovnání míry indukce umuC operonu působením testovaného vzorku k výsledku spontánní aktivity. A protože umuC operon je spojen s genem lacZ pro β -galaktosidázu, indukce umuC operonu může být lehce detekována určením aktivity β -galaktosidázy (SZÚ ©2003).

Reifferscheid *et Heil* (1996) porovnávali umuC test s Ames testem na 486 látkách a došli k závěru, že tyto dva testy mají z 90 % shodné výsledky při hodnocení karcinogenity.

Jako třetí test je SOS chromotest, který je schopen pomocí bakteriálních kmenů indikovat, jestli zkoumaná látka nebo skupina látek projevuje v tomto systému genotoxické vlastnosti na základě indukce reparace DNA. Tento test je založen na zjištění genotoxicity pomocí indukce SOS reparačního genu *sfIA* ve srovnání s konstitutivním PHOc markerem. Indikátorovým kmenem systému je *Escherichia coli* PQ 37. Tento bakteriální kmen nese fúzi *sfIA lacZ* a deleci v normální oblasti lac, což je strukturní gen pro enzym β -galaktosidázu. Tímto se produkce β -galaktosidázy dostává přísně pod kontrolu *sfIA* exprese (*sfIA* patří mezi SOS geny). Genotoxické látky či směsi mění nebo používají genetický materiál buňky. Tento

zásah má u živých organismů za následek indukci SOS reparačního systému, jehož úkolem je oprava poškozeného DNA. V systému SOS chromotestu vede exprese genů SOS reparačního systému, a k syntéze enzymu β -galaktosidázy, jejíž aktivita může být změřena. Pro kontrolu celkové proteinové syntézy v průběhu inkubace je paralelně sledována enzymatická aktivita alkalické fosfatázy. Poměr aktivit β -galaktosidázy a alkalické fosfatázy je brán za míru specifické aktivity β -galaktosidázy, a tudíž za kvantitativní parametr charakterizující genotoxické látky neboli její schopnost indukovat SOS reparační systém buňky (SZÚ ©2003).

3.3.3 Testy na úrovni chromozomální

Účelem testu chromozomálních aberací *in vitro* je poznání agens, způsobující strukturální chromozomové aberace v kultivovaných savčích buňkách. Strukturální aberace mohou být dvojího typu: chromozomální nebo chromatidové. Test pracuje na buněčných kulturách. Chromozomální aberace stojí za mnoho lidskými genetickými poruchami, jako například rakovinovým bujením. Test *in vitro* také vyžaduje použití exogenního zdroje metabolické aktivace nejčastěji frakce S9 z jater hlodavců. Buněčné kultury jsou v průběhu biotestu vystaveny působení látkou, jsou buňky ošetřeny, například Kolchicinem, sklizeny, a zbarvené buňky jsou analyzovány pod mikroskopem k nalezení chromozomálních aberací. Buňka by měla být vystavená testované látce po dobu 3-6 hodin. Ideální počet metafází ke správnému určení výsledku je minimálně 200, může však být menší, při velkém počtu aberací. Výstupem testu je procentuální počet aberací v buňkách (OECD ©1997).

Dalším *in vitro* testem je Mikronukleus test, je to test krátkodobý, při kterém se stanovuje frekvence mikrojadra v kultivovaných savčích buňkách. Mikrojadra vznikají v důsledku chromozomových zlomů nebo poruchou funkce dělicího vřetenka. Mikrojadra se analyzují výhradně v těch lymfocytech, které prošly jen jedním buněčným dělením. K identifikaci takových lymfocytů se užívá inhibice cytokinézy pomocí cytochalasinu B, lymfocyty jsou pak velké a dvoujaderné. Buňky jsou ve vhodné době zpracovány a jsou z nich připraveny mikroskopické preparáty, které jsou obarveny vhodným barvivem a analyzuje se frekvence mikrojadra ve dvoujaderných buňkách (SZÚ ©2003).

3.4 Metody čištění odpadních vod se zaměřením na genotoxické látky

Čištěním odpadních vod se z nich dostávají složky, působící negativně na životní prostředí, do něhož jsou posléze vypouštěny. Metoda a způsob čištění se volí podle složení odpadní vody a podle nároků na její kvalitu, přitom se rozlišují čističky odpadních vod městských nebo průmyslových (Špinar, rok vydání neznámý).

3.4.1 Kontaminace ve vodách

Kontaminace obecně dle Špinara rozdělit do tří skupin na:

- a) Nerozpustné kontaminanty – (mechanické částice, zákaly, koloidy)
- b) Mikroorganismy – (bakterie, řasy, viry, parazitické látky)
- c) Rozpustné kontaminanty – (chemické látky organické i anorganické)

Hon (2013) rozděluje znečištění vod na primární a sekundární. Primární znečištění je způsobeno toxickými látkami přítomnými ve vodách. Jde hlavně o toxické kovy, ropné produkty, perzistentní organické polutanty, těkavé organické látky, pesticidy, detergenty, a další. Rostoucím globálním problémem jsou těžké kovy, především v důsledku industrializace. Jejich hlavními zdroji jsou odpadní vody, suchá a mokrá depozice a eroze. Dalšími kontaminanty jsou perzistentní organické polutanty, které vstupují do OV ze závodů používajících tyto látky. Další zdroje jsou splachy z vozovek, polí či depozice z ovzduší. Ropa a její produkty jsou dalšími původci znečištění. Nejen že způsobuje smrt vodním organismům, ale výrazně mění sensorické vlastnosti vody. Také detergenty jsou významnou složkou kontaminantů. Jedná se o látky s pracím a čistícím účinkem, jako jsou mýdla, šampony, prací prostředky a podobně. Jsou složeny z tenzidů, a fosforu, který nepříznivě vodu obohacuje a zpomaluje přístup kyslíku do vody. Poté dusičnany a dusitany, pocházející z továren na výrobu barev nebo strojírenských závodů. Mají negativní účinek na kyslíkovou rovnováhu v prostředí a jsou toxické pro ryby a vodní organismy. Poslední skupinou významných znečišťujících látek jsou látky toxické. Mohou to být toxiny přírodních původů a dále fluoridy, které jsou ovšem toxické pouze ve vysokých koncentracích. Poté chemické látky, jako amoniak, který je hlavně toxický v alkalickém prostředí, a další organické látky. Jako sekundární znečištění autor uvádí eutrofizaci

a acidifikaci. Eutrofizace je obohacování vod živinami, které se do nich dostávají z odpadních vod a splachem hnojiv z polí. Acidifikace je proces způsobený kyselými dešti – srážkami s vysokým obsahem oxidů síry a dusíků. Acidifikace se projevuje po celé planetě a způsobuje zánik lesních vegetací a vodních organismů.

3.4.2 Čištění odpadních vod

Čištění odpadních vod můžeme rozdělit do tří fází, na čištění primární – mechanické, sekundární – biologické a čištění terciární.

Mechanické čištění separuje suspendované látky z vod, používá se při něm sedimentační proces, kdy se využívá tíhového zrychlení působící na suspendované částice. Tento proces se používá nejen při úpravě vody, ale také pro čištění vod průmyslových. Další nedílnou součástí ČOV jsou lapáky písku, které odstraňují písek, ale také snižují průtočnost rychlosti vody. Jak už bylo zmíněno, mezi mechanické čištění patří sedimentace, ke které dochází v usazovacích nádržích. Ty slouží k zachycení usaditelných látek ve vodárenství, ale i při čištění odpadních vod. Usazovací nádrže mohou být, kruhové, pravoúhlé či s vertikálním průtokem a z jejich dna je odváděn kal. Z městských odpadních vod je možno usadit 73 % ze všech nerozpuštěných látek. Poslední nedílnou součástí čištění OV v ČOV jsou dosazovací nádrže, sloužící k sedimentaci biologického kalu a jsou hlavním prvkem biologických čistíren (Malý *et* Malá 1996).

Biologické čištění OV, je kontinuální proces, pro který je hlavním faktorem úbytek vody z reaktoru, růst a úbytek mikroorganismů, a probíhá buď v aerobních, nebo anaerobních podmínkách. Základem je vytvoření aktivovaného kalu v provzdušňovacím prostředí, v anaerobním prostředí probíhá rozklad polymerů, celý proces se dá shrnout do postupu acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze. Následně dochází k odstraňování dusíku, fosforu a stabilizace kalu (Malý *et* Malá 1996). Jak se zlepšuje kvalita vody z ČOV lze vidět na tabulce č. 1.

Rok	t/rok									
	BSK ₅		CHSK _{Cr}		NL		N – celkem		P – celkem	
	na přítoku	na odtoku	na přítoku	na odtoku	na přítoku	na odtoku	na přítoku	na odtoku	na přítoku	na odtoku
2004	205 621	5 799	451 932	32 278	240 122	8 274	46 186	17 888	6 211	1 448
2005	207 278	5 674	439 075	30 429	231 869	7 726	34 597	12 102	5 705	1 085
2006	206 763	5 489	459 177	30 015	245 562	7 379	36 199	11 996	5 542	978
2007	197 835	4 589	454 829	27 360	246 382	6 857	36 089	10 570	5 599	857
2008	202 592	4 667	465 321	27 061	235 569	7 177	36 695	10 955	5 443	841
2009	202 738	4 582	461 133	27 236	228 588	6 763	36 312	10 561	5 365	902
2010	202 135	4 545	459 937	27 806	235 634	6 564	38 490	11 310	5 362	903
2011	200 367	4 194	464 575	26 302	233 855	5 846	38 227	10 519	5 277	928

Tabulka č.1: Zatížení čističek odpadních vod v letech 2004-2011, (ČSÚ 2017)

3.4.3 Metody biologického čištění vod ze zdravotnických zařízení

3.4.3.1 Aktivovaný kal

Jedná se o tradiční proces úpravy vod ze ZZ, při kterém je do aktivačních otevřených nádrží je vháněn vzduch pro aerobní kulturu mikroorganismů. Zadržovací doba se pohybuje kolem 12-15 hodin, aktivovaný kal vytváří sedimentace, které se ukládají v aktivačních nádržích a poté cirkulují zpět. Výhodou tohoto systému je účinnost odstranění BSK₅ přes 90 %, jednoduchá ovladatelnost, 97 % odstranění nerozpuštěných látek, oxidace a nitrifikace probíhají bez chemikálií. Nevýhodou je špatná kvalita vody po aktivaci, vyšší citlivost na změny teplot, vyšší spotřeba energie, a celkově je tato metoda považovaná za zastaralou (Ahsan *et al.* 2012).

3.4.3.2 Prodloužená aerace

Jedná se v podstatě o totožný systém jako v předchozím případě, jen je třeba zajistit vyšší dobu zdržení, a to 18-24 hodin k lepší aerobní biodegradaci. Tato technologie vyžaduje větší nádrže, a díky vyšší ploše dochází k vyššímu odstranění BSK₅. Kal se nikam neodvádí, může se sušit přímo na pískových filtrech, či jinde. Výhodou je použití jedné nádrže, jednoduché montáže, není potřeba zpracovávat kal, nezapáchá a kvalita vody na odtoku je lepší než u výše zmíněné technologie. Na druhou stranu, je nákladnější kvůli vyšší spotřebě kyslíku a energie, nemožnost odstranění fosforu a dusíku, dlouhé zdržení s dlouhou aerací může zapříčinit stoupání kalu v dosazovací nádrži (Ahsan *et al.* 2012).

