



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY  
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF  
ENVIRONMENTAL PROTECTION

# VYUŽITÍ KAPILÁRNÍ ZÓNOVÉ ELEKTROFORÉZY PRO STANOVENÍ VYBRANÝCH ANALGETIK VE VODÁCH

USE OF CAPILLARY ZONE ELECTROPHORESIS FOR DETERMINATION OF SELECTED  
ANALGETICS IN WATER

TEZE DIZERTAČNÍ PRÁCE  
THESIS OF DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

Ing. Lukáš Čapka

VEDOUCÍ PRÁCE  
SUPERVISOR

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

BRNO 2011

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

léčiva, analgetika, nesteroidní protizánětlivé látky, odpadní voda, extrakce tuhou fází, kapilární zónová elektroforéza

## **KEYWORDS**

pharmaceuticals, analgetics, non-steroidal anti-inflammatory drugs, wastewater, solid phase extraction, capillary zone electrophoresis

Dizertační práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího dizertační práce a děkana FCH VUT.

Vysoké učení technické v Brně  
Fakulta chemická  
Purkyňova 464/118  
612 00 Brno

## OBSAH

|                                                                        |           |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 ÚVOD .....</b>                                                    | <b>4</b>  |
| <b>2 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>                                         | <b>5</b>  |
| <b>2.1 Analgetika.....</b>                                             | <b>5</b>  |
| <b>2.2 Distribuce léčiv v organismu .....</b>                          | <b>5</b>  |
| <b>2.3 Cyklus léčiva v životním prostředí.....</b>                     | <b>6</b>  |
| 2.3.1 Zdroje průniku léčiv do životního prostředí .....                | 6         |
| <b>2.4 Léčiva v čistírnách odpadních vod.....</b>                      | <b>7</b>  |
| 2.4.1 Procesy a provozní podmínky.....                                 | 7         |
| 2.4.2 Účinnost odstranění .....                                        | 8         |
| <b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>                                     | <b>9</b>  |
| <b>3.1 Sledovaná matrice.....</b>                                      | <b>9</b>  |
| 3.1.1 Odpadní voda z ČOV do 10 000 EO .....                            | 9         |
| 3.1.2 Odpadní voda z velkokapacitní ČOV .....                          | 9         |
| <b>3.2 Pracovní postupy .....</b>                                      | <b>10</b> |
| 3.2.1 Výběr vhodných NSAIDs pro analýzu .....                          | 10        |
| 3.2.2 Odběry vzorků .....                                              | 10        |
| 3.2.3 Úprava vzorků.....                                               | 10        |
| 3.2.4 Nastavení optimálních parametrů CZE.....                         | 10        |
| <b>4 VYBRANÉ PODSTATNÉ VÝSLEDKY DIZERTAČNÍ PRÁCE.....</b>              | <b>12</b> |
| 4.1.1 Stanovení NSAIDs na ČOV do 10 000 EO .....                       | 12        |
| 4.1.2 Stanovení NSAIDs na velkokapacitní ČOV .....                     | 14        |
| 4.1.3 Porovnání vybraných ČOV při odbourávání sledovaných analytů..... | 16        |
| <b>4.2 Porovnání získaných dat s publikovanými údaji.....</b>          | <b>18</b> |
| <b>5 ZÁVĚR .....</b>                                                   | <b>20</b> |
| <b>6 ŽIVOTOPIS.....</b>                                                | <b>21</b> |
| <b>7 VĚDECKÉ AKTIVITY.....</b>                                         | <b>22</b> |
| <b>8 ABSTRAKT .....</b>                                                | <b>23</b> |
| <b>9 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>                                 | <b>24</b> |

# 1 ÚVOD

Během posledních několika let se nejen u nás, ale na celém světě stala velmi populární otázka ochrany životního prostředí. Z hlediska environmentální analýzy se začaly zkoumat nové kontaminanty, které se však již velmi dlouhou dobu dostávají do životního prostředí. Jedněmi z těchto polutantů jsou biologicky aktivní látky. Tato skupina látek má neblahý vliv na celý ekosystém z důvodu bioakumulace v nejrůznějších složkách životního prostředí. Patří mezi ně i léčiva, u kterých prokazatelně stoupá spotřeba, a to v důsledku neustále se zvyšující životní úrovně. Se zvyšující se spotřebou však také roste koncentrace odpadních produktů, kam tyto látky mohou pronikat jak v původní, tak v metabolizované formě.

Mezi jedny z nejpoužívanějších léčiv patří skupina nesteroidních protizánětlivých látek, také někdy nazývaná analgetika-antipyretika. Tyto přípravky jsou velmi oblíbené zejména proto, že velké procento z nich lze koupit volně bez lékařského předpisu. V domácnostech se tak mohou nacházet i v nadměrných množstvích a po uplynutí expirační doby se pak často nespřícně likvidují. Dostávají se tak do odpadní vody, která je největším prokázaným zdrojem kontaminace životního prostředí. Během posledních let bylo vybudováno nebo zrekonstruováno velké množství čistíren odpadních vod. Problémem ovšem zůstala nedokonalá technologie, vhodná pro odbourávání těchto biologicky aktivních látek. Ty totiž nejen že nejsou z odpadní vody zcela odstraněny, ale také neblaze působí na biologické procesy využívané při čištění. Z těchto důvodů se potom dostávají do recipientu, povrchové vody a dále do různých složek životního prostředí.

Pokud je prokazatelná zvyšující se spotřeba těchto látek a jejich následný průnik do ekosystému, je naprosto nezbytné tyto polutanty neustále monitorovat a vyvíjet nové a dokonalejší metody pro jejich stanovení. Kapilární zónová elektroforéza je metoda poměrně instrumentálně nenáročná a rychlá. Velkou výhodou ve srovnání s chromatografickými metodami, je velmi malá spotřeba vzorku a chemikálií. S tím souvisí nejenom nižší finanční náklady, ale zejména možnost vyššího zakoncentrování vzorku do menšího objemu při extrakci, a tím docílit nižších limitů detekce. Cílem této práce je proto optimalizovat tuto metodu tak, aby bylo možné ji použít na sledování cílových analytů ve vodním ekosystému.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Analgetika

Analgetika jsou látky, které snižují, až potlačují pocit bolesti, aniž by však výrazně ovlivňovaly smyslové vnímání a vědomí. Přestože analgetika neléčí příčinu onemocnění, jejich podávání může významně napomáhat vlastnímu léčení tím, že snižují zátěž a stres organismu způsobený bolestí, zánětem a zvýšenou teplotou (1). Dělíme je na silně účinná, označovaná jako opioidní analgetika (anodyna) a analgetika-antipyretika, která současně působí centrálním i periferním mechanismem. Jejich účinek není tak silný jako u opioidních analgetik, ale kromě analgetického účinku snižují i zvýšenou tělesnou teplotu a mají rovněž protizánětlivé účinky. Tato velká skupina farmak se dnes nejčastěji označuje jako nesteroidní protizánětlivé látky (NSAIDs) (2).

Hlavním představitelem této skupiny i standardem pro srovnání je kyselina acetylsalicylová (aspirin). V současnosti existuje několik desítek NSAIDs, z nichž asi dvacet tvoří hlavní komponenty stovek hromadně vyráběných léčivých přípravků tlumících bolest. Existuje i mnoho kombinovaných přípravků, kde i adjuvantní lék může nejen příznivě ovlivnit terapeutický účinek, ale zejména zesílit nežádoucí účinky.

Jedná se o látky spadající do mnoha odlišných chemických skupin. Většinu jejich (i nežádoucích) účinků lze vysvětlit stejným mechanismem jako jejich terapeutické účinky. Kyselina acetylsalicylová (ASA) a další NSAIDs inhibují cyklooxygenázu (COX); ve vyšších koncentracích inhibují i řadu dalších enzymů (podílejí se na vzniku některých nežádoucích účinků). Účinek některých látek je např. omezen jen na místa s nízkým obsahem peroxidů. To vysvětluje antipyretický účinek paracetamolu jeho působením v hypothalamu, ale také chybění jeho periferního protizánětlivého účinku ve tkáních. Trombocyty jsou obzvláště citlivé k účinkům ASA (nemají schopnost regenerace COX). Tohoto efektu se využívá k prevenci agregačních funkcí krevních destiček (2).