3.4.3.3 SBR reaktor

Neboli reaktor s přerušovanou funkcí, je systém s diskontinuálním přítokem, který využívá stejnou technologii jako proces aktivovaného kalu, ale s rozdílem, usazovací, aktivační a dosazovací nádrže vše probíhá v jedné nádrži. Provozní cyklus SBR reaktoru se stává z plnění, míchání, aktivace, usazování a odvodnění. Výhodou je velká flexibilita, zabírá méně místa, produkuje kvalitní vodu, poradí si s nerovnoměrným průtokem, nezapáchá, produkuje malý objem kalu, možnost odstranit fosfor a dusík. Nevýhodou může být potřeba vyškoleného personálu, vyšší energetické náklady a cena systému, speciální aerační a dekantální vybavení (Ahsan *et* Ahsan 2012).

3.4.3.4 FBR reaktor

Jedná se o jednu z nejnovějších biologických metod, nazývaná též množivý reaktor, ve kterém je voda proháněna skrz bio-filmová RING PAC media a dosahuje vynikajících BSK₅ a CHSK₅ hodnot. Voda je hnána skrze lože dostatečnou rychlostí a dochází k fluidaci. Ve fluidovaném stavu se bakterie přichytávají na plochy RING PAC nosičů s mikrobakteriální flórou a dochází k likvidaci bakterií. Pro proces aerobního čištění je vháněn kyslík oxygenerátorem, který vhání vzduch přímo, nebo je probubláván do vody. Stabilní nádrž s médii podporuje stabilní růst mikroorganismů, a také dovoluje soběstačné biologické zpracování kalu. Přebytná biomasa automaticky odpadne z nosičů a zachová tu aktivní část. Výhodou FBR je menší doba zdržení, menší náklady na chod a na prostor, účinná a spolehlivá technologie, nevýhodou je určitě menší efektivnost během měnicího se přítoku, potřeba neustálého hlídání hladiny kalu, během vypadnutí proudu riziko hnilobných procesů (Ahsan *et* Ahsan 2012).

3.4.3.5 SAFF reaktor

Metoda reaktoru s ponořeným upevněným filmem z polymerů SAFF (submerged aerobic fixed film), do kterých je vháněná surová odpadní voda. V nádržích je voda promíchávána vzduchem a následně část buněk odtéká do sedimentační nádrže a část se vrací zpět, aby byla dosažena potřebná koncentrace organismů. Nevýhodou SAAF je jeho větší velikost oproti FBR, výhodou je menší

produkce kalu a díky dostatečnému počtu biomasy je voda dostatečně pročišťovaná (Ahsan *et* Ahsan 2012).

3.4.3.6 Membránové filtrace a reaktory

Membránová mikrofiltrace odpadních vod ve spojení s moduly s dutými vlákny (hollow fibre) je nová metoda umožňující jedním procesem připravit vodu kvality pitné z různých zdrojů se stabilními parametry neovlivněnými případnému kolísání surové vody. Tyto stabilní vody lze používat jako předčištění před systémy reverzní osmózy, další možností je terciární dočištění (hygienizace) odpadních vod. Tato metoda je považovaná za ekonomičtější a spolehlivější alternativu běžných procesů, jako flokulace, sedimentace či filtrace přes sypaná lože – písek (Špinar, rok vydání neznámý).

Membránové bioreaktory (MBR) používají kombinaci nízkotlaké filtrace a aktivovaného kalu, bez instalace dosazovací nádrže. Membrány jsou vyráběny z polymerních materiálů (PE, PES, PVDF) a uspořádány do modulů či kazet. Jejich výhodou je velká kvalita vody na odtoku, vzniká o 60 % méně přebytečného kalu, zabírají málo prostoru, problémem je zanášení membrán, vyšší spotřeba energie kvůli aeraci zamezující zanášení, vysoké prvotní náklady. Směs starých i nových buněk odtéká do usazovací nádrže, kde buňky jsou odděleny od odpadní vody. Část buněk je zpětně recyklována do reaktoru do doby, než je dosažena požadovaná koncentrace látek v něm. Největší výhodou MBR je vyčištění vody té nejhorší kvality, na odtoku je voda bez nerozpuštěných látek a nemusíme instalovat dosazovací nádrže. Určitou nevýhodou je zanášení membrán (Ahsan *et* Ahsan 2012).

Tyto reaktory jsou úspěšně testovány a instalovány pro různé zdroje vod, jako například vody povrchové, terciární dočištění vod z nemocničních zařízení, předčištění pro reverzní osmózu, podzemní a hlubinné vrty s vysokým obsahem těžkých kovů, a podobně (Špinar, rok vydání neznámý).

Membránové technologie dělíme podle směru toku kapaliny na přímou (dead end) filtraci a tangenciální (cross flow) filtraci. Dle velikosti pórů je dělí Špinar na:

- a) mikrofiltraci
- b) ultrafiltraci
- c) nanofiltraci
- d) reverzní osmóza

Typ membrány	Vel. pórů (nm)	Tlak (bar)	Produkovaná voda
Reverzní osmóza	<0,6	30-70	Čistá voda (ČV)
Nanofiltrace	0,6-5	10-40	ČV a malá molekulární rozpuštěné látky
Ultrafiltrace	5 - 50	0,5 - 10	Vše výše uvedeno + makromolekulární látky
Mikrofiltrace	50 - 500	0,5 - 2	Vše výše uvedeno + koloidy

Nanofiltrací byl například laboratorně odstraňován organický, genotoxický a cytotoxický toxin Saxotoxin, vyskytující se v povrchových vodách (Acton 2012, Silva *et al.* 2014).

Reverzní osmóza funguje na principu polopropustné membrány, kdy propouští rozpouštědlo ale nikoliv rozpuštěné látky při pohonu rozdílu tlaku. Procento úspěšnosti čištění vod z uhelných pánví, odpadních vod s obsahem izotopů, a odpadních vod s léčivy (konkrétně Tricoslan) se pohybuje v rozmezí 99-100 % (Nghiem *et Coleman* 2008, Veger 1983).

Váňa *et al.* (2014) tvrdí, že použití mikro a ultrafiltrace není tak úspěšné při čištění farmak, jelikož je velikost pórů velká, a proto preferuje reverzní osmózu a nanofiltraci.

3.4.3.7 Adsorpce na aktivní uhlí

Dnes se tato úprava vyskytuje častěji a úspěšně odstraňuje velké množství organických polutantů z vody, s výjimkou některých velmi polárních látek, jako jsou jodované kontrastní látky nebo některé antibiotika (Sulfamethoxazol). V případě ozonizace se vždy do procesu adsorpce na aktivní uhlí zařazuje předčištění (Váňa *et al.* 2014).

3.4.3.8 Desinfekce UV zářením

Tato úprava je používána spíše pro úpravu pitných vod, a patří do dezinfekčních procesů vod. Pokud vystavíme mikroorganismy, ať už bakterie, viry nebo prvoky, ultrafialovému záření, dochází k absorpci emitovaných fotonů, čímž je vytvořena fotochemická reakce. Hlavní skupina, která UV záření zasahuje, jsou

nukleové kyseliny a poškozuje jejich DNA. V případě ideálního použití vlnové délky UV záření (250-260 nm) a dostatečně vysoké dávky UV záření dochází k takovému poškození mikroorganismů, které vede k jejich inaktivaci. Inaktivované mikroorganismy následně se nemnoží a nepředstavují žádné nebezpečí rizika či infekce pro člověka. Výhodou dezinfekce UV zářením je vysoká účinnost, jedná se o proces bez dalších chemických látek, nevzniká odpad, rezistence mikroorganismů, a máme relativně snadnou obsluhu, instalaci a provoz (Beneš 2014).

3.4.3.9 Oxidační procesy

Pokročilé oxidační procesy (AOP) slibují nový způsob odstraňování léčiv z OV. Nejzkuamanější technologie jsou ozonizace, sonolýza a Fentonová reakce.

- a) Ozon je silný oxidant a oxiduje substrát za produkce hydroxylových radikálů, které dále reagují s dalšími látkami, jako například bromid a organické sloučeniny. Ozon dobře reaguje s většinou léčiv v řádu několika sekund, například za 18 minut degradoval 15 ng/l estrogeneru při dávce 5 ng/l O₃.
- b) Sonolýza je založená na ultrazvukovém záření na nízké a střední frekvenci (20-1000 kHz) a vysoké energii která rozkládá polutanty ve vodě. Vlivem extrémních podmínek vznikají ve vodě vodíkové a hydroxylové radikály, které usnadňují rozpad polutantů. Ultrazvuk zvýšil rozklad Ibuprofenu ze 30 % na 98 % za 30 minut.
- c) Dalším AOP je Fentonova reakce, kde za pomoci Fe²⁺ a peroxidu vodíku dochází ke vzniku hydroxylovým radikálům. Touto metodou se úspěšně odbourávají antibiotika jako Amoxicilin, (Caliman *et* Gavrielscu 2009) PCB, chlorfenoly, různé aminy, fenoly, alkoholy a další. Foto-fentonová oxidace je silně urychlována UV zářením, které lze rozdělit dle vlnové délky na UV-A, UV-B a UV-C. Tato metoda se osvědčila při čištění organických polutantů jako benzen nebo toluen (Dušek 2010).

3.4.4 Kombinace procesů

- a) Aktivní uhlí a ultrafiltrace – tato metoda může být začleněna nebo přidána do procesů ČOV. Jedná se o MBR reaktor s přidaným aktivním uhlím. Tento

system spolehlivě odstraňuje polutanty adsorpcí na uhlí a membrána odstraní zbytky polutantů, včetně rezidujících aktivního uhlí (Swedish Environmental Protection Agency ©2018).

- b) Ozonizace a biologické čištění – tento proces je založen na ozonizaci a biologickém čištění s přidáním aktivního uhlí jako filtrát. To zajišťuje několikastupňové čištění, dochází k oxidaci a biologické degradaci a také k adsorpci látek vzniklých při ozonizaci. Pro předčištění bývá použita mikrofiltrace a taková voda na odtoku neobsahuje žádná rezidua farmak či zbytků nebezpečných látek (Swedish Environmental Protection Agency ©2018).
- c) Ultrafiltrace a biologického čištění – jedná se v podstatě o MBR reaktor s adsorpčním a biologickým filtrem s přidáním aktivního uhlí. Kvalita čistoty vody závisí na schopnosti adsorpce materiálu. Jelikož ultrafiltrace odstraní rezistentní bakterie a aktivní uhlí zbytky léčiv včetně ATB, může technologie zabránit pohybu rezistentních látek za ČOV (Swedish Environmental Protection Agency ©2018).

U všech tří metod bylo velice úspěšné odstraňování například Ciproflaxacinu, Ibuprofenu, Propranolu, Sulfamethoxazolu, první kombinace mělo problém se Sertralinem, se kterým si zbylé dvě technologie poradily (Swedish Environmental Protection Agency ©2018).

3.5 Legislativa týkající se vypouštění genotoxických látek do kanalizace a životního prostředí v ČR

Pro praktickou ochranu životního prostředí a zdraví obyvatel je nutné převést výsledky ekotoxikologických testů do legislativy. Jedná se o zdlouhavý proces, který vychází ze zkoumání vztahu toxikantu a ekosystému a v závislosti na stavu a poznání, se v průběhu času upravují doporučené limity. Pro stanovení těchto limitů se přihlíží na ekologické, ekonomické a zdravotní rizika kontaminace. Vždy je zachována rezerva, limity jsou odbornému odhadu nižší než výsledky získané experimenty.

Limity by měly být také stanoveny dle posouzení reálných možností technologií čištění odpadních vod.

Forma prezentace je nejčastěji číselná hodnota – koncentrace toxikantu v prostředí, která nesmí být překročena neboli NPK – nejvyšší přípustná koncentrace. V případě Směrnice Evropské unie o vodě 2000/60/EC jsou uvedeny číselné hodnoty dvě – maximální roční a maximální jednorázová. Limity v legislativě jsou závazné a jejich překročení je trestné. Problematika legislativy toxických látek je poměrně složitá, látky se mohou neomezeně transportovat na dlouhé vzdálenosti a hranice států je neomezují (Kopp *et al.* 2015).

3.5.1 Chemické látky v životním prostředí

Komplexním krokem v oblasti kontroly chemických látek v Evropě je legislativa REACH, která vstoupila v platnost v roce 2007, a má za úkol, aby se nejpozději do roku 2020 používaly pouze chemické látky se známými vlastnostmi, a to způsobem, který nepoškozuje zdraví člověka a životního prostředí. Předpisy v zemích EU, tedy i v České republice, stanoví systém posuzování, kvalifikace, balení a označování chemických látek a přípravků, a poté stanoví požadavky na obsah a poskytování bezpečnostního listu. Dále upravují registraci nových látek, zákaz nebo omezení výroby, dovozu a používání extrémně rizikových chemických látek. V české legislativě je REACH zanesen do Chemického zákona č. 350/2011 Sb. Kvůli velkému množství chemických látek platí dvojí označení, starými symboly, a díky směrnici CLP H-věťami, které nahradili staré R-věty. Například H411: toxický pro vodní organismy s dlouhodobým účinkem (Kopp *et al.* 2015).

Další mezinárodní úmluva řešící globálně nejnebezpečnější látky v prostředí je Stockholmská úmluva. Tento dokument by měl chránit životní prostředí a lidské zdraví před špatně degradovatelnými látkami, se schopností kumulace v prostředí, s teratogenními a mutagenními účinky, jako třeba pesticidy – DDT, pentachlorbenzen, toxafen, eldrin a další. Poté průmyslové chemikálie, jako polychlorované bifenyly a podobně. Následně neúmyslně produkováné látky, jako například polychlorované dibenzofurany. Úmluva vstoupila v České republice v platnost roku 2004 a celkem jí podepsalo 179 zemí. Další implementovaná směrnice Rady 2009/128/EHS kterou se stanoví rámec pro činnost společností za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů (Kopp *et al.* 2015). Jeden z odstavců požaduje – *co největší omezení nebo vyloučení aplikace pesticidů na silnicích a železničních tratích a podél nich, na velmi*

propustném povrchu nebo na jiné infrastruktuře v blízkosti povrchových nebo podzemních vod, nebo na nepropustném povrchu s vysokým rizikem odplavení do povrchových vod nebo do odpadních systémů (2009/128/EHS). Na základě směrnice Ministerstvo zemědělství České republiky připravilo Národní akční plán k zajištění udržitelného používání pesticidů, kde jeden z hlavních cílů je: Omezení rizik vycházejících z používání přípravků na ochranu rostlin, a to v oblasti ochrany zdraví a lidí, ochrany životního prostředí a vod (Michalčáková *et al.* 2015). Další důležitá úmluva týkající se vypouštění vod je Helsinská úmluva z roku 1992 – Úmluva o ochraně a využívání hraničních vodních toků a mezinárodních jezer. Dále Evropská hospodářská komise OSN prosadila Protokol o odpovědnosti a náhradě škod způsobených účinky průmyslových havárií přesahující hranice států v roce 2003. Česká republika má uzavřené dvoustranné dohody o spolupráci v oblasti ochrany hraničních vod, jako například Dohoda mezi vládou České republiky a vládou Slovenské republiky o spolupráci na hraničních vodách a mnohostranných smluv, směřovaných ke spolupráci v oblasti vodí důležitých řek, jako Dohoda o Mezinárodní komisi pro ochranu Labe (Mezřický 2005).

Základním nástrojem pro regulaci nakládání s vodami je vydávání povolení k nakládání s vodami. V rámci zvláštního nakládání s vodami je regulován také odběr podzemních vod a vypouštění odpadních vod do vod povrchových nebo podzemních (Damohorský 2015).

Nejrozšířenější nástroj politiky životního prostředí a jeho ochrany jsou poplatky. Neboli známé pravidlo, znečišťovatel platí. Výše poplatků obvykle závisí na množství a kvalitě vypouštěné znečišťující látky. Znečišťovatel v České republice je povinen platit poplatek za znečištění vypouštěných odpadních vod a poplatek z objemu vypouštěných odpadních vod. První poplatek je vyměřen v případě, že jím vypouštěné odpadní vody obsahují stanovené znečišťující látky a překročí v příslušném ukazateli hmotnostní a koncentrační hranici zpoplatnění. Poplatek z objemu vypouštěných odpadních vod je znečišťovatel povinen hradit, pokud objem jím vypouštěných vod překročí za kalendářní rok 30 000 m³. Výnosy z poplatků putují do Státního fondu životního prostředí. Podobný systém funguje v Kanadě, Mexiku, Austrálii, USA, Polsku, Koreji a Belgii (Mezřický 2005).

3.5.2 Legislativa odpadních vod v České republice

Česká legislativa myslela na ochranu povrchových a podzemních vod již po roce 1948. Dne 23. března 1955 byl vydán Zákon č. 11/1955 Sb., o vodním hospodářství. Paragraf 8 Zvláštní užívání vod odstavec 1 obsahoval znění, že k vypouštění odpadních vod do vod povrchových nebo podzemních, je potřeba povolení vodohospodářského orgánu. V § 12 odstavci 1 bylo uloženo uživatelům vod odstraňovat znečišťování vod stavbou zařízení, potřebných k čištění vod a pečovat o jejich řádný chod. Dále v § 13 byla uložena ochrana povrchových a podzemních vod před škodlivými účinky některých zvláštních vod, jako radioaktivních, důlních, vod z lázní a smíšených se zemními oleji (Kult 2010).

Vypouštění a nakládání s odpadními vodami v dnešní době řeší Zákon o vodách a o změně některých zákonů neboli Vodní zákon č. 254/2001 Sb., konkrétně § 38 Odpadní vody. Zde je vymezen pojem odpadní vody, dále se zde ukládá povinnost zneškodňovat odpadní vody v souladu s podmínkami stanovenými v povolení jejich vypouštění, vydaný úřadem. V (4) se ukládá povinnost pro toho, kdo vypouští OV, měřit jejich objem vypouštění a jejich míru znečištění, a výsledky zaslat vodoprávnímu úřadu. Nebo například v oddílu druhém je povinnost mít povolení vodohospodářského úřadu k vypouštění odpadních vod, je-li nebezpečí, že mohou obsahovat nebezpečné látky. V § 34 odstavci (8) č. 254/2001 Sb. Se říká: *Při povolování vypouštění odpadních vod do vod povrchových stanoví vodoprávní úřad nejvýše přípustné hodnoty jejich množství a znečištění. Přitom je vázán ukazateli vyjadřujícími stav vody ve vodním toku, ukazateli a hodnotám přípustného znečištění povrchových vod, ukazateli a přípustnými hodnotami znečištění odpadních vod.* V odstavci (7) je přímé vypouštění OV do podzemních vod zcela zakázáno a povoluje jejich výjimečné vypouštění. Vodní zákon též definuje závadné a nebezpečné látky, které jsou uvedeny v příloze č. 1 (patří mezi ně např. většina kovů uvedená v mé práci, kyanidy, biocidy, dusitany, rtuť, organofosforové sloučeniny aj.). Stanoví se nakládání s nimi, a vypouštění vod obsahující tyto látky musí být vždy nahlášeno vodoprávnímu úřadu. Do zvlášť nebezpečných látek jsou zahrnuty látky nebo produkty jejich rozkladu, u kterých byli prokázány karcinogenní nebo mutagenní vlastnosti, které mohou ovlivnit produkci steroidů, štítnou žlázu, rozmnožování nebo jiné endokrinní funkce ve volném prostředí. V odstavci § 16 Povolení k vypouštění odpadních vod s obsahem zvlášť nebezpečné závadné látky do kanalizace, je potřeba mít povolení vodoprávního úřadu,

kteře dále upravuje vypouštění odpadních vod pro vody z různých výroby, ukládá povinnost vymezit kontrolní místo k měření objemu OV a jejich míry znečištění a pokud vlastní zařízení k čištění s dostatečnou účinností, může vodoprávní úřad stanovit podmínky provozu tohoto zařízení.

Podle výše uvedeného Vodního zákona Vláda České republiky ustanovila Nařízení vlády č. 143/2012 Sb. o postupu pro určování znečištění odpadních vod, provádění odečtů množství znečištění a měření objemu. Toto nařízení udává počet odběrů a testů odpadních městských a průmyslových vod, které se odeberou na místě, jež stanoví vodoprávní úřad, nebo Česká inspekce životního prostředí. Následně vzorky zkoumá kontrolní laboratoř, a na základě výsledků Inspekce stanoví zálohy na poplatky.

V Zákoně č.274/2001 Sb. o vodovodech a kanalizacích je dáno, že vlastník vodovodní přípojky je povinen zajistit, aby nedocházelo k znečištění vody ve vodovodu. A dále, že *Odběratel, který vypouští do kanalizace odpadní vody s obsahem zvláště nebezpečných látek, je povinen v souladu s povolením vodoprávního úřadu měřit míru znečištění a objem odpadních vod a množství zvláště nebezpečných látek vypouštěných do kanalizace, vést o nich evidenci a výsledky měření předávat vodoprávnímu úřadu, který povolení vydal, a že kanalizace nesmí negativně ovlivnit životní prostředí, provozovatel je nadále povinen pravidelně odebírat vzorky vody a provádět jejich rozbor.*

Dále se problematikou věnuje Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. ze dne 14.12.2015 o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. V tomto zákoně jsou stanoveny emisní standardy pro minimální účinnosti čištění OV, náležitosti a povolování vypouštění odpadních vod, a jejich limity pro všechny jednotlivé druhy výroby a původy. Zde máme třeba uvedené limity vypouštění PAH, chloroformu, železa, arsenu, mědi, olova, zinku, šestimocného chromu, boru, niklu a celkového BSK₅ a CHSK₅.

A také Nařízení vlády č. 57/2016 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění a náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod podzemních. Stanovuje přípustné znečištění odpadních vod vypouštěných do vod podzemních, maximální roční množství a emisní limity, pro vypouštění z jednotlivých staveb pro bydlení a rekreaci, ubytování, a domovních čističek odpadních vod.

Poplatky z vypouštění odpadních vod do vod povrchových upravuje Vyhláška č. 123/2012 Sb. o poplatcích a za vypouštění odpadních vod do vod povrchových.

V kapitole 1.2.7 byly zmíněné dusičnany a dusitany, nesmí se opomenout nitrátovou směrnice. Směrnice Rady o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských strojů. Jeho úlohou je chránit vody v citlivých oblastech před dusičnany ze zemědělství. Je implementován do české legislativy ve vodním zákoně. Citlivé oblasti jsou implementovány v Nařízení vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastech a akčním programu. Toto stanovení určuje zranitelné oblasti formou vymezení katastrálních území, a upravuje hospodaření na těchto pozemcích.

Zmínku o mutagenitě a karcinogenitě nalezneme v Zákoně č. 350/2011 Sb., O chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů, kde jsou stanoveny minimální koncentrace nebezpečných látek obsažených ve směsích.

A na závěr vyhláška o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody č. 409/2005 Sb., o mutagenitě, dále můžeme najít zmínky v zákonech a vyhláškách č. 110/1997 Sb. - Zákon o potravinách a tabákových výrobcích, zákon č. 201/2012 Sb., o ochraně ovzduší, v platném znění, č. 261/2016 Sb. - Vyhláška o tabákových výrobcích, zákon č. 326/2004 Sb. - Zákon o rostlinolékařské péči, č. 37/2017 Sb. - Vyhláška o elektronických cigaretách, náhradních náplních do nich a bylinných výrobcích, 17/2009 Sb. - Vyhláška o zjišťování a nápravě ekologické újmy na půdě, Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 137/1999 Sb. , kterou se stanoví seznam vodárenských nádrží a zásady pro stanovení a změny ochranných pásem vodních zdrojů, Vyhláška č. 225/2008, kterou se stanovují požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin.