### 2.2 Distribuce léčiv v organismu

Interakce léčivo-organismus jsou poměrně komplikované a představují soubor propojených a vzájemně podmíněných procesů. Distribuci léčiva v organismu významně ovlivňuje jeho vazba na proteiny krevní plasmy. Léčivo ve volné formě je v organismu většinou vystaveno působení nespecifických enzymových reakcí, při kterých dochází k jeho přeměnám (biotransformaci, metabolismu) na látky lépe rozpustné ve vodě, a proto schopné vyloučení (exkrece) z organismu. Při biotransformaci mohou vznikat metabolity, které vykazují stejný farmakologický účinek jako původní látka. Metabolická přeměna však může vést k neúčinné látce (inaktivace, detoxikace) nebo naopak k látce účinnější (aktivace). Jsou známy i případy, kdy metabolickými přeměnami vzniká látka toxická nebo výrazně toxičtější než látka původní (např. přeměna methanolu na formaldehyd). Jen výjimečně nedochází v organismu k biotransformaci látek. Biotransformace je většinou dvoustupňový proces. V první fázi probíhá oxidace, redukce nebo hydrolýza za vzniku metabolitů, které jsou obvykle polárnější, a proto lépe rozpustné v tělních tekutinách než původní látka. V druhé fázi probíhají konjugace (syntetické) reakce s endogenními produkty normálního metabolismu a vzniklý konjugát, který je ve vodě rozpustný, se vylučuje převážně močí, stolicí a potem (1).

## 2.3 Cyklus léčiva v životním prostředí

V posledních letech se rapidně zvýšilo užívání farmaceutických a hygienických přípravků. Ročně je celosvětově vyprodukováno několik kilotun běžných nesteroidních antiflogistik, jako je např. ibuprofen (3). Léčiva, která po požití projdou trávicím traktem, vstupují do čistíren odpadních vod a touto cestou se tak dostávají do vodního ekosystému a do vodního hospodářství. Pokud jsou tyto farmaceutické výrobky biologicky aktivní, mají negativní vliv na vodní i suchozemské ekosystémy a mívají tendenci k bioakumulaci (4). Jiné cesty průniku léčiv do životního prostředí vznikají již při samotné výrobě a rovněž při neodborné likvidaci nepoužitých nebo prošlých léků (5). Dalším problémem je to, že vysoké procento léčiv je z těla vyloučeno v nemetabolizované formě a vstupuje do odpadních vod jako biologicky aktivní látky, jejichž environmentální dopad není dosud jednoznačně objasněn. Dalšími procesy se mohou tyto látky sorbovat do půdních sedimentů nebo se mohou částečně rozdělit mezi vodnou a organickou fázi a vstupovat tak do potravního řetězce (6).

### 2.3.1 Zdroje průniku léčiv do životního prostředí

Rezidua léčiv vstupují do životního prostředí třemi základními cestami; úmyslným nebo neúmyslným únikem z podniků vyrábějících léčiva, vypouštěním veterinárních nebo zemědělských farmak po terapeutickém nebo komerčním použití a průnikem humánních léčiv, převážně z odpadních vod (7).

#### 2.3.1.1 Kontaminace z podniků vyrábějících léčiva

Výrobní léčiv jsou spojeny s relativně nízkým stupněm kontaminace životního prostředí, neboť jejich odtoky bývají pečlivě monitorovány. Místní předpisy obvykle předcházejí jakýmkoli záměrným únikům kontaminovaného materiálu do životního prostředí. Pokud dojde k nehodě, znečištění do okolí bývá většinou bodové a procesy dekontaminace bývají zpravidla okamžité a efektivní (8).

#### 2.3.1.2 Kontaminace ze zemědělství

Veterinární farmaka bývají používána v mnoha rozličných aplikacích, jako stimulatory růstu u dobytka, kokcidistatika u drůbeže, přídavky do krmiva na rybích farmách, jako kombinované veterinární farmaceutické prostředky nebo jako pesticidy (4). Mezi nejčastěji používané substance patří několik druhů antibiotik, směsi těžkých kovů a hormony. Antibiotika jsou rozsáhle používána v živočišné výrobě, kde přináší okamžitý komerční přínos. Například profylaktické užívání antibiotik minimalizuje ztráty způsobené chorobami a kontaminace je přípustná díky vysoké hustotě zemědělské výroby (9).

Léčiva používaná v zemědělském průmyslu vstupují do životního prostředí prostřednictvím zvířecích exkrementů přímo nebo při jejich aplikaci jako hnojiva (10). V každém případě antibiotika přechází rovnou ze zvířat do životního prostředí, a to bez možné transformace na méně aktivní metabolity v čistírnách odpadních vod. Biodegradace probíhající v zažívacím traktu zvířat připadá sice v úvahu, avšak platí pouze pro omezené množství látek. Bylo dokázáno, že 30–90 % podané dávky antibiotik vstupuje do životního prostředí v nezměněné podobě (4).

### **2.3.1.3 Kontaminace z čistíren odpadních vod a ze skládek odpadů**

Existují dva hlavní zdroje humánních léčiv, které se nacházejí v odpadech ČOV. Jsou to léčiva a jejich metabolity pocházející z domácností a od pacientů z nemocnic, klinik nebo jiných lékařských zařízení, a to buď jako aplikovaná nebo nevyužitá. Rozdíl mezi oběma typy spočívá v tom, že nepoužitá léčiva vstupují do ČOV v jejich účinné formě díky tomu, že se vyhnula potenciální biotransformaci uvnitř těla (8).

Velké množství farmak, zahrnující analgetika, stimulancia, nesteroidní antiflogistika, karbamazepamin, artorvastatin, gemfibroxil a estradiol, bylo identifikováno v kalech a odpadních vodách z čistíren odpadních vod, a to v rozmezí hodnot od  $\text{ng.l}^{-1}$  do  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (6). Tyto koncentrace se nalézají v odtokových vodách navzdory různým stupňům čištění a poukazují na skutečnost, že tradiční metody čištění odpadních vod, jakými jsou mikrobiální degradace s koagulací nebo flokulací, neposkytují dostatečnou záruku odstranění těchto kontaminantů (11).

## **2.4 Léčiva v čistírnách odpadních vod**

### **2.4.1 Procesy a provozní podmínky**

V čistírnách odpadních vod působí proti dalšímu šíření kontaminace léčivy dva hlavní procesy: adsorpce/absorpce a biodegradace (12).

Adsorpce má za následek odstranění léčiv buď pomocí koloidně zachycených částic, nebo sedimentací do kalu (13). Je závislá přímo na hydrofobních a elektrostatických interakcích mezi léčivem a částicemi nebo mikroorganismy a dále, a to v mnohem větší míře, na provozních podmínkách v ČOV, jako jsou pH a hydraulický retenční čas. Polární léčiva (ibuprofen, naproxen, diklofenak, indomethacin), jejichž hodnoty  $\text{pK}_a$  se pohybují v rozmezí od 4,1 do 4,9, se ve vodě nacházejí hlavně v disociovaném stavu a vykazují tak malou tendenci k sorbování do kalu.

Proces koagulace popř. flokulace, jakožto sekundární stupeň čištění, může být účinný v případě odstraňování kontaminantů z volné vody, ale nemusí nutně snižovat potenciální ohrožení životního prostředí těmito kontaminanty. Čistírenský kal s vysokým obsahem organických látek je dle příslušných nařízení, která upravují nakládání s odpady, skládkován. Následným vymýváním se však kontaminanty mohou dostávat zpět do vodního prostředí (14).

Biodegradace, zprostředkovaná působením mikroorganismů, je jeden ze dvou způsobů biotransformace probíhajících na čistírnách odpadních vod (8). Je to primární proces vedoucí k odstranění rozpuštěných látek, který probíhá buď aerobně, za pomoci aktivovaného kalu, anebo anaerobně, díky vyhnívání (15). Biodegradace je závislá na faktorech přímo souvisejících se životním prostředím (teplota a pH), mikrobiálním složením, chemickými vlastnostmi výsledných sloučenin a provozními podmínkami čistírny. Např. když poklesne pH, adsorpce mnoha polárních disociovaných nesteroidních antiflogistik může vzrůstat díky snížení jejich potenciálu pro biodegradaci. Míra biodegradace může být také ovlivněna hydraulickým retenčním časem (13). Mikrobiální aktivita je citlivá na velké množství různých fyzikálních a chemických podmínek prostředí a přítomnost nebo naopak absenci toxických činitelů. Podmínky prostředí ovlivňují rychlost mikrobiální degradace kontaminantů působením na druh

a rychlost metabolické aktivity mikroorganismů. Komunální odpady často obsahují relativně vysoké koncentrace antibiotik a desinfekčních prostředků. Koncentrace antibiotik v ČOV může dosahovat až  $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ . Bylo prokázáno, že koncentrace desinfekčního prostředku benzochloridu v odpadu z nemocnic byla cca  $6 \text{ mg.l}^{-1}$  a amonných iontů v komunálním odpadu v rozmezí 0,05 až  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$  (6). Tyto sloučeniny jsou speciálně určeny k potlačení růstu mikroorganismů. V tomto případě může mikrobiální inhibice vést k poklesu organismů v provozních podmínkách čistírny a následnému poklesu účinnosti čištění (16).