3.5.3 Legislativa odpadních vody z nemocničních zařízení

Samotné vypouštění odpadní vod z nemocničních zařízení se věnuje norma ČSN 75 6406 – Odvádění a čištění odpadních vod ze zdravotnických zařízení. Zde máme jednotlivá zařízení rozdělená do 2 kategorií, první kategorií jsou zdravotnická zařízení určená k izolaci a léčbě přenosných nemocí, z nich vody se musí desinfikovat, tak aby byly zničeny choroboplodné zárodky., a to i v případě, že jsou vyčištěné odpadní vody vypouštěny do stokové sítě napojené na ČOV. Pokud jich je malé množství, lze je dekontaminovat přímo na místě a vypouštět přímo do veřejné stokové sítě. Ve II. Kategorii, se nepředpokládá významný výskyt infekčního materiálu a léčbě

přenosných nemocí. Zařazují se sem i laboratoře, včetně patologických a mikrobiologických oddělení. Tyto vody mohou být přímo a bez čištění vypouštěny do stok napojených na ČOV. Čištění vod z nelůžkových zařízení se navrhuje dle množství a charakteru vod. Infekční materiál přicházející do styku s OV musí být dekontaminován. Při navrhování stokových sítí, samostatných ČOV se přihlíží k množství a složení vod, na vliv antibiotik a dezinfekčních prostředků, možného konečného využití vody a požadavků na jakost vypouštěných vod. Specifické znečištění na jedno lůžko se stanovuje dle BSK₅ na 80 g/d. Stoky musí být označeny a vedeny pod ostatními stokami. Radioaktivní vody musí být buď zneškodněny na místě či uzavřeny do nádob. Čištění vod musí vyhovovat vodovodnímu řádu a orgánu hygienické služby. Při biologickém stupni se musí vzít v úvahu vliv desinfekčních prostředků. Používá se ozonizace, chlorování či UV záření, maximální koncentrace chloru se musí pohybovat mezi 0,5 mg/l – 1,0. Chlorace má být automatická, a to v dávce 60 g/1 m³ pro I. stupeň a 20 g/1 m³ pro II. stupeň (ČSN 75 6406).

3.5.4 Srovnání legislativy v různých zemích

Lidská společnost začala v průběhu 20. století narážet na hranice využitelnosti neobnovitelných přírodních zdrojů a na hranice prostoru možný pro obytné či rekreační účely. Péče o životní prostředí je nejen v rukou nás, lidí, ale hlavně prostřednictvím státního řízení, kde hlavní úlohu má soubor společensko-ekonomických faktorů, které ovlivňují celý komplex společenského rozvoje. V předchozí době stav životního prostředí nepředstavoval nijak důležitou roli při budování národních cílů, toto se naštěstí v dnešní době změnilo. Naléhavost potřeby ochrany životního prostředí v celosvětovém měřítku dala vzniknout složitým zákonům přírodních a společenským, a to především ekologickým na straně jedné, a ekonomickým na straně druhé. Péče o životní prostředí jsou v posledních desetiletích jednotlivých států chápána jako cílevědomá činnost, která směřuje k odvracení jevů a procesů nebezpečných pro životní prostředí, k odvracení škod hrozící člověku a k odstranění již nastalých nebezpečných či škodlivých jevů. Jednotlivé státy chápou, že životní prostředí je dynamický systém, jehož poškození se projevuje až v dlouhodobém časovém rozestupu, že je nutné zvýšit finanční prostředky pro různé akce ke zlepšení péče, dokonaleji využívat odpady, prohlubovat mezinárodní spolupráci a soustavně zvyšovat odpovědnost průmyslových a zemědělských závodů minimalizovat negativní vliv na životní prostředí. Otázky životního prostředí se

dostávají do popředí pozornosti veřejného mínění po celém světě, i když ne všechny státy vyvíjejí stejnou aktivitu. Přístupy jednotlivých států k ekologickým problémům jsou pochopitelně ovlivněny celkovou situací v dané zemi. Obecně můžeme říci, že jižní země, jako například Španělsko, Portugalsko, Itálie nebo Řecko zaostávají oproti severským zemím (Madar 1990).

3.5.5 Legislativa Evropské unie

Otázky životního prostředí se dostávají do popředí pozornosti veřejného mínění po celém světě, i když ne všechny státy vyvíjejí stejnou aktivitu. Přístupy jednotlivých států k ekologickým problémům jsou ovlivněny situací v dané zemi. Obecně můžeme říci, že jižní země, jako například Španělsko, Portugalsko, Itálie nebo Řecko zaostávají oproti severským zemím (Madar 1990).

Když se zaměříme nejprve na Evropskou unii a nemocniční vody, nemáme přesnou směrnici nebo pokyn, jak nakládat s těmito vodami. Nicméně členské země mají své vlastní kritéria a legislativu pro hodnocení kvality vod, vypouštěných z nemocničních zařízení (Vlková *et al.* 2016).

Oblast vody v legislativě je v rámci Evropské unie velmi rozsáhlá. Tvoří ji na 70 dokumentů, a to převážně směrnic a rozhodnutí Rady EU. Dalších asi 20 dokumentů z dalších oblastí mají přímý dopad na oblast vod. Legislativa pochází často ze sedmdesátých let a byla doplněna v letech devadesátých. V současnosti je doplňována důležitými předpisy. Některé dokumenty nejsou pro Česko republiku relevantní, například z geografických důvodů (Richter 2005).

Hlavním právním nástrojem v Evropské unii řešící problematiku odpadních vod je směrnice Rady č. 91/271/EHS o čištění městských odpadních vod. Tato směrnice má za cíl chránit povrchové vody před znečištěním způsobeným vypouštěním komunálních odpadních vod a biologicky odbouratelných průmyslových OV. O konkrétních genotoxických látkách nicméně se nezmiňuje.

Evropská směrnice Evropského parlamentu 2000/60/ES, nebo také Vodní rámcová směrnice, má za účel stanovit rámec pro ochranu vnitrozemských povrchových vod, brakických vod, pobřežních vod a podzemních vod, který zabrání dalšímu zhoršení, a ochrání a zlepší stav vodních ekosystémů, podpoří udržitelné užívání vod na dlouhodobé ochraně dosažitelných vodních zdrojů, usiluje o zvýšenou ochranu a zlepšení vodní prostředí, mimo jiné i snížení vypouštění, emisí a úniků prioritních látek a úplné zastavení jejich vypouštění. Dále stanoví cílené snižování

znečišťování podzemních vod a přispět ke zmírnění účinků sucha a povodní. Zde nacházíme zmínku v příloze VIII o mutagenních vlastnostech, jakožto směrný seznam hlavních znečišťujících látek, která se ve směrnici pětkrát zmíní.

Dále směrnice Evropského parlamentu a Rady 2013/39/EU, kterou se mění směrnice 2000/60/ES, obsahuje list 45 prioritně nebezpečných látek, mezi nimi například rtuť a její sloučeniny, nikl, polyaromatické uhlovodíky, heptachlor, kadmium, DDT, pentachlorbenzen a další, nicméně žádná léčiva zde nenalezneme.

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o regulaci, hodnocení, povolování a omezení chemických látek, (REACH), lze omezit výrobu a dodávání na trh látek, které jsou mutagenní, či karcinogenní, o vypracování metodiky měření jejich prahových hodnot, dále v tomto nařízení se klasifikují látky mutagenní a genotoxické, stanovuje se jejich řádné označení, a odchylky od jejich standardní informace. Jedním z cílů nařízení je nahrazení nebezpečných látek bezpečnějšími, a zřízení Evropské agentury pro chemické látky ECHA.

Směrnice Rady z 3. 11. 1998 o jakosti vody určené pro lidskou spotřebu 98/83/ES, stanovuje limity pro většinu látek uvedených v této práci pro pitnou vodu, nicméně nijak nevymezuje limity léčiv, či drog.

3.5.6 Porovnání limitů z nemocničních zařízení

Když se zaměříme na nemocniční zařízení, v porovnání EU a států, nařízení EU 91/271 EHS o čištění městských vod nestanovuje limity pro vypouštění vod z nemocnic přímo do řek či do ČOV. Lépe je na tom Itálie, kde dle nařízení DPR n. 227/2011 jsou stanoveny limity pro vypouštění odpadních vod před tím, než jsou vypouštěny na ČOV. BSK₅ <300 g/l, CHSK <700, fosfor <30 mg/l, amoniak <50 mg/l, poměr CHSK / BSK <2.2. Stejně stanovení má Španělsko z roku 1997 Decretón.26,042-SMINAE. V tomto nařízení ovšem hlídají mnohem větší počet látek, jako fosfáty, sulfidy, fluoridy. S porovnáním s Itálií: BSK₅ <300 g/l, CHSK <1000 mg/l. Anglie a Wales mají stanoveny limity po opuštění vod nemocniční ČOV v Urban Waste Water Treatment Regulation. BSK₅ <25 g/l, CHSK <125, fosfor <1, dusík < 10. V Německu se řídí při vypouštění vod z nemocničních ČOV dle limitů: BSK₅ <15-40 g/l, CHSK <75-150, fosfor <1-2 dusík 13-18 mg/l. Čína má stanoveny limity jak pro vypouštění vod přímo z nemocniční ČOV po předčištění, tak i limity pro vypouštění vod na ČOV, a stejně tak Indie (Carraro *et al.* 2016).

Z ČSN je známa norma pro nakládání s radioaktivně znečištěnou vodou. V Itálii a Francii je nařízení stejné, tedy vodu schraňovat v uzavřených nádržích. V Británii mohou tuto vodu vypouštět do kanalizace, pokud nepřekračuje stanovené limity. Úplně zakázaný je sulfid barnatý (Carraro *et al.* 2016).

3.5.7 Průmyslové limity ve světě

Čína – textilní a bavlněný průmysl je jeden z nejstarších v Číně a spotřebovává mnoho vody. Odpadní vody obsahují organické látky jako buničinu nebo celulózu. Avšak čínské limity vypouštění jsou přísnější než u nás, limit v ČR BSK₅ je 50 mg/l, v Číně 25 mg/l, což je stejná limitní hodnota jako v Německu. Šestimocný chrom má limit podobný, Čína stanovila 0,5 mg/l, ČR 0,3 mg/l. V ČR se ovšem hlídají dále další těžké kovy, které v Číně nesledují. Autor ale následně upozorňuje na to, že velké nebezpečí pro Čínu způsobují továrny, které vypouští vody nelegálně a nejsou nijak kontrolované (Zongping *et al.* 2011).

Indie – zde mají limity stanovené v zákoně S.O. 844(E) pro různé druhy průmyslu, pro každý z nich hlídají druh limitů, pro některý BSK₅ a různé látky, včetně těžkých kovů a benzo(a)pyrenu a dalších. Pro některý pH, barvu, teplotu. Například pro výrobu barev a zpracování bavlny, hlídají vše, také je stanoven povinný biotest, kde musí přežít 90 % ryb po 96 hodinové expozici. Dále Indové mají stanovené limity pro různé druhy vod dle typu, na zavlažování, které jsou při pobřeží, do kanalizací a do povrchových vod. Hlídají pH, teplotu, zápach, barvu a 40 látek.

Egypt – v této zemi, jsou povinni dle zákona Law 93/1962 všichni pracující na ČOV mít proškolení. Jejich tabulka limitů je jednotná pro jakékoliv vypouštění vod a stává se z pouhých 21 prvků či hodnot Průmysl je vyzván environmentálním zákonem Law 4/1994 k opětovnému využívání odpadních vod. Dále se zde řeší znečištění z lodí a olejem. K ochraně Nilu před znečištěním je stanoven zákon Law 48/1982.

Jordánsko – je na tom nejlépe ze států blízkého východu. Jejich zákon č. 893/2002 zakazuje používat nevyčištěnou vodu na závlahy zeleniny, která se požívá neupravená, a jako závlahy pro parky. Dále mají zvlášť vypracovány limity dle druhu povodí, kam je OV vypouštěna, tzn. do podzemních vod, nebo do řek a vádí, nebo pro potřeby zemědělcům dle druhů plodin, a to pro 42 látek, včetně těžkých kovů, fenolu, *E. Coli* a vajíček cizopasných červů. Dále mají přísný standard č. 1145/1996 pro použití kalů v zemědělství, Je například uvedeno, že se nesmí přímo používat

neošetřený kal v agronomickém průmyslu, vyčištěná voda ze sekundárního čištění smí být použita pro zavlažování, ale spásání dobytka na tomto místě je povolena až po třech měsících, a použití kalu povoluje pouze pověřená osoba.

Slovensko – jako náš nejbližší soused, má imisní limity pro vypouštění z ČOV stanovené v nařízení vlády č. 269/2010 téměř shodné limity, vzhled tabulky, je úplně totožný. Dále je v nařízení příloha s asi 100 imisními látkami a dále zvláště nebezpečné látky, kde jich je 14, například DDT, tetrachlormethan, trichlorethen aj.

3.6 Posouzení rizik genotoxického znečištění pro životní prostředí a zdraví lidí

Jak může být zřejmé, na celém světě je neustále stejný objem vody – 200 000 km³, avšak počet lidí neustále roste. Lidé spotřebovávají pouze 5 % světových zásob, 75 % jsou použity v zemědělství a 20 % vody v průmyslu. V roce 2025 budou dva lidé ze tří trpět nedostatkem čisté vody. Jen dnes, trpí nedostatkem jakékoliv vody 450 milionů lidí z 20 zemí a 1,1 miliarda nemá přístup k čisté vodě. Ročně umírá 2 miliony lidí na nemoci šířené vodou, způsobené nedostatečnou hygienizací a desinfekcí vody, většina z nich jsou děti do pěti let, v Africe to dělá na 115 obětí denně (Moaveni 2016). V roce 2001 zemřelo v Evropě v důsledku špatné kvality pitné vody, a špatné likvidace a nedostatečného čištění odpadních vod 13,5 tisíc dětí do 14 let věku (Kožíšek 2006). Dnes k těmto onemocněním ve vyspělých zemích dochází zřídka, díky přísným normám a pravidelným hygienickým kontrolám (Mezřický 2005).

Genotoxické znečištění se ale v současné době nedotýká jen vody, ale také ovzduší a půdy (Sezimová 2006), denně nás obklopuje 50,000-70,000 látek nebo chemických sloučenin, mnohé z nich mají genotoxické účinky. Mezi hlavní genotoxické polutanty řadíme PAH, aminy a amidy, dusíkaté deriváty, nitrosaminy, skupiny pesticidů a fungicidů, a mnoho těžkých kovů. Hlavní skupiny antropogenních vlivů, které způsobují mutace v organizmech jsou následující:

- a) ionizující záření
- b) chemické látky používané v zemědělství, lesnictví a vodárenství
- c) výfukové plyny z vozidel

Pro lidskou populaci může být tento seznam doplněn o UV radiaci, léky, potravinářské přídatné látky (aditiva), účinek alkoholu a kouření, (Yablokov *et*

Ostroumov 1991) a dále nesmíme opomenout biologické faktory a mikroorganismy (viry, plísně, bakterie, mykoplazmata) (WHO ©2013).

Nakládání s genotoxickým odpadem si žádá zvýšenou a nezbytnou péči. Vážnost nebezpečí pro zaměstnance ve zdravotnictví, kteří nakládají či likvidují genotoxický odpad je řízeno toxicitou látky, a dobou a trváním expozice. Expozice genotoxickým látkám ve zdravotnických zařízeních může nastat při přípravě a léčbě konkrétními léčivy či chemikáliemi. Mezi nejčastější vystavení expozici je vdechnutí prachu nebo aerosolů, absorpcí kůží, požití jídla kontaminovaného cytostatiky nebo při neopatrné manipulaci. K expozici může také dojít při kontaktu s lidskými tekutinami od pacientů podstupujících chemoterapii. Jakékoliv vlévání genotoxického odpadu do životního prostředí může mít vážné ekologické následky. Studie provedeny ve Finsku prokázaly zvýšený počet potratů během těhotenství a malformace u dětí narozeným ženám, které pracovaly v minulosti s protirakovinovými látkami. Studie provedeny v Kanadě a Spojených státech amerických ukázaly stejný výsledek. Několik autorů vyšetřovalo potenciální zdravotní rizika spojená s manipulací antineoplastiky, projevující se zvýšenou hladinou mutagenních prvků v moči vystavených pracovníků a zvýšeným počtem potratů (WHO ©2013).

3.6.1 Důsledky ve světě

Expandující a neregulovaný těžební průmysl, vedl v Číně ve městě Linfen k největšímu znečištění na světě. Je zde velmi vysoký výskyt kožních a respiračních onemocnění, a rakoviny plic zaviněných jemnými částicemi a plyny z dopravy a průmyslu. Dalším problémovým místem v Číně, je Tianjin, s největší výrobou olova. Zastaralé technologie, nedostatečné kontroly a nelegální provozy nesou vinu za desetinásobně vyšší koncentraci olova v půdě a v ovzduší, než je státem stanoveno. Děti zde trpí vrozenými vadami a poruchami vývoje. Šestimocný chrom, který jsem uváděl ve druhé kapitole, způsobuje neplodnost, vrozené vady, žaludeční a střevní krvácení, tuberkulózu a astma, se ve městě Sukinda v Indii vyskytuje v odpadních vodách z chromitových dolů, které negativně ovlivňují místní vodní zdroje. V Indii je dále široká škála odpadních vod je vypouštěna v oblasti Vapi z více než 50 průmyslových areálů, ty vypouští těžké kovy, pesticidy a chemický odpad. Výsledkem je velmi vysoký výskyt rakoviny a vrozených komplikací. V Rusku, byla významná oblast výroby chemických zbraní, průmyslových chemikálií a toxických látek Dzeržinsk a OV se vypouštěly přímo do řek. Dodnes je v Dzeržinsku nízká délka

života a úmrtnost velice převyšuje ruský standard. Dále je potřeba zmínit Zambijské Kabawe, město La Oroya na území Peru, kde zpracovávají a taví kovy. Tyto místa jsou silně kontaminována olověným prachem a místí děti mají až 100 mikrogramů na litr olova v krvi, což je desetkrát více než je doporučované maximum (Moldan 2015).

Jacobsen-Pereira *et al.* (2018) zkoumali vztah, mezi 50 zemědělci a farmáři pracujícími 15 let s různými druhy pesticidů v Brazílii. Testy byly prováděny Micronucleus a Ames testem. Ukázalo se, že pesticidy u těchto lidí způsobily DNA poškození a oxidační stres. Nečastější pesticidy byly glyfosát, paraquat a deltamethrin, s obsahem přes 50 %.

Japonsko zaznamenalo hromadnou otravu v 50.-60. letech, kterou způsobila rtuť a její sloučeniny. Primární znečištění způsobovaly odpadní vody z chemického závodu, který téměř třicet let vypouštěl do zálivu sloučeniny rtuti, které se přeměňovaly do methylové podoby. Methylrtuť se koncentrovala do těl ryb a přes rybí maso do lidských organismů. Bylo zaznamenáno 71 úmrtí. Oběti zemřeli na kornatění mozku, rozpad buněk ve zraku a sluchu. Další lidé trpěli trvale poškozenou nervovou soustavou (Hon 2013).

V Rumunsku v roce 2000 se protrhla hráz odkaliště úpravní rud. Do řek Dunaj, Szamos a Tisa přitekly toxické vody složené z těžkých kovů a kyanidů. Limity stanovené v Maďarsku byly překročeny až 300násobně. Odhaduje se, že zemřelo na 1300 ryb a až 95 % fytoplanktonu. Ohroženo bylo na 160 000 lidí, používající vodu z řeky Tisa (Hon 2013).

3.6.2 Nádorová onemocnění

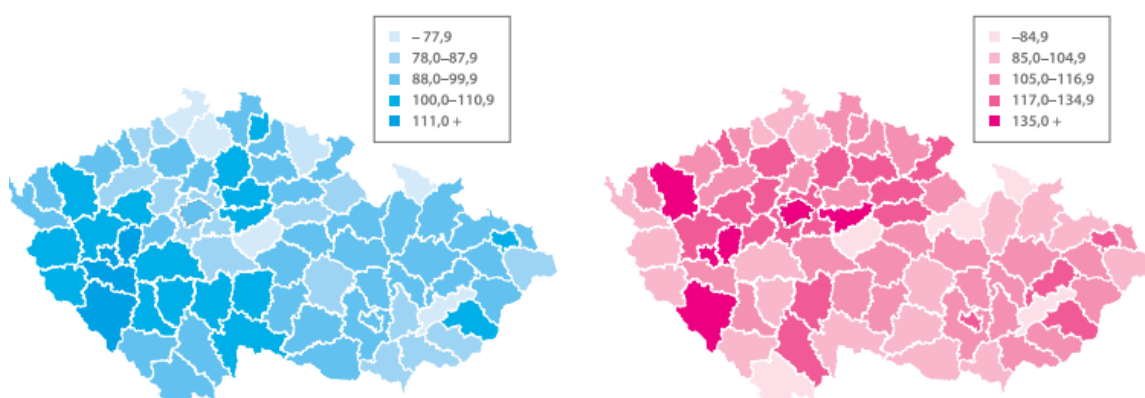
Nádorová onemocnění a následná úmrtnost je druhá nejčastější příčina smrti v České republice. Výskyt nových onemocnění stále stoupá, ale úmrtnost v poslední době mírně klesá. Největší problém u obou pohlaví je karcinom tlustého střeva a konečníku (SZÚ ©2014). Jeho výskyt u mužů můžeme vidět na obrázku č. 3.

Výskyt rakovinu v dnešní době klesá u mužů, ale roste u žen, nejčastěji ji způsobuje kouření a radon. Ionizující radiace z radonu vyvolává cytostatické a genotoxické účinky, která stojí za zvýšením výskytu leukemie a rakovinu kůže (Robertson *et al.* 2013, SZÚ ©2014). Radon je přírodní radioaktivní látka bez zápachu, která se váže na horninové prostředí. Dobře se rozpouští ve vodě a lidský organismus je vystaven spíše jeho účinkům při inhalaci. Jeho rozpadové produkty mohou ve vysokých koncentracích způsobit rakovinu (Kožíšek 2006).

Zvýšený výskyt rakoviny prsu u českých žen, můžeme najít tam, kde bývá překračován limit znečištění ovzduší látkami, jako dioxiny a benzo[a]pyreny. Nejvyšší procento rakoviny bylo zaznamenáno na Karlovarsku, v oblasti sokolovské pánve a dále ve velkých městech jako Praha a Brno, o něco menší procento v oblasti Plzně, Rakovníka, a Ostravy (Řezníčková 2012). Lze vidět na obrázku č. 3.

Dalšími genotoxickými látkami vyskytující se v ovzduší v různých koncentracích jsou DDT, PCB, formaldehyd, tetrachlorethylen, toxafen a těžké kovy. Dále u HSO_3^- a SO_2^{2-} byla prokázána vysoká schopnost reagovat s DNA, mezi další účinky patří zvyšování úmrtní plodu a vývojových vad u skotu.