Proces oxidace prováděný buď chemicky, nebo pomocí UV záření, který bývá zahrnutý v posledním terciárním stupni čištění, je spíše než na toxikologická rizika spojená s léčivý, zaměřen na odstraňování patogenních organismů. V podstatě však může mít i opačný efekt, a to v případě, že produkty oxidace mohou vykazovat ještě vyšší toxicitu než primární sloučeniny (8).

#### **2.4.2 Účinnost odstranění**

Nejběžnějším způsobem detekce léčiv v prostředí je měření jejich koncentrací na přítoku do ČOV a na odtoku z ČOV. Tato metoda však nebyla standardizována, a tak se výsledky velmi liší v závislosti na použitých konstrukčních a čistících technologiích, hydraulickém retenčním čase, ročním období, počasí a technikách měření (17). Měření koncentrace kontaminantů na přítoku a odtoku za standardizovaných podmínek může být i tak zavádějící. Zaprvé, léčiva mohou být sice z odtoku odstraněna, avšak jsou často pouze přesunuta do komponentů kalu. Zadruhé se neuvažuje s produkty degradace. Tyto produkty mohou obsahovat stejně nebezpečné nízkomolekulární látky nebo konjugáty biotransformace, které mohou být následně dekonjugovány a uvolněny jako původní sloučeniny (18). Navzdory všem různým technikám, ovlivňujícím přítomnost léčiv v prostředí, je některé sloučeniny nadmíru obtížné odstranit (6).



## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Sledovaná matrice

Sledovanou maticí byla odpadní voda odebíraná na ČOV. U těchto druhu vod je předpokládána největší míra znečištění biologicky aktivními látkami, tj. i léčivy. Voda byla na ČOV odebírána jak na přítoku, tak na odtoku, za účelem porovnání účinnosti odbourání cílových analytů. Dalším sledovaným kritériem byl vliv použité technologie čištění na odbourání léčiv. Z toho důvodu byly vybrány dvě ČOV s rozdílnou kapacitou ekvivalentních obyvatel (EO).

#### 3.1.1 Odpadní voda z ČOV do 10 000 EO

Vybraná čistírna byla projektována pro 6 990 EO (současná kapacita je 5 250 EO) a jsou na ni napojeny dvě menší obce. Průměrný přítok činí  $73,6 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  a maximální  $95 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ . Zadrž čistírny je cca 2 dny, v závislosti na množství přitékající odpadní vody. Z hlediska technologie čištění se jedná o mechanicko-biologickou ČOV s dlouhodobou aktivací a aerobní stabilizací kalu v oběhové nádrži. Je určena pro čištění splaškových a srážkových odpadních vod komunálního charakteru. Mechanická část je tvořena jemnými česlemi, lapákem písku a dešťovou zdrží, biologickou tvoří dvojice oběhových nádrží a čtveřice dosazovacích nádrží. Kalovou koncovku reprezentuje dvojice uskladňovacích nádrží a strojní odvodnění stabilizovaného kalu.

Co se týče charakteristiky odpadní vody, jedná se (kromě srážkových vod) především o vody splaškové a z části také o vody technologické pocházející z menších podniků. Vzhledem ke sledovaným analytům je však nutné zmínit, že v obcích se nachází zdravotnická zařízení, především zdravotní středisko a soukromá poliklinika (19).

#### 3.1.2 Odpadní voda z velkokapacitní ČOV

Další vybranou čistírnou byla velkokapacitní ČOV v Brně-Modřicích, navržená pro 630 tis. EO s průměrným přítokem  $7 020 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  (max přítok  $15 199 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ). Tato čistírna slouží pro čištění odpadních vod z města Brna a širokého okolí (Kuřim, Modřice, Želešice, Česká u Brna, Šlapanice, Šlapanice-Bedřichovice, Ostopovice, Moravské Knínice, Lipůvka, Podolí, Ponětovice a Rozdrojovice). V případě vyššího přítoku, např. za deště, se voda nejprve kumuluje v dešťové zdrži s kapacitou  $10 500 \text{ m}^3$  a teprve po skončení dešťové události je přečerpávána zpět na ČOV. Zadrž čistírny je 24 hodin. Mechanickou část čistírny tvoří lapák hrubého šterku, jemné česle, lapák písku (se separací tuku) a šest usazovacích nádrží. Biologická část je tvořena dvěma aktivačními nádržemi, které lze provozovat samostatně nebo společně. Voda je přiváděna nejprve do anaerobní nádrže s funkcí defosfatase, následně do oběhové anoxické nádrže s funkcí předřazené denitrifikace. Posledním stupněm aktivace je oxická část s jemnobublinou aerací rozdělená na provzdušňovanou a neprovzdušňovanou zónu. Z aktivačních nádrží postupuje směs do šesti dosazovacích nádrží. Přebytečný aktivovaný kal je zpracováván v kalovém hospodářství, které tvoří zahušťovací nádrž primárního kalu, floatační zahušťovač pro biologický kal, homogenizační, vyhnívací a uskladňovací nádrže, zařízení na odvodňování kalu a sušárna kalu. Bioplyn, produkováný při vyhnívání kalu, je odváděn z vyhnívacích nádrží, kumulován ve dvou membránových plynojemech a poté využíván pro výrobu elektrické energie a tepla v kogeneračních jednotkách (20).

## **3.2 Pracovní postupy**

### **3.2.1 Výběr vhodných NSAIDs pro analýzu**

Na základě zpráv Státního ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL) byla vybrána tato analgetika: paracetamol (PAR), ibuprofen (IBU), kyselina salicylová (SAL), diklofenak (DIC), ketoprofen (KET) a naproxen (NAP), jakožto léčiva obsažená v nejčastěji prodávaných přípravcích pro potlačení bolesti. Údaje byly zpracovány za období let 2008–2010, a to vždy po každém čtvrtletí. Získané hodnoty informují o distribuci léčivých přípravků lékárnám, jiným zdravotnickým zařízením a prodejcům vyhrazených léčiv.

### **3.2.2 Odběry vzorků**

Vzorky odpadních vod byly odebírány během června – srpna 2011. V případě velkokapacitní čistírny bylo k odběru použito automatického vzorkovače, díky němuž byl získán slévaný 24hodinový směsný vzorek, který byl odebírán každý den v 6 hodin ráno. U čistírny do 10 000 EO byl odebírán prostý jednorázový vzorek vždy mezi 9–11 ranní hodinou. Vzorky byly před zpracováním uchovávány v lednici, při teplotě 4 °C. Pro přepravu do laboratoře byly v obou případech použity tmavé skleněné vzorkovnice o objemu 1 litr, umístěné v přenosné lednici s pasivním chlazením. Zpracování vzorku proběhlo vždy nejpozději do 2 dnů po jeho odběru.

### **3.2.3 Úprava vzorků**

Prvním krokem úpravy všech vzorků byla vždy filtrace, která byla prováděna z důvodu odstranění suspendovaných látek, které by komplikovaly další preanalytickou úpravu. Odpadní voda byla za sníženého tlaku filtrována přes papírové filtry pomocí Büchnerovy nálevky, odsávací baňky a vodní vývěvy. U vzorků z přítoku byly postupně použity filtrační papíry Munktell Filtrak s označením 388 a 390, čímž bylo zajištěno dostatečné přečištění vzorku a zároveň zachována potřebná rychlost filtrace. U odtokových vzorků byl použit pouze filtr 390.

Po přefiltrování byla následně u všech vzorků změřena a zaznamenána hodnota pH. Pro následující preanalytický postup, extrakci tuhou fází (SPE), bylo pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové upraveno pH všech vzorků na hodnotu 2. Vzorky odpadní vody byly poté rozděleny po 3 × 300 ml do uzavíratelných skleněných nádob.

Pro extrakci tuhou fází byly vybrány kolonky Oasis HLB se speciálním sorbentem obsahujícím hydrofilní i lipofilní složku. Po provedení extrakce do methanolu, byl vzorek pomocí dusíku vysušen a následně znovu rozpuštěn v základním elektrolytu, pro vlastní měření na kapilární elektroforéze. Při optimalizaci extrakce byly brány v potaz vlivy pH, objemy vzorku a elučního činidla a také koncentrační hladina analytu ve vzorku.

### **3.2.4 Nastavení optimálních parametrů CZE**

Při separaci na kapilární elektroforéze je nutné zajistit, aby cílové analyty nesly elektrický náboj. V případě sledovaných NSAIDs se pak jedná o látky se záporným nábojem, vzniklým

disociací karboxylových, případně hydroxylových skupin. Podle toho byly také optimalizovány podmínky separace.