Dalším rizikem je určitě přijímání látek z potravin, například dusičnanů. V USA, kde denní příjem dusičnanů je asi 1 mmol, rakovinné onemocnění žaludku se vyskytuje u 5-100 000 pacientů ročně. V Japonsku, kde koncentrace NO_3 ve stravě je přibližně 4,5 mmol, je úmrtnost na stejné onemocnění až 8x vyšší. Četné výzkumy potvrdili, že karcinogenní riziko stoupá s přítomností některých mutagenů, které vznikají při tepelných úpravách potravin, jako smažení, pražení, grilování, uzení, pečení, a množství mutagenů přímo souvisí s teplotou a délkou při úpravě. Při nedokonalém spalování, jehož důsledkem je až uhelnatění, pozřeme PAH, při nižších teplotách se z proteinů a aminokyselin tvoří pyrolyzáty s mutagenními účinky. Jde např. o mono a dinitropyreny, aminoimidazochinolin a jeho deriváty. Také za mutagenní byly prokázány sloučeniny vznikající při karamelizaci neboli úpravě cukru na teplotu kolem 175 °C (Malachová 1993).



Obrázek č. 2: znázorňuje modrou barvou výskyt zhoubného nádoru tlustého střeva u mužů a růžovou barvou zhoubného nádoru u žen na 100 000 obyvatel dle okresů. (průměr 2004-2008) (Řezníčková 2012)

3.6.3 Rizika léčiv pro vodní organismy a lidskou populaci

Množství léčiv používaných v prostředí se zvyšuje spolu s chronickými problémy,

s přibývajícím věkem, a počtem obyvatel, ale i s vyšší spotřebou léčiv používaných v chovech hospodářských zvířat. Po použití zůstává většina léčiv aktivní. Léčiva v lidském nebo zvířecím těle organismu jsou částečně metabolizována do rozpuštěnější formy. Některá léčiva metabolizují jen omezeně a po vyloučení z těla mají podobu směsi původní látky. Veterinární léčiva se mohou dostávat přes hnůj, močůvku a při aplikaci hnoje na polích do zemědělské půdy, kde mohou mít vliv na půdní organismy. Další možností je proniknutí do prostředí splachem či průsakem do podzemních vod (Kopp *et al.* 2015).

Vážné riziko představují antibiotika, způsobující antibiotickou rezistenci, nebo také antimikrobiální rezistenci, která se týká jednotlivých kmenů, i celých skupin bakterií. Podkladem rezistence je genetická změna, umožňující obejití metabolického bloku vyvolaného antibakteriální látkou, získání schopnosti tyto látky eliminovat, nebo případně jiná změna umožňující přežít. Dalším problémem je, že některé geny pro rezistenci se nacházejí na plasmidech, které si bakterie mohou vyměňovat v rámci svého druhu, ale také uvnitř rodu, či čeledi. V době objevení penicilínu bylo více než 90 % zachycovaných kultur *Staphylococcus aureus* citlivých na toto ATB, dnes je v záchytech těchto kmenů méně než 10 % (Lefnerová *et Šimůnek* 2006).

Antibiotika nacházíme jak v odpadní vodách, tak i za ČOV, a je diskutabilní, kolik rezistentních bakterií vzniká přímo při samotném čištění. Pozorováním bylo zjištěno, že za odtokem z čistírny, bez vlivu na technologii, se nachází vyšší procento rezistentních bakterií než na přítoku. Tím, že se kontaminovaná voda používá i k závlahám, může docházet ke vstupu rezistentních bakterií do potravního řetězce. Dále pak splachem do vodních nádrží či řek. Koncentrace ATB ve vodách je obecně nízká, byť jsou nalézány i v pitné vodě. ATB se nedají řádně odstranit základními stupni čištění OV a velice dobře se adsorbují na kal, půdu a sedimenty (Proksová *et al.* 2017). Také cytostatika a antidepresiva jsou velice odolné proti degradaci, jak v přírodě, tak v čističkách odpadních vod (Hon 2013). Kontaminace léčiv může v některých případech pocházet přímo z farmaceutického průmyslu a výroby léčiv (Kopp *et al.* 2015).

Strategie snižování vzniku rezistencí závisí na omezování dostupnosti ATB, zdůraznění jejich správných používání a omezení jejich vniknutí do odpadů, a to i malého množství, jelikož se rezistenční mikroorganismy mohou dále množit. Rezistence má také význam ekonomický, jelikož se v dnešní době se vynakládají mnohem větší finanční prostředky na hledání nových látek účinných proti rezistentním kmenům (Lefnerová *et* Šimůnek 2006).

Akvatické ekosystémy jsou velice náchylné na negativní antropogenní, chemické, či fyzikální znečištění jejich prostředí. Mezi nejvýraznější účinky patří narušení pohlavního vývoje a reprodukce ryb, a snižování maximálního věku ryb. Antibiotika, používaná ve veterinární a humánní léčbě se projeví výrazně ve vodním ekosystému až po dlouhodobějším působení. V této práci uvedené látka jako je například Triclosan narušuje vývoj obojživelníků, dále zmiňovaný Bisfenol, jenž má pro ryby reprotoxické a endokrinně disruptivní účinky, Diklofenak, který poškozují žábry, ledviny a játra ryb, a 17 α -etinylestadiol, který narušuje plodnost a vývoj pohlavních znaků u ryb i bezobratlých (Kopp *et al.* 2015).

Kopp *et al.* (2015) potvrzují, že současné čistírny OV stačí čistit nynější organické znečištění jen díky velké energetické spotřebě a používání moderních technologií, jako je ozonizace, UV záření a sorpce na aktivní uhlí. Dodávají, že musíme dále zefektivnit čištění nových polutantů ve vodě, a to z hlediska nejen technologické, ale také z hlediska energetické a finanční situace.

3.6.4 Rizika toxických polutantů a kovů

Ve vodách můžeme nalézt většinu se vyskytujících přírodních kovů. Jejich toxické působení na ryby je různé a je do jisté míry ovlivněno fyzikálními vlastnostmi vody. Významnou negativní funkcí toxických kovů je jejich schopnost bioakumulace ve vodní flóře a fauně, a to hlavně kadmia, rtuti a olova. Většina z nich může mít fatální následky pro bezobratlé, měkkýše, mlže, i ryby. Třeba rtuť omezuje životnost spermií a reprodukci jiker, železo a hliník rybám znemožňuje dýchání. Pesticidy a biocidy mají ve většině případů velice negativní vliv na jakýkoliv život ve vodním prostředí, nehledě na skupinu. Další látky silně jedovaté a reprotoxické jsou polychlorované bifenyly. Negativní vliv na vodní společenstvo způsobují také změny teploty vody a pH, pokles rozpuštěného kyslíku, vyšší koncentrace dusitanů, oxidu uhličitého, ropných látek, tenzidů, fenolů a amoniaku (Kopp *et al.* 2015).

4 Diskuze a výsledné zhodnocení

V bakalářské práci byly shrnuty antropogenní zdroje genotoxického znečištění povrchových a podzemních vod s jejich možnými negativními účinky na životní prostředí a lidskou populaci. Dále jsou zde shrnuty nejdůležitější právní nástroje ochrany podzemních vod.

Byť se může zdát, že česká legislativa ochrany přírody a krajiny je dostatečná, nejsou zde stanoveny žádné limitní hodnoty pro genotoxicitu odpadních vod. Tyto limity, budou určitě dále předmětem měření a zkoumání, až blíže poznáme účinky genotoxicity těchto látek, v závislosti na jejich koncentraci a době expozice. Další určitou nevýhodou je jistě nejednotnost právních předpisů a norem, když zvážíme, že kontaminanty se mohou přemisťovat celosvětově. Určitě sdílím obavy se Zongping *et al.* (2011), kteří sice upozorňují na dostačující legislativu ochrany vod před průmyslovými vodami, ale varují před množstvím nelegálně vypouštěných vod, která nepodléhají žádnému měření. Toto je problém hlavně rozvojových zemích, jako Indie, Číny, a dalších. V těchto zemích lidé následně používají takto znečištěnou vodu, kde všem lidským potřebám. Těžké kovy z průmyslových vod se dostávají do potravního řetězce a ohrožuje tak nejen lidskou, ale také populaci hospodářských zvířat. V České republice je dle mého legislativa vypouštění vod z průmyslových zdrojů dostatečná, nicméně pokud k nim dojde, pokuty jsou velice nízké. Jako velmi špatně podchycenou problematiku vidím stejně jako Vlková *et al.* (2016) nulovou ochranu vod před vodami z nemocničních zařízení. Základní ochranu před vstupem léčiv do ekosystému lze najít na každém příbalovém letáku každého léku. Antibiotická rezistence a nemoci z těchto vod procházejících do pitné vody se stárnutím populace nás totiž bude ohrožovat stále více. Poslední skupinu látek, kterou s Mahaye *et al.* (2017) vidím jako rizikovou, jsou nanočástice stříbra, a dalších kovů. Jejich působení je pořád nejisté a výsledky se u mnoho autorů rozcházejí.

K lepšímu poznání těchto účinků a následné zavedení do legislativy nám jistě pomohou nové testy na umělých lidských tkáních nebo na genech GADD5 α -GFP.

5 Závěr a přínos práce

Výčet genotoxických látek a jejich působení, zde rozhodně není konečný, k jejich stanovování máme dostatečný počet certifikovaných a mezinárodně uznaných testů. Vyrábějí se nové a nové látky a my neustále hledáme nové metody, jak je z vody odstranit. Momentální hrozbou jsou jistě léčiva, jejichž odstraňování je složité, jejich spotřeba neustále stoupá a bez problémů se dostávají až do vodovodních řadů a vodotečů. Jejich koncentrace se do poloviny století může zvětšit až o dvě třetiny. Na tento problém neupozorňuje ani česká legislativa, která je v plném souladu se zákony a nařízení ze strany Evropské unie, ale ani legislativa států mimo EU. Léčiva ve vodách negativně působí na životní prostředí a lidskou populaci. Rozhodně limity léčiv v odpadních vodách by měly být zaneseny do zákonů, vyhlášek a norem, a hlídat je stejně, jako například toxické kovy, nebo radikální snížit jejich spotřebu. Jejich odstraňování bude jistě nákladnější a zdlouhavější, než odstraňování například dusičnanů či těžkých kovů.

6 Přehled literatury a použitých zdrojů

- [1] Acton Q. A., 2012: *Advances in Nanotechnology Research and Application*, s. 14170, Atlanta: A Scholarly Edition, ISBN 978-1-4649-9046-5,
- [2] Ahmed M. K., Zubair H., Mahmood R., 2013: DNA damage and DNA-protein cross-linking induces in rat intestine by the water disinfection by-product potassium bromate, *Chemosphere*, Vol. 91, Issue 8, s. 1221-1224, ISSN 0045-6535,
- [3] Ahsan J., Ahsan N., 2012: Study of widely used treatment technologies for hospital wastewater and their comparative analysis, *International Journal of Advances in Engineering and Technology*. Vol. 5, Issue 1, November 2012, s. 227-240, ISSN 2231-1963,
- [4] Anděl P., 2011: *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*, Liberec: Evenia, s. 265, ISBN 978-80-903787-9-7,
- [5] Aronson, J. K. 2009: *Meyler's side effects of psychiatric drugs*, Boston: Elsevier, s. 512, ISBN 978-044-453266-4,
- [6] Atasoy R. A., Karakece E., Mustafa P., Alpsoy L., Kiran A., 2012: Determination of Genotoxic Pollution of Some Hospital Wastewater with Salmonella Ames Test. *Journal of Water Resource and Protection*, Vol. 4, s. 859-865, ISSN 1945-3094,
- [7] Bakare A. A., Okunola A. A., Adetunji O. A., Jenmi H. B., 2009: Genotoxicity assessment of a pharmaceutical effluent using four bioassays, *Genetics and Molecular Biology*, 32(2), s. 373-381, ISSN 1415-4757,

- [8] Beneš J., 2014: Dezinfekce odpadních vod UV zářením – aspekty ovlivňující její návrh, výhody a nevýhody, sb. konference Dezinfekce vyčištěných odpadních vod, Praha 20.11.2014, s. 6,
- [9] Brown K. D., Kulis J., Thomson B., Chapman T. H., Mawhinney D. B., 2006: Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and Rio Grande in New Mexico, *Science of The Total Environment*, Vol. 366, Issue 2–3, s. 777-783, ISSN 0048-9697,
- [10] Caliman F. A., Gavrieliscu M., 2009: Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment - A Review, *Clean Soil and Water*, Vol. 37, Issue 4-5, s. 277-303, ISSN 1863-0760,
- [11] Damohorský M., Mullerová H., Smolek M., Snopková T., 2015: Zemědělské právo, Plzeň: Aleš Čeněk, s. 224, ISBN 978-80-7380-584-5,
- [12] Debasis Bagchi, Sidney J. Stohs, Bernard W. Downs, Manashi Bagchi, Harry G. Preuss 2002: Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium, *Toxicology*, Vol. 180, Issue 1, s. 5-22, ISSN 0300-483X,
- [13] Dušek L., 2010: Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály, *Chemické listy* 104, s. 846-854, ISSN 0009-2770,
- [14] Faita F., Cori L., Bianchi F., Andreassi M. G., 2013: Arsenic-Induced Genotoxicity and Genetic Susceptibility to Arsenic-Related Pathologies, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, s. 1527-1546, ISSN 1660-4601,
- [15] Fernandez Paz L. N., Moura L. M., Feio D. C. A., Cardoso M. S. G., Ximenes W. L. O., Montenegro R. C., Alves A. P. N., Burbano R. R., Lima P. D. L., 2017: Evaluation of in vivo and in vitro toxicological and genotoxic potential of aluminum chloride, *Chemosphere*, Vol. 175, s. 130-137, ISSN 0045-6535,

- [16] Giuliani F., Koller T., Wurgler F.E. a Rosa Maria Widmer R. M., 1996: Detection of genotoxic activity in native hospital waste water by the umuC test. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, Vol. 368 Issue 1, s. 49-57 ISSN 01651218,
- [17] Gray N. F., 2008: *Drinking water quality, Problems and Solutions*, 2nd edition, New York: Cambridge University Press, s. 520, ISBN 978-0-521-70253-9,
- [18] Gupta P., Mathur N., Bhatnagar P., Nagar P., Srivastava S., 2009: Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters, *Ecotoxicology and Environmental safety*, s. 1925-1932, Vol. 72, Issue 7, ISSN 0147-6513,
- [19] Gupta P., Mathur P., Mathur N., Aarya B., 2014: A comparative study of sensitives of salmonella tyhimurium strains TA 98, TA 100, and TA 102 to hospital waste water, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 93, Issue 1, s. 95-100, ISSN 1432-0800,
- [20] Hargreaves J. A., Vale P., Whelan J., Constantino C., Dotro G., Cartmell E., 2016: Mercury and antimony in wastewater: fate and treatment, *Water, Air and Soil Pollution*, 227(3), ISSN 0049-6979,
- [21] Chang X., Meyer M. T., Xiaoyun L., Quing Z., Hao Ch., Ji-an Ch., Zhiquan Q., Lan Y., Jia C., Weiqun S., 2010: Determination of antibiotics in sawage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China, *Environmental Pollution*, Vol. 158, Issue 5, s. 1444-1450, ISSN 0269-7491,
- [22] Jacobsen-Pereira H. C., Dos Santos C. R., Troina F., Pimentel L., Lobo Feijó A. J., Silva C. I., da Silva de Medeiros G., Zeferino R. C., Pedrosa R. C., Maluf

- S. W., 2018: Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 148, s. 177-183, ISSN 0147-6513,
- [23] Jan M. M. S., Aquino M. F., 2001: The use of chloral hydrate in pediatric electroencephalography, *Neurosciences*, Vol. 6 (2), s. 99-102, ISSN 1658-3183,
- [24] Jindal R., Verma S., 2014: In vivo genotoxicity and cytotoxicity assessment of cadmium chloride in peripheral erythrocytes of *Labeo rohita* (Hamilton), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, s. 1-10, ISSN 0147-6513,
- [25] Kenšová R., Hynek D., Adam V., Kizek R., 2014: Působení rtuti na živé organismy, *Laboratory reports*, s. 38-41, ISSN 2336-3940,
- [26] Kočí V., Halousková O., 2002: Ekotoxikologické biotesty 1, Sborník pracovní konference, s. 190, Chrudim, Vodní zdroje ekomonitor, ISBN 80-238-9260-6,
- [27] Komínková D., 2008: Ekotoxikologie, Praha: České vysoké učení technické, s. 157, ISBN 978-80-01-04058-4
- [28] Kopp R., Hilscherová K., Poštulková E., 2015: *Základy vodní ekotoxikologie*, Brno: Mendelova Univerzita, s. 152, ISBN 978-80-7509-334-9,
- [29] Kozisek, F., Pomykacova I., Jeligova H., Cadek V., Svobodova V., 2013: Survey of human pharmaceuticals in drinking water in the Czech Republic, *Journal of Water and Health*, 11(1), s. 84-97, ISSN 1477-8920,

- [30] Kult A., 2010: Tekoucí (povrchová) voda: Právně – filosofický pohled na rozdílné způsoby vymezení ochrany vod a vodního prostředí, Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, s. 106, ISBN 978-80-87402-07-8,
- [31] Kümmerer K., Al-Ahmad A., Mersch-Sundermann V., 2000: Biodegradability of some antibiotics elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test, Chemosphere, Vol. 40, Issue 7, s. 701-710, ISSN 0045-6535,
- [32] Liman R., Cigerci I. H., Konuk M., Benouareth D. E., 2013: Genotoxicity of drinkink water disinfection by-products (bromoform and chloroform) by using Allium, Cytotechnology, Vol. 67, Issue 2, s. 207-213, ISSN 0902-9069,
- [33] Liviác D., Creaus A., Marcos R., 2010: DNA damage induction by two halogenated acetaldehydes, byproducts of water disinfection, Water Research, Vol. 44, Issue 8, s. 2638-2646, ISSN 0043-1354,
- [34] Madar Z., 1990: Řízení a péče o životní prostředí v evropských státech, Praha: Academia, s. 247, ISBN 80-200-0164-6,
- [35] Magdaleno A., Juárez A. B., Dragani V., Elizabeth Saenz M., Paz M., Moretton J., 2014: Ecotoxicological and genotoxic evaluation of Buenos Aires city (Argentina) hospital wastewater, Journal of Toxicology, Vol. 2014, s. 1-10, ISSN 1687-8191,
- [36] Mahaye N., Thwala M., Cowan D.A., Musee N., 2017: Genotoxicity of metal based engineered nanoparticles in aquatic organisms: A review, Mutation Research/Reviews in Mutation Research, Vol. 773, s. 134-160, ISSN 1383-5742,
- [37] Malachová K., 1993: Mutagenita a karcinogenita kontaminant životního prostředí, Ostrava, s. 108, ISBN 80-7042-707-8,

- [38] Malý J., Malá J., 1996: Chemie a technologie vody, Brno: Noel, s. 197, ISBN 80-86020-13-4,
- [39] Mezřický V., ed.: Environmentální politika a udržitelný rozvoj, Praha: Portál, s. 206, ISBN 80-7367-003-8,
- [40] Michalčáková A., Komínková M., Farkač M., 2015: Společná zemědělská politika EU v letech 2014-2020, Informační příručka projektu AGRI ČR+, Praha: Centrum pro studium demokracie a kultury, s. 55, ISBN 978-80-7325-998-3,
- [41] Moaveni S., 2016: Energy, environment, and sustainability, Mason Ohio, Cengage learning, s. 398, ISBN 978-1-133-10509-1,
- [42] Moldan B., 2015: Podmaněná planeta, s. 512, Praha, ISBN 978-80-246-3012-0,
- [43] Nghiem L. D., Coleman P. J., 2008: NF/RO Filtration of the Hydrophobic Ionogenic Compound Triclosan: Transport, Mechanisms and the Influence of Membrane Fouling, Separation and Purification Technology, Vol. 62, Issue 3, s. 709-716, ISSN 1383-5866,
- [44] Nie X., Liu W., Zhang L., Liu Q., 2017: Genotoxicity of drinking water treated with different disinfectants and effects of disinfection conditions detected by umu -test, Journal of Environmental Sciences, Vol. 56, s. 36-44, ISSN 1001-0742,
- [45] Očenášková V., Tušil P., Pospíchalová D., Svobodová A., 2014: Nezákonné drogy v odpadních vodách, Sborník konference Pitná voda 2014, s. 217-222. W&ET Team, Č. Budějovice. ISBN 978-80-905238-1-4,

- [46] OECD ©1997: Test No. 473: In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, No. 440, OECD Publishing, Paris, s. 10, ISSN 2074-5788
- [47] Otová B., Mihalová R., 2012: Základy biologie a genetiky člověka, Praha: Univerzita Karlova, s. 219, ISBN 978-80-246-2109-8,
- [48] Pavlíková D., Pavlík M., Matějů L., Balík J.: 2008, Ekotoxikologie, ČZU, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, s. 171, ISBN 978-80-213-1843-4,
- [49] Proksová E., Król K., Časarová K., Říhová Ambrožová J., Vejmelková D.: 2017 Distribuce genů rezistence na čistírně odpadních vod. Sbor přednášek a posterových sdělení, 12. Bienální konference VODA 2017, Poděbrady, 20-22. září 2017 s. 111-118, ISBN 978-80-263-1322-9,
- [50] Reifferscheid G., Heil J., 1996: Validation of the SOS/umu test using test results of 486 chemicals and comparison with the Ames test and carcinogenicity data, Mutation Research, Genetic Toxicology, Vol. 369, Issue 3-4, s. 129-145, ISSN 0165-1218,
- [51] Richter M., 2005: Technologie ochrany životního prostředí 1. část, Ochrana čistoty vod, Ústí nad Labem: Fakulta životního prostředí UJEP Ústí nad Labem, s. 79, ISBN 80-7044-684-6,
- [52] Robertson A., Allen J., Laney R., Curnow A., 2013: The Cellular and Molecular Carcinogenic Effects of Radon Exposure: A Review, International Journal of Molecular Sciences, International Journal of Molecular Sciences, s. 14024-14063, ISSN 1422-0067,
- [53] Rosypal S., 2002: Úvod do makromolekulární biologie, díl 3. Molekulární biologie virů, mutageneze, kancerogeneze a rekombinace. Opravy poškozené DNA, Brno, 3. vyd., s. 900, ISBN 80-902562-2-8,