Použitým detektorem bylo DAD, a proto byla nejdříve zjištěna absorpční maxima všech sledovaných látek na UV/VIS spektrometru. Poté byly do přístroje pro CZE zadány hodnoty detekčních vlnových délek a ostatní optimalizované parametry. Kvantifikace v reálných vzorcích byla prováděna pomocí sestavené kalibrační křivky a spolu s ní byly vypočteny také limity detekce a stanovitelnosti.

Pro snadnější identifikaci analytů v reálných vzorcích bylo pro rozpouštění odparku po SPE využito roztoku základního elektrolytu se standardním přídatkem všech stanovovaných léčiv o koncentraci  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tento roztok byl vždy samostatně proměřen spolu se sadou vzorků odpadní vody, tak aby bylo možné z kalibrační křivky odečíst vždy přesnou hodnotu koncentrace všech analytů.

Tab. 1: Hodnoty LOD a LOQ pro optimalizovanou metodu (v  $\mu\text{g.l}^{-1}$ )

|     | PAR  | KET  | DIC  | IBU  | NAP  | SAL  |
|-----|------|------|------|------|------|------|
| LOQ | 1,54 | 4,27 | 3,28 | 3,90 | 1,67 | 1,54 |
| LOD | 0,46 | 1,28 | 0,98 | 1,17 | 0,50 | 0,46 |

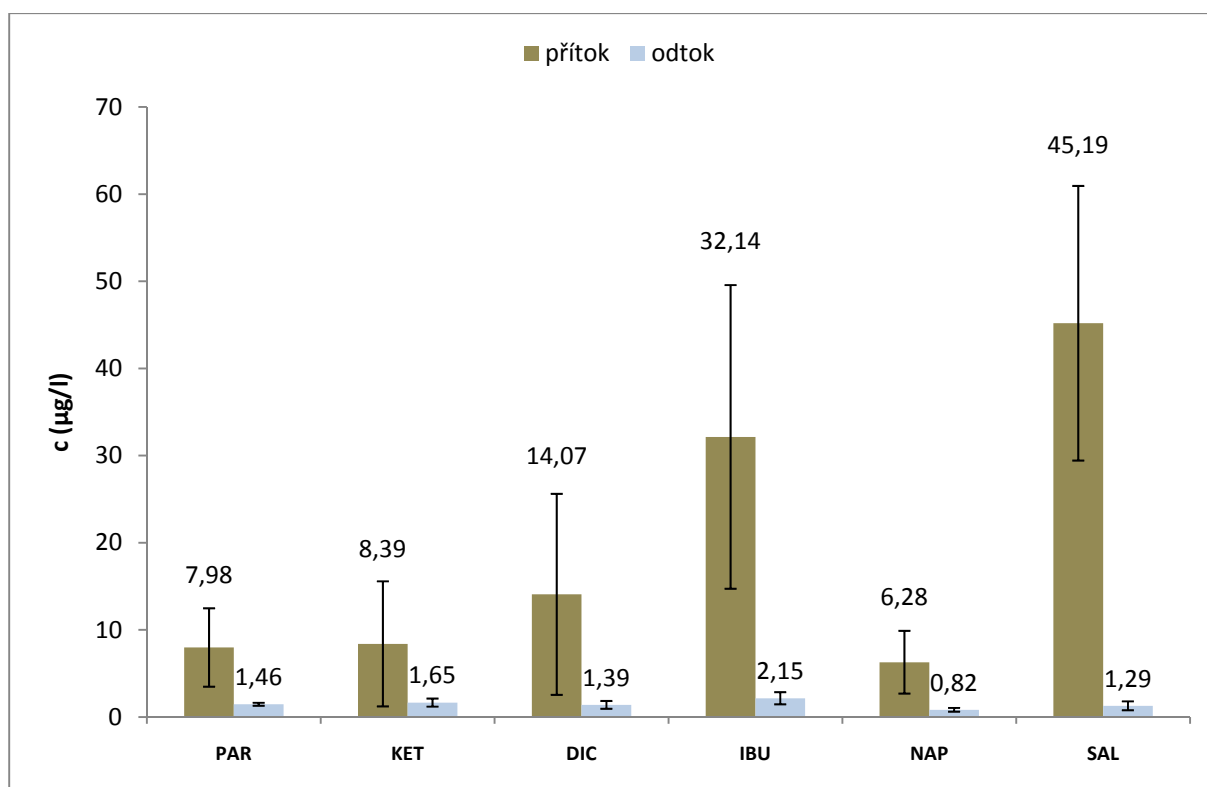
## 4 VYBRANÉ PODSTATNÉ VÝSLEDKY DIZERTAČNÍ PRÁCE

### 4.1.1 Stanovení NSAIDs na ČOV do 10 000 EO

Na vybrané čistírně bylo odebráno celkem 24 vzorků, během měsíců června a července roku 2011. Ve vzorcích byla nejprve změřena hodnota pH a poté dle vypracovaného postupu vyhodnoceny koncentrace sledovaných analytů. Dále byla sledována účinnost ČOV při odbouřování kontaminantů. Při vyhodnocení bylo nutné zohlednit dobu zdržení odpadní vody, která činí cca 2 dny. Z toho důvodu bylo možné vypočítat účinnost ČOV pouze u některých vzorků.

Tab. 2: Koncentrace sledovaných NSAIDs v  $\mu\text{g.l}^{-1}$  na přítoku a odtoku ČOV do 10 000 EO

| datum odběru | 22.6.  |       | 23.6.  |       | 27.6.  |       | 28.6.  |       |
|--------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 2,08   | < LOD | 3,39   | < LOD | 10,76  | < LOD | 2,09   | < LOD |
| KET          | 10,76  | < LOD | 19,52  | < LOD | 23,64  | < LOD | 4,87   | < LOD |
| DIC          | 22,18  | 1,26  | 38,67  | < LOD | 26,51  | < LOD | 1,45   | < LOD |
| IBU          | 54,77  | 3,32  | 57,37  | 1,46  | 45,19  | < LOD | 26,43  | < LOD |
| NAP          | 1,56   | < LOD | 8,89   | < LOD | < LOD  | < LOD | 1,43   | < LOD |
| SAL          | 55,82  | < LOD | 64,40  | < LOD | 30,54  | < LOD | 53,52  | < LOD |
| datum odběru | 29.6   |       | 30.6.  |       | 4.7.   |       | 7.7.   |       |
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 4,52   | < LOD | 11,65  | < LOD | 12,01  | < LOD | 9,41   | < LOD |
| KET          | 2,52   | 1,30  | 13,47  | 2,31  | 1,54   | < LOD | 2,18   | < LOD |
| DIC          | 5,96   | 2,26  | 3,83   | 0,99  | 8,64   | < LOD | < LOD  | < LOD |
| IBU          | 16,64  | 1,44  | 18,18  | < LOD | 48,58  | 2,74  | 14,28  | < LOD |
| NAP          | 8,57   | 0,99  | 2,88   | 1,08  | 9,07   | 0,68  | 12,05  | 0,55  |
| SAL          | 53,66  | 2,39  | 42,18  | 1,37  | 54,04  | 1,69  | 45,51  | 0,75  |
| datum odběru | 18.7.  |       | 19.7.  |       | 20.7.  |       | 21.7.  |       |
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 11,95  | < LOD | 13,70  | < LOD | 12,11  | 1,63  | 2,05   | 1,29  |
| KET          | 3,17   | < LOD | 4,64   | < LOD | 6,02   | 1,36  | < LOD  | < LOD |
| DIC          | 3,76   | < LOD | 10,52  | 1,28  | 19,23  | 1,14  | < LOD  | < LOD |
| IBU          | 41,46  | 2,25  | 42,39  | 1,68  | 17,83  | < LOD | 2,59   | < LOD |
| NAP          | 4,30   | < LOD | 7,79   | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD |
| SAL          | 34,95  | 0,93  | 39,74  | 0,81  | 62,80  | 1,04  | 5,07   | 1,30  |



Obr. 1: Průměrné koncentrace jednotlivých analytů na ČOV do 10 000 EO

Z výsledků měření vyplývá, že nejčastěji detekovanými analyty na přítoku ČOV byla kyselina salicylová ( $45,19 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) a ibuprofen ( $32,14 \mu\text{g.l}^{-1}$ ), což odpovídá získaným údajům ze SÚKL, podle kterých patří mezi nejoblíbenější preparáty z této farmaceutické skupiny látek. Jako další by se měl podle těchto údajů ve vyšších koncentracích pohybovat i paracetamol, avšak u tohoto analytu nebylo při skupinovém stanovení dosaženo potřebných hodnot účinnosti extrakce. Určitou možností pro vysvětlení je to, že je tato látka velmi dobře odbouratelná již při samotném metabolismu, nebo následném postupném rozkladu v odpadní vodě, ještě před přítokem na ČOV.

Při studiu účinnosti ČOV při odbourávání sledovaných analytů (Tab. 3) bylo zjištěno, že nejlépe odbouratelnými analyty jsou ibuprofen, kyselina salicylová a paracetamol, u kterých bylo dosaženo průměrné hodnoty nad 90 %. U ketoprofenu, diklofenaku a naproxenu se průměrné hodnoty pohybovaly mezi 70–80 %. Je však nutno dodat, že ve většině případů se hodnoty koncentrací na odtoku pohybovaly pod mezí detekce nebo těsně nad ní. Nízké koncentrace všech analytů na přítoku dne 21. 7. lze vysvětlit rozředěním odpadní vody již v kanalizaci vodou srážkovou, v důsledku vydatného deště.

Tab. 3: Účinnost ČOV do 10 000 EO při odbourávání cílových analytů (v %)

| datum odběru | 27.6. | 28.6. | 18.7. | 19.7. |
|--------------|-------|-------|-------|-------|
| PAR          | ≈ 100 | ≈ 100 | 86    | 91    |
| KET          | 95    | 53    | 57    | ≈ 100 |
| DIC          | 91    | 31    | 70    | ≈ 100 |
| IBU          | 97    | ≈ 100 | ≈ 100 | ≈ 100 |
| NAP          | < LOD | 25    | ≈ 100 | ≈ 100 |
| SAL          | 92    | 97    | 97    | 97    |

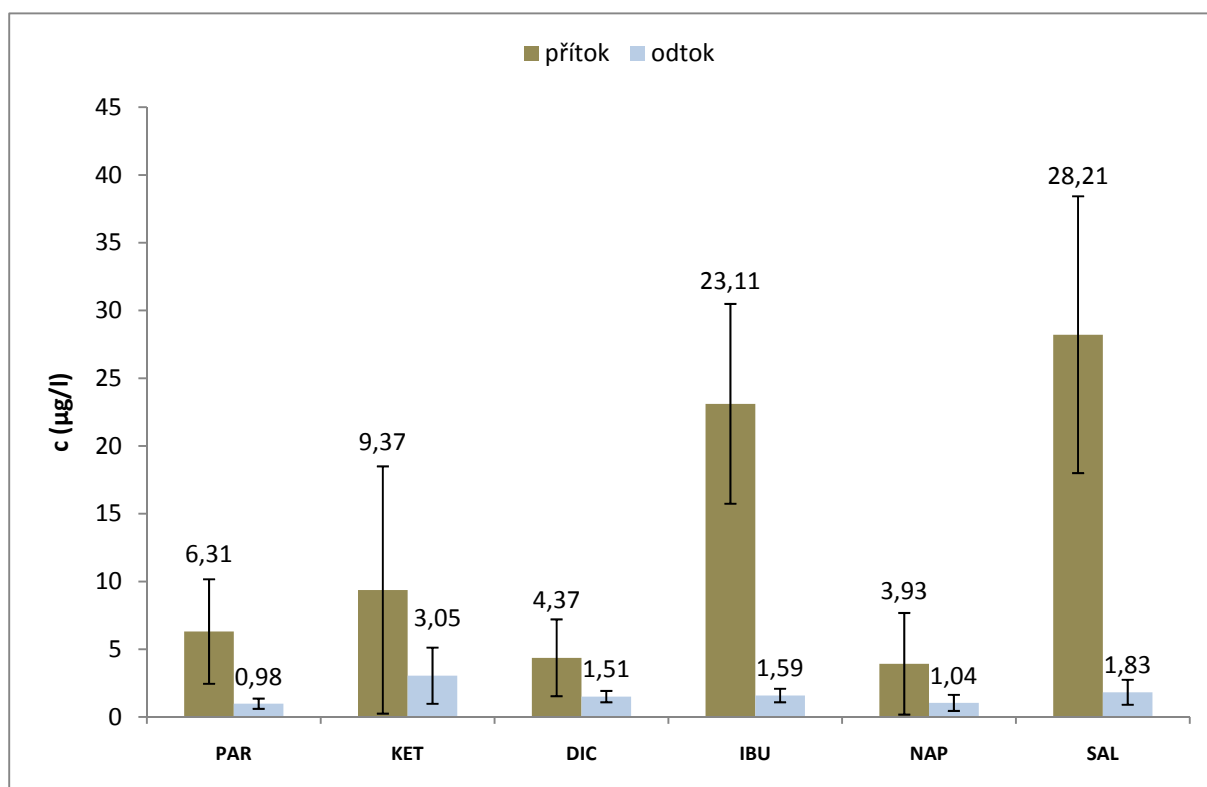
#### 4.1.2 Stanovení NSAIDs na velkokapacitní ČOV

Na velkokapacitní ČOV Brno-Modřice bylo odebráno celkem 40 vzorků, během měsíců července a srpna roku 2011.

Tab. 4: Koncentrace sledovaných NSAIDs v  $\mu\text{g.l}^{-1}$  na přítoku a odtoku velkokapacitní ČOV

| datum odběru | 25.7.  |       | 26.7.  |       | 27.7.  |       | 28.7.  |       |
|--------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 10,12  | < LOD | 11,33  | 0,94  | 11,31  | 1,65  | 1,00   | < LOD |
| KET          | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD | 2,15   | < LOD |
| DIC          | 8,92   | 1,09  | 5,94   | 1,02  | 1,36   | < LOD | 1,59   | < LOD |
| IBU          | 20,79  | < LOD | 21,16  | < LOD | 18,59  | < LOD | 10,94  | < LOD |
| NAP          | 1,95   | 1,22  | 1,04   | 0,51  | < LOD  | 0,52  | < LOD  | < LOD |
| SAL          | 30,38  | 2,77  | 28,98  | 1,46  | 23,64  | 1,09  | 13,60  | < LOD |
| datum odběru | 29.7.  |       | 1.8.   |       | 2.8.   |       | 3.8.   |       |
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 1,26   | < LOD | 2,67   | < LOD | < LOD  | < LOD | 3,72   | < LOD |
| KET          | 5,24   | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD |
| DIC          | 9,46   | < LOD | 6,39   | 1,72  | 5,89   | 2,17  | 1,55   | 1,36  |
| IBU          | 17,91  | < LOD | 27,02  | 1,37  | 21,74  | < LOD | 20,68  | < LOD |
| NAP          | < LOD  | < LOD | 3,71   | 2,35  | 1,44   | 1,30  | 0,61   | < LOD |
| SAL          | 21,29  | < LOD | 40,27  | 3,53  | 30,21  | 2,72  | 42,80  | 2,44  |
| datum odběru | 4.8.   |       | 5.8.   |       | 8.8.   |       | 9.8.   |       |
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 1,34   | < LOD | 6,44   | 0,73  | 4,59   | 1,02  | 5,51   | 0,77  |
| KET          | < LOD  | < LOD | 6,50   | 1,43  | < LOD  | < LOD | 2,23   | < LOD |
| DIC          | 2,40   | < LOD | 5,03   | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD |
| IBU          | 24,33  | < LOD | 25,85  | < LOD | 16,50  | < LOD | 14,67  | 1,19  |
| NAP          | < LOD  | < LOD | 0,66   | 0,65  | < LOD  | < LOD | 1,14   | < LOD |
| SAL          | 41,15  | 2,23  | 26,73  | < LOD | 5,58   | < LOD | 17,37  | < LOD |

| datum odběru | 10.8.  |       | 11.8.  |       | 12.8.  |       | 15.8.  |       |
|--------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 5,44   | < LOD | 5,02   | < LOD | 2,02   | < LOD | 6,32   | < LOD |
| KET          | < LOD  | < LOD | 2,18   | < LOD | < LOD  | < LOD | < LOD  | < LOD |
| DIC          | 8,01   | 1,52  | 6,20   | 2,08  | 2,30   | < LOD | < LOD  | 1,09  |
| IBU          | 26,50  | 1,28  | 42,32  | 1,68  | 27,26  | 1,41  | 20,84  | < LOD |
| NAP          | 1,68   | < LOD | 2,00   | 0,65  | 5,68   | 1,06  | 3,89   | 1,26  |
| SAL          | 34,74  | 0,90  | 35,67  | 1,49  | 25,41  | 0,97  | 15,59  | < LOD |
| datum odběru | 16.8.  |       | 17.8.  |       | 18.8.  |       | 19.8.  |       |
|              | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok | přítok | odtok |
| PAR          | 9,80   | 0,52  | 14,61  | < LOD | 9,94   | < LOD | 7,42   | < LOD |
| KET          | 28,21  | < LOD | 23,26  | 6,46  | 9,78   | 2,97  | 4,81   | 1,34  |
| DIC          | 1,74   | < LOD | < LOD  | < LOD | 2,01   | < LOD | 1,09   | < LOD |
| IBU          | 35,42  | 1,31  | 12,57  | 2,75  | 26,34  | 1,18  | 30,82  | 2,12  |
| NAP          | 5,75   | 0,75  | 14,48  | 0,59  | 5,04   | 2,19  | 9,87   | 0,52  |
| SAL          | 20,76  | 0,47  | 30,06  | < LOD | 44,15  | < LOD | 35,94  | < LOD |



Obr. 2: Průměrné koncentrace jednotlivých analytů na velkokapacitní ČOV

Z výsledků vyplývá, že nejčastěji detekovanými analyty na přítoku do ČOV byly opět kyselina salicylová ( $28,21 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) a ibuprofen ( $23,11 \mu\text{g.l}^{-1}$ ). Ostatní sledovaná analgetika se průměrně pohybují pod koncentrací  $10 \mu\text{g.l}^{-1}$ . Při studiu účinnosti ČOV (Tab. 5) bylo zjištěno, že u všech sledovaných analytů, kromě naproxenu, se průměrná hodnota odbourání pohybuje nad 90 %. Koncentrace naproxenu se na přítoku pohybují okolo  $4 \mu\text{g.l}^{-1}$ , avšak účinnost jeho

odbourání často klesala až k 50 %. Potvrdil se tak zjištěný poznatek z menší čistírny, že se jedná o kontaminant poměrně těžko odbouratelný.

Tab. 5: Účinnost velkokapacitní ČOV při odbourávání cílových analytů (v %)

| <b>datum odběru</b> | <b>25.6.</b> | <b>26.6.</b> | <b>27.6.</b> | <b>28.6.</b> | <b>1.8.</b>  | <b>2.8.</b>  | <b>3.8.</b>  | <b>4.8.</b>  |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>PAR</b>          | 91           | 85           | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | < LOD        | ≈ 100        | ≈ 100        |
| <b>KET</b>          | < LOD        | < LOD        | < LOD        | ≈ 100        | < LOD        | < LOD        | < LOD        | < LOD        |
| <b>DIC</b>          | 89           | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | 66           | 77           | ≈ 100        | ≈ 100        |
| <b>IBU</b>          | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        |
| <b>NAP</b>          | 74           | 50           | < LOD        | < LOD        | 65           | ≈ 100        | ≈ 100        | < LOD        |
| <b>SAL</b>          | 95           | 96           | ≈ 100        | ≈ 100        | 93           | 92           | 95           | ≈ 100        |
| <b>datum odběru</b> | <b>8.8.</b>  | <b>9.8.</b>  | <b>10.8.</b> | <b>11.8.</b> | <b>15.8.</b> | <b>16.8.</b> | <b>17.8.</b> | <b>18.8.</b> |
| <b>PAR</b>          | 83           | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        | 92           | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        |
| <b>KET</b>          | < LOD        | ≈ 100        | < LOD        | ≈ 100        | < LOD        | 77           | 87           | 86           |
| <b>DIC</b>          | < LOD        | < LOD        | 74           | ≈ 100        | < LOD        | ≈ 100        | < LOD        | ≈ 100        |
| <b>IBU</b>          | 93           | 91           | 94           | 97           | 94           | 92           | 91           | 92           |
| <b>NAP</b>          | < LOD        | ≈ 100        | 61           | 47           | 81           | 90           | 85           | 90           |
| <b>SAL</b>          | ≈ 100        | 95           | 96           | 97           | 97           | ≈ 100        | ≈ 100        | ≈ 100        |

#### 4.1.3 Porovnání vybraných ČOV při odbourávání sledovaných analytů

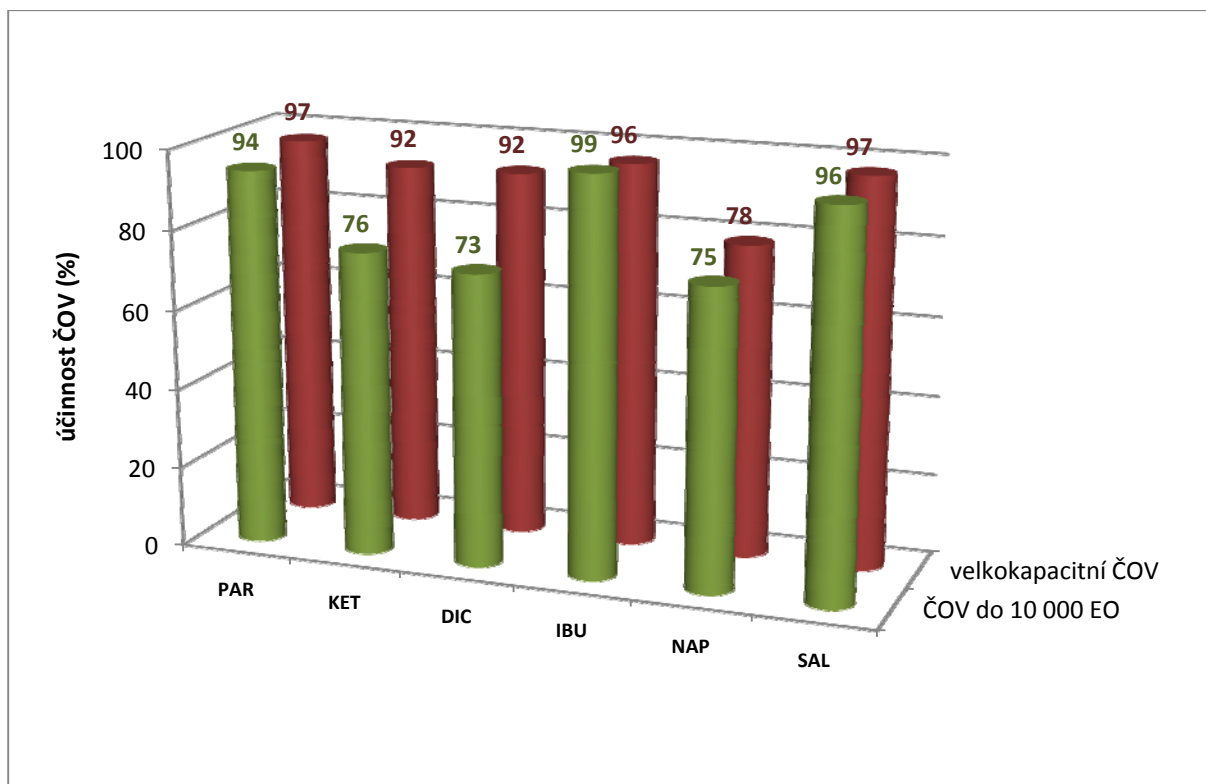
Při srovnání dvou různých ČOV je třeba zvážit několik různých faktorů. Prvním z nich je charakteristika přitékající odpadní vody. V obou případech se jedná z větší míry o komunální splaškové vody doplněné o průmyslovou odpadní vodu, ovšem s téměř 100násobně rozdílnými objemy na přítoku.

Dalším velkým rozdílem mezi čistírnami je použitá technologie. U menší čistírny je zcela vynechán mechanický stupeň čištění pomocí usazovacích nádrží. Lze tedy předpokládat, že u velkokapacitní ČOV je část kontaminantů odbourána již při tomto procesu, a odchází tak z vody spolu s primárním kalem. U velkokapacitní čistírny je také mnohem propracovanější biologický stupeň čištění.

V neposlední řadě je také třeba zmínit rozdílnou dobu zdržení odpadní vody na ČOV. U velkokapacitní čistírny je tato doba 24 hodin, kdežto u menší čistírny je to asi 2 dny, a to v závislosti na přítoku.

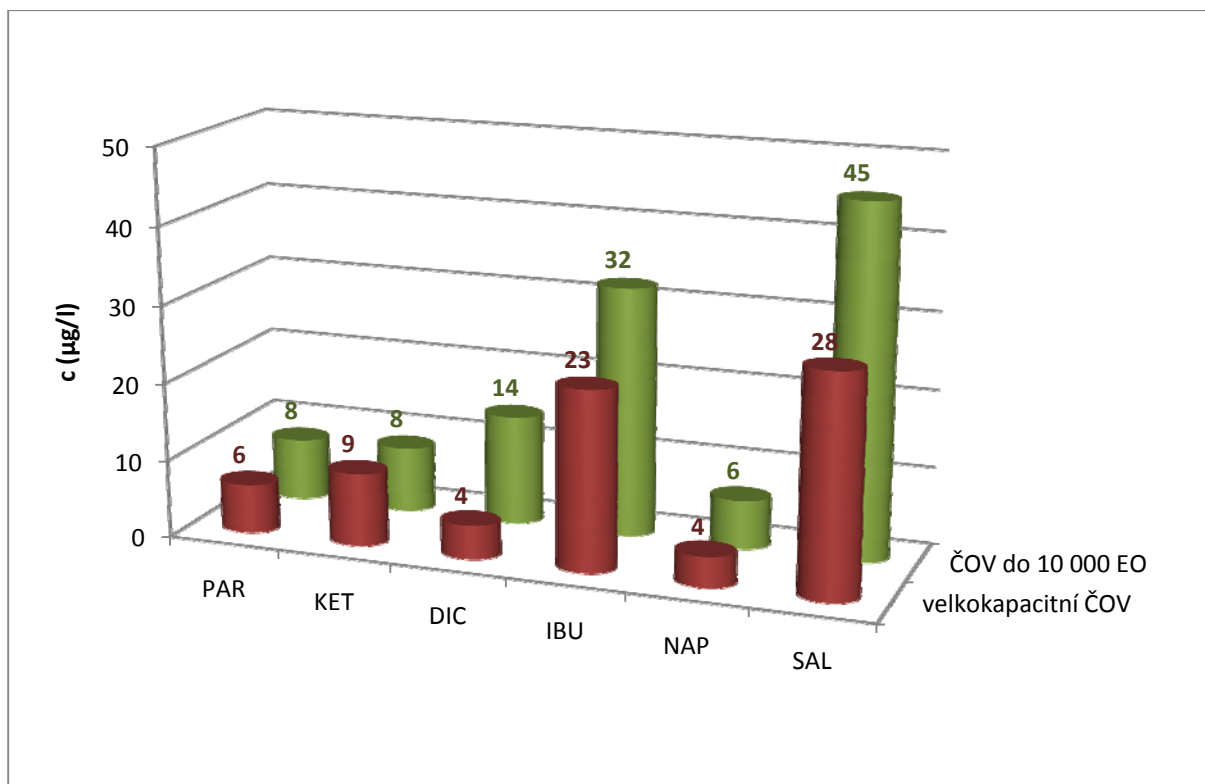
Všechny tyto faktory se ve výsledku, ve větší nebo menší míře, promítnou na účinnost odbourání kontaminantů z odpadní vody. Na Obr. 3 je zobrazena rozdílná účinnost dvou vybraných ČOV při odbourávání sledovaných analytů. Z grafu je patrné, že analyty paracetamol, ibuprofen a kyselina salicylová jsou snadno odbouratelné na obou typech ČOV. U ketoprofenu a diklofenaku je vidět mírný pokles účinnosti na velkokapacitní ČOV, ovšem na menší čistírně již dochází ke značnému snížení. Poslední sledovaný analyt, naproxen, je ze všech nejhůře odbouratelný, a to na obou vybraných čistírnách.





*Obr. 3: Srovnání účinnosti dvou různých ČOV*

Při sledování koncentrací jednotlivých analgetik v přítokové odpadní vodě, bylo vidět podobné procentuální zastoupení. Nejčastěji detekovanými kontaminanty byly v obou případech kyselina salicylová a ibuprofen (Obr. 4). Ostatní analyty byly obsaženy v nižších koncentracích.



Obr. 4: Srovnání koncentrací sledovaných analytů na přítoku dvou vybraných ČOV

Z naměřených hodnot vyplývá, že z vybraných analytů jsou ty nejčastěji používané, zároveň i nejlépe odbouratelné. Další analgetika, zejména naproxen, patří sice mezi méně využívaná léčiva (Obr. 4), jejichž koncentrace v odpadní vodě se většinou pohybuje v jednotkách  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , zato jsou však hůře odbouratelná na ČOV, a lze proto předpokládat jejich zvýšený průnik do povrchových vod.

#### 4.2 Porovnání získaných dat s publikovanými údaji

V rámci výzkumného záměru, řešícím i problematiku léčiv v životním prostředí, se na Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí, Fakulty chemické, VUT v Brně, zabývá řešitelský kolektiv pod vedením prof. RNDr. Milady Vávrové, CSc. Problém výskytu analgetik v povrchových a odpadních vodách řešila ve své dizertační práci také Ing. Lucie Vydrová, Ph.D. Zvolenou metodou pro stanovení byla v tomto případě vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostním detektorem. Monitorovány byly povrchové a odpadní vody v ČR, Skotsku a na Taiwanu. Naměřené průměrné koncentrace vybraných analgetik v odpadní vodě prokázané v ČR uvádí následující tabulka.

Tab. 6: Koncentrace vybraných analgetik v odpadní vodě (HPLC/MS) (21)

| analyt                   | PAR | KET | DIC  | IBU  | NAP | SAL |
|--------------------------|-----|-----|------|------|-----|-----|
| c [ $\text{ng.l}^{-1}$ ] | 355 | 68  | 2394 | 5191 | 774 | 16  |

Dalším členem řešitelského kolektivu, který se rovněž zabývá stanovením analgetik ve vodách, je Ing. Petr Lacina, který jako analytickou koncovku využívá dvoudimenzionální ply-

novou chromatografií (GC×GC) s hmotnostním detektorem doby průletu (TOF). Pomocí této separační metody byly naměřeny koncentrace vybraných analgetik na velkokapacitní ČOV Brno-Modřice během listopadu 2010; zjištěné hodnoty jsou uvedené v následující tabulce.

Tab. 7: Koncentrace vybraných analgetik v odpadní vodě (GC×GC/TOF) (22)

|            | <b>c [<math>\mu\text{g.l}^{-1}</math>]</b> |
|------------|--------------------------------------------|
| <b>PAR</b> | 1,1–20,1                                   |
| <b>KET</b> | 0,4–3,8                                    |
| <b>DIC</b> | 3,7–17,1                                   |
| <b>IBU</b> | 13,2–45,9                                  |
| <b>NAP</b> | 0,5–3,4                                    |
| <b>SAL</b> | 20,2–51,9                                  |

Z porovnání dat naměřených pomocí GC×GC/TOF a CZE vyplývá, že obě použité metody poskytují velmi podobné hodnoty koncentrací v přítokové odpadní vodě z ČOV Brno-Modřice, a to i přes to, že vzorky byly odebírány v různých časových obdobích.

Problematikou stanovení léčiv ve vodách se zabývají odborníci z oblasti environmentální analýzy na celém světě a již byla publikována celá řada odborných článků na toto téma. Pro stanovení této skupiny kontaminantů jsou neustále vyvíjeny nové separační, ale i předseparační metody, vhodné pro úpravu, přečištění a zakoncentrování reálných vzorků.

Celosvětově patří analgetika bezpochyby k nejčastěji užívaným léčivům, avšak vzhledem k různě rozvinutému farmaceutickému průmyslu, distribučním firmám a dodavatelům, jsou v jednotlivých zemích konkrétní léčiva různě procentuálně zastoupená. Koncentrace vybraných léčiv uvádí následující tabulka.

Tab. 8: Koncentrace analgetik v odpadní vodě pro různé země (v  $\text{ng.l}^{-1}$ )

|                            | <b>PAR</b> | <b>KET</b> | <b>DIC</b> | <b>IBU</b> | <b>NAP</b> | <b>SAL</b> |
|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Francie (23)</b>        | –          | 1 081      | 486        | 219        | 289        | 52         |
| <b>Rakousko (24)</b>       | –          | –          | 4 114      | 2 679      | –          | –          |
| <b>Velká Británie (25)</b> | –          | –          | –          | 405        | –          | –          |
| <b>Švédsko (26)</b>        | –          | –          | 111        | 751        | 5 153      | –          |
| <b>Španělsko (27)</b>      | 10 194     | 451        | 250        | 516        | 99         | –          |

## 5 ZÁVĚR

Předložená dizertační práce byla zaměřena na sledování vybraných léčiv ve vodách a jejich průnik do životního prostředí. Toto téma je celosvětově velmi aktuální, a proto bylo cílem práce vypracovat novou a rychlejší metodu pro stanovení těchto specifických kontaminantů. Konkrétními léčivy byla skupina analgetik, nazývaná nesteroidní protizánětlivé látky, které byly vybrány z důvodu jejich časté a nadměrné konzumace.

Analytickou metodou, vhodnou pro stanovení vybraných analgetik, byla zvolena kapilární zónová elektroforéza s detekcí diodovým polem. Pro extrakci a zakoncentrování analytů byla využita extrakce pevnou fází s použitím speciálního sorbentu, tvořeného kopolymerem s hydrofilní a lipofilní částí.

V první části experimentu byla nejprve vybrána vhodná analgetika pro analýzu, a to na základě závěrečných zpráv Státního ústavu pro kontrolu léčiv za poslední tři roky. Podle těchto údajů a z výsledků jiných našich experimentů byla vybrána léčiva: diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, kyselina salicylová, naproxen a paracetamol.

V dalším kroku byly optimalizovány podmínky pro separaci vybraných analytů na kapilární zónové elektroforéze, a to za použití nepokryté křemenné kapiláry s vnitřním průměrem 75  $\mu\text{m}$ . Po optimalizaci metody byly pro všechny sledované analyty sestrojeny kalibrační křivky a vypočítány meze detekce a stanovitelnosti.

Aby bylo dosaženo co nejvyšší účinnosti při zakoncentrování analytů během extrakce, byla také optimalizována metoda SPE. Během tohoto experimentu byla věnována pozornost vlivům pH, objemům vzorku a elučního činidla a také porovnání účinnosti na třech koncentračních hladinách.

Zkoumanou matricí byla odpadní voda ze dvou čistíren odpadních vod. Důvodem bylo nejen porovnání koncentrací zkoumaných analytů, ale především porovnání účinností dvou rozdílných technologií čištění. Reálné vzorky odpadních vod byly odebírány během měsíců června až srpna roku 2011 a pomocí získaných výsledků byly vyhodnoceny koncentrace sledovaných analytů na přítoku a odtoku ČOV.

Nejčastěji se vyskytujícím analytem v odpadní vodě odebrané na obou čistírnách byly kyselina salicylová a ibuprofen. Ostatní analyty byly ve vzorcích také obsaženy, avšak v nižších koncentracích. To plně potvrzuje fakt, že tato léčiva patří k nejčastěji užívaným při léčbě bolesti.

Při sledování účinnosti čistíren na odbourání sledovaných kontaminantů byl pozorován rozdíl mezi oběma ČOV, a to zejména při odstranění ketoprofenu a diklofenaku. Zatímto u velkokapacitní čistírny se účinnost pohybovala nad 90 %, u ČOV do 10 000 EO tato klesla k 70 %. Analyty paracetamol, ibuprofen a kyselina salicylová byly na obou čistírnách odstraněny z více jak 90 %, na rozdíl od naproxenu, kde se účinnost pohybovala kolem 70 %.

## 6 ŽIVOTOPIS

### OSOBNÍ INFORMACE

|                  |                                       |
|------------------|---------------------------------------|
| Jméno a příjmení | Ing. Lukáš Čapka                      |
| Adresa           | Malinovského 296, 667 01 Židlochovice |
| Datum narození   | 18. 8. 1984                           |
| E-mail           | tched@email.cz                        |
| Telefon          | 723 344 798                           |

### VZDĚLÁNÍ

|           |                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2008–2011 | VUT v Brně, Fakulta chemická, obor Chemie životního prostředí, doktorské studium<br><br>Státní doktorská zkouška<br><br>Téma dizertační práce: Využití kapilární zónové elektroforézy pro stanovení vybraných analgetik ve vodách |
| 2003–2008 | VUT v Brně, Fakulta chemická, obor Chemie a technologie ochrany životního prostředí, magisterské studium<br><br>Téma diplomové práce: Využití spektrofotometrie pro stanovení reziduí léčiv ve vodách                             |
| 1995–2003 | Gymnázium T.G.M., Hustopeče                                                                                                                                                                                                       |
| 1990–1995 | Základní škola, Židlochovice                                                                                                                                                                                                      |

### JAZYKOVÉ ZNALOSTI

|                |                   |
|----------------|-------------------|
| Anglický jazyk | Středně pokročilý |
| Německý jazyk  | Středně pokročilý |

### DALŠÍ DOVEDNOSTI

Pokročilá znalost kancelářského balíku Microsoft Office, psaní všemi deseti, řidičský průkaz sk. B.

## 7 VĚDECKÉ AKTIVITY

|                    |                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2009, Praha        | Účast na konferenci pořádané VŠCHT v Praze ve spolupráci se Sig-mou Aldrich: Nové poznatky v chromatografii                                                                                                   |
| 2010, Brno         | Účast na semináři SPE, Chromservis                                                                                                                                                                            |
| 2011, Brno         | Hlavní řešitel projektu FRVŠ: Stanovení léčiv znečišťujících životní prostředí a jejich ekotoxikologické hodnocení                                                                                            |
| 2011, Brno         | Účast na konferenci: 3. workshop EnviroPoint, Ovzduší 2011                                                                                                                                                    |
| 2011, Brno         | Aktivní účast na mezinárodní konferenci: 5th Meeting on Chemistry and Life, konané ve dnech 13.–15. září 2011 na FCH VUT v Brně                                                                               |
| 2011, Ioannina, GR | Aktivní účast na mezinárodní konferenci: MESAEP, 16th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, konané ve dnech 24.–27. září v Ioannině – Greece |

## 8 ABSTRAKT

V posledních letech se z hlediska environmentální analýzy stala na celém světě velmi populární otázka průniku reziduí léčiv do složek životního prostředí. Tyto kontaminanty patří mezi biologicky aktivní látky, odlišující se svými fyzikálně-chemickými a biologickými vlastnostmi, vykazující vysoký sklon k bioakumulaci. Do životního prostředí pronikají zejména se stále zvyšující se spotřebou, případně také nesprávnými postupy při jejich likvidaci. Mezi nejčastěji využívaná farmaka patří léky proti bolesti – analgetika a z této skupiny tzv. nesteroidní protizánětlivé látky. Důvodem jejich často nadměrného užívání je jejich snadná dostupnost. Z této velmi obsáhlé skupiny látek byla pro monitoring vybrána léčiva diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, kyselina salicylová, naproxen a paracetamol, jelikož jsou jako účinné látky obsažené v nejvíce používaných preparátech. Sledovanou matricí byla odpadní voda ze dvou čistíren odpadních vod (ČOV), odebíraná na přítoku a odtoku, aby mohly být porovnány nejenom rozdílné koncentrace cílových analytů, ale zejména zjištěna účinnost jejich odstranění, a to v závislosti na použitých technologiích čištění. Pro extrakci sledovaných kontaminantů byla využita extrakce pevnou fází (SPE) a jako analytická koncovka kapilární zónová elektroforéza (CZE) s detekcí diodovým polem (DAD). V rámci experimentu byla identifikována a následně kvantifikována všechna sledovaná analgetika, a to jak na přítoku, tak i odtoku ČOV; bylo potvrzeno, že se tyto polutanty dostávají do povrchových vod i do dalších složek životního prostředí.

## 9 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. **Hampl, F., Paleček, J.** *Farmakochemie*. Praha : VŠCHT v Praze, 2002. ISBN 80-7080-495-5.
2. **Hynie, S.** *Farmakologie v kostce*. Praha : Triton, 2001. 80-7254-181-1.
3. **Cleuvers, M.** Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2004, Vol. 59, pp. 309-315.
4. **Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lansky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lutzhoft, H. C., Jorgensen, S. E.** Occurrence, Fate, and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment. *Chemosphere*. 1998, Vol. 36, p. 2.
5. **Boxall, A., Breton, R.** Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Regulatory Drivers and Research Needs. *QSAR and Combinational Science*. 2003, Vol. 22, p. 3.
6. **Kümmerer, K.** Drugs in the Environment: Emission of Drugs, Diagnostic Aids and Disinfectants into Wastewater by Hospitals in Relation to Other Sources. *Chemosphere*. 2001, Vol. 45, pp. 6-7.
7. **Heberer, T.** Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*. 2002, Vol. 131, pp. 5-17.
8. **Daughton, C. G., Ternes, T.** Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agent of subtle change? *Environmental Health Perspectives*. 6, 1999, Vol. 107, pp. 907-938.
9. **McEwen, S., Fedorka-Cray, P.** Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Disease*. 2002, Vol. 34, pp. 93-106.
10. **Koschorreck, J., Koch, C., Ronnefahrt, I.** Environmental risk assessment of veterinary medicinal products in the EU – a regulatory perspective. *Toxicology Letters*. 2002, Vol. 131, pp. 117-124.
11. **Steuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L. P., Holten Lutzhoft, H. C., Halling-Sorensen, B.** Environmental Risk Assessment of Human Pharmaceuticals in Denmark After Normal Therapeutic Use. *Chemosphere*. 2000, Vol. 40, p. 7.
12. **Fent, B., Paxeus, N., Giudice, R. L., Pollio, A., Garric, J.** Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2003, Vol. 55, pp. 359-370.
13. **Bendz, D., Paxeus, N. A., Ginn, T. R., Loge, F. J.** Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study. Höje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*. 2005, Vol. 122, pp. 195-204.



14. **Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., Obst, U.** Detection of antibiotik-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*. 2003, Vol. 43, pp. 325-335.
15. **Fent, B., Weston