- [54] Řezníčková J., 2012: ČSÚ, Statistika a my, Co stojí za vznikem nádorů? č. 05/2012, s. 26-27, ISSN 1804-7149
- [55] Sezimová H., 2006: Hodnocení genotoxických účinků kontaminant životního prostředí, Ostrava: Vysoká škola báňská – Technická univerzita, s. 151, ISBN 80-248-1041-7,
- [56] Siegel M. S., 2017: Budiž voda – Izraelská inspirace pro svět ohrožený nedostatkem vody, Praha: Algier, s. 390, ISBN 978-80-906420-3-4,
- [57] Silva D. C. A., De Morais E. C. P., Costa M. D. M., Ribas J. L. C., Guiloski I. C., Ramsdorf W. A., Zanata S. M., Cestari M. M., Ribeiro C. A. O., Magalhaes V. F., Trudeau V. L., De Assis H. C. S., 2014: Saxotoxins induce cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in teleost in vitro, *Toxicon*, Vol. 86, s. 8-15, ISSN 0041-0101,
- [58] Smith A.H., Lingas E.O., Rahman M., 2000: Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency, *Bulletin of the World Health Organisation* 83(9), s. 177-189, ISSN 0042-9686,
- [59] Swedish Environmental Protection Agency, 2018: Advanced wastewater treatment for separation and removal of pharmaceutical residues and other hazardous substances – Needs, technologies and impacts, Sweden: Bromma, s. 87, ISSN 0282-7298,
- [60] SZÚ ©1999: Státní zdravotnický ústav: Zdravotnické důsledky a rizika a znečištění pitné vody, s. 109, ISBN 80-7071-117-5,
- [61] Šídllová P., Podlipná R., Vaněk T., 2011: Cytostatická léčiva v životním prostředí, *Chemické listy* 105, s. 8-14, ISSN 0009-2770,
- [62] Tomaniová M., Kocourek V., Hajšlová J., 1997: Polycyklické aromatické uhlovodíky v potravinách, *Chemické listy* 91, s. 357-366, ISSN 0009-2770,

- [63] Váňa M., Matoušová L., Hubáčková J., Fuksa J., 2011: Účinnost procesů úpravy vody na odstraňování farmak, Vodárenská technologie, Výzkumný ústav T.G.Masaryka, s. 185-188,
- [64] Veger J., 1983: Reverzní osmóza – Hyperfiltrace vody se zřetelem k mikrobiologickým aspektům, Praha, str. 125, brožura
- [65] Vlková A., Wittlingerová Z., Zimová M., Jírová G., Kejlová K., Janoušek S., Jírová D., 2016: Genotoxicity of wastewater from health care facilities, Neuroendocrinology Letters, s. 25-32. Vol. 37, ISSN 0172-780X,
- [66] Vojtíšek P., 2015: Premedikace u dětí, Pediatrie pro praxi, 16(6), s. 375-378, ISSN 1803-5264,
- [67] Yablokov A. V., Ostroumov S. A., 1991: Conservation of Living Nature and Resources, Berlin: Springer, s. 18-19, ISBN 978-3-642-75378-7,
- [68] Zounková R., Odráška P., Doležalová L., Hilscherová K., Maršálek B., Bláha L., 2007: Ecotoxicity and genotoxicity assessment of cytostatic pharmaceuticals, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 26, Issue 10, s. 2208-2214

Internetové zdroje

- [1] ATSDR, ©2004: A Toxicological Profile for Vinyl Chloride, Draft for Public Comment, Public Health Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, (online), [cit. 2017-12-03], dostupné z - <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp20.pdf>
- [2] EMCDDA ©2017: Evropská zpráva o drogách: Trendy a vývoj, Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost, (online), [cit. 2018-03-27], s. 94, dostupné z - http://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/4541/TDAT17001CS_N.pdf

- [3] Groda B., Vítěz T., Machala M., Foller J., 2007: Čištění odpadních vod jako nástroj k ochraně životního prostředí v zemědělské praxi a na venkově, Ministerstvo zemědělství, (online), [cit. 2017-09-12], Brno dostupné z - http://eagri.cz/public/web/file/26962/cistení_odpadnich_vod.pdf
- [4] Herčík M., Dirner V., 2013: Ochrana životního prostředí. Modul 1: Environmentální vzdělávání, s. 99, (online), [cit. 2017-11-28], dostupné z - <https://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf/instituty-a-pracoviste/cs/546/studijni-materialy/EV-modul1.pdf>
- [5] Hon Z., 2013: Základy toxikologie pro obor vodního hospodářství, České Budějovice: Vysoká škola evropská a regionálních studií, s. 136, (online), [cit. 2018-03-18], dostupné z - http://www.vyzkumnecentrum-vsers.cz/wp-content/uploads/2014/04/ZAKLADY_TOXIKOLOGIE_PRO_OBOR_VOD_NIHO_HOSPODARSTVI.pdf
- [6] Horák J., Linhart I., Klusoň P., 2004: Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky, s. 189, (online), [cit. 2018-01-03], dostupné z - <http://lences.cz/domains/lences.cz/skola/subory/Skripta/BC03-Chemie%20a%20technologie%20vody/chemie%20a%20technologie%20vody%20-%20cistení%20odpadnich%20vod%20a%20zpracovani%20kalu.pdf>
- [7] Kožíšek F., Jeligová H., Němcová V., 2010: Hodnocení zdravotnických rizik niklu v pitné vodě, Hygiena, s. 40-45, (online), [cit. 2018-03-10], dostupné z - <http://apps.szu.cz/svi/hygiena/archiv/h2010-2-02-full.pdf>
- [8] Kožíšek F., Kos J., Pumann P., 2006: Hygienické minimum pro pracovníky ve vodárenství, Praha, s. 76, (online), [cit. 2017-12-20], dostupné z - <http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/hygmin2.pdf>

- [9] Lefnerová D., Šimůnek J., 2006: Antibiotika, Doplnkový výukový text z mikrobiologie pro studium výživy člověka, s. 23, (online), [cit. 2018-02-09], dostupné na <http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/atb.pdf>
- [10] Marková K., 2014: Úvod do studia životního prostředí, UJEP, Fakulta životního prostředí, s. 97, Ústí nad Labem, (online), [cit. 2018-01-10], dostupné z - http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/skripta/32e_final_tisk.pdf
- [11] Michalowicz J., Duda W., 2006: Phenols – Sources and Toxicity, Polish J. of Environ. Stud. Vol. 16, No. 3, s. 347-362, (online), [cit. 2018-02-05], dostupné z - <https://www.pjoes.com/pdf/16.3/347-362.pdf>,
- [12] Říha J., 2014: Voda jako složka biosféry, Encyklopedie vodního hospodářství I., Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, s. 95, (online), [cit. 2018-04-02], dostupné z - http://envimod.fzp.ujep.cz/sites/default/files/skripta/12e_final_tisk.pdf
- [13] SZÚ ©1998: Státní zdravotnický ústav: Zdravotní rizika a znečištění pitné vody, Subsystem 2, Odborná zpráva za rok 1997, (online), [cit. 2018-01-12], dostupné z - http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/monit/voda_97.pdf
- [14] SZÚ ©2003: Státní zdravotnický ústav: Standardní operační postupy pro biologické monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí, Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica, Číslo 3/2003, 1. vydání, duben 2003, Praha 5 – Zbraslav: Ústav jaderných informací, s. 177, (online), [cit. 2018-03-31], dostupné z - http://www.szu.cz/uploads/documents/knihovna_SVI/pdf/2003/full_2003_03.pdf
- [15] SZÚ ©2014: Státní zdravotnický ústav: Zpráva o zdraví obyvatel České republiky, Praha: Ministerstvo zdravotnictví České republiky, s. 156, (online),

[cit. 2018-03-20], dostupné z -
http://www.szu.cz/uploads/documents/czzp/aktuality/Cesi_ziji_dele_ale_trapi_je_civilizacni_nemoci/Zprava_o_zdravi_obyvatele_CR.pdf

[16] Špinar B., rok vydání neznámý: Využití membránové mikrofiltrace pro úpravu vody, PALL Austria Filter, s. 85-90, (online), [cit. 2018-04-13] dostupné na <http://www.smv.cz/res/data/024/002785.pdf>

[17] WHO ©2013: World Health Organization: Safe Management of wastes from health-care activities, (online), [cit. 2017-08-29], s. 308, dostupné z -
http://www.searo.who.int/srilanka/documents/safe_management_of_wastes_from_healthcare_activities.pdf?ua=1

[18] Zongping W., Miaomiao X., Kai H., Zizheng L., 2011: Textile Dyeing Wastewater Treatment, Advances in Treating Textile Effluent, s. 154, (online), [cit. 2018-03-13], dostupné na: <https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/22395.pdf>

Legislativní předpisy

[1] Jordanian Standard No. 1145/1996,

[2] Jordanian Standard No. 893/2002

[3] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, o změně směrnice 1999/45/ES a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 793/93, nařízení Komise (ES) č. 1488/94, směrnice Rady 76/769/EHS a směrnic Komise 91/155/EHS, 93/67/EHS, 93/105/ES a 2000/21/ES, v platném znění,

- [4] Nařízení vlády č. 57/2016 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění odpadních vod a náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod podzemních, v platném znění,
- [5] Nařízení vlády č. 143/2012 Sb. o postupu pro určování znečištění odpadních vod, provádění odečtů množství znečištění a měření, v platném znění
- [6] Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., nařízení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech,
- [7] Pollution Abatement Law 93/1962-Executive Regulations for Effluent Discharge and Decree, 1989,
- [8] Protection Of The Nile River And Its Waterways From Pollution, Law 48 Of 1982,
- [9] Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky, v platném znění,
- [10] Směrnice Rady č. 98/83/ES o jakosti vody určené k lidské spotřebě, v platném znění,
- [11] Směrnice Rady č. 91/271/EHS, o čištění městských odpadních, v platném znění,
- [12] S.O. 844(E), 1986, MINISTRY OF ENVIRONMENT AND FORESTS, Department of Environment, Forest and Wildlife,
- [13] Vyhláška č. 17/2009 Sb., o zjišťování a nápravě ekologické újmy na půdě,
- [14] Vyhláška č. 123/2012 Sb., o poplatcích za vypouštění odpadních vod do vod povrchových, v platném znění,

- [15] Vyhláška č. 225/2008 Sb., vyhláška, kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin, v platném znění,
- [16] Vyhláška č. 261/2016 Sb., o tabákových výrobcích, v platném znění,
- [17] Vyhláška č. 37/2017 Sb., o elektronických cigaretách, náhradních náplních do nich a bylinných výrobcích určených ke kouření, v platném znění,
- [18] Vyhláška č. 409/2005 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody, v platném znění,
- [19] Vyhláška MŽP č. 137/1999 Sb., kterou se stanoví seznam vodárenských nádrží a zásady pro stanovení a změny ochranných pásem vodních zdrojů, v platném znění,
- [20] The Environment, Law 4/1994,
- [21] Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně některých souvisejících zákonů,
- [22] Zákon č. 201/2012 Sb., o ochraně ovzduší, v platném znění,
- [23] Zákon č. 254/2001 Sb., Vodní zákon, v platném znění,
- [24] Zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích, v platném znění,
- [25] Zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých zákonů, v platném znění,
- [26] Zákon č. 350/2011 Sb., zákon o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů (chemický zákon), v platném znění,

Technické normy

[1] ČSN 75 6406, Odvádění a čištění odpadních vod ze zdravotnických zařízení, Český normalizační institut, Praha, 1996, s. 20,

7 Seznam použitých obrázků a tabulek

Obrázek č.1 : Objem vypouštěné odpadní vody a její složení, online, [cit. 2017-09-09], dostupné

z-<https://www.czso.cz/documents/10180/20534440/2141120302g.pdf/055e2e10-4971-48ea-83be-c36b182e8107?version=1.0>

Obrázek č. 2: znázorňuje modrou barvou výskyt zhoubného nádoru tlustého střeva u mužů a růžovou zhoubného nádoru u žen na 100 000 obyvatel dle okresů. (průměr 2004-2008) (Řezníčková 2012)

Tabulka č.1: Zatížení čističek odpadních vod v letech 2004-2011, online, [cit. 2017-09-08], dostupné z - <https://www.czso.cz/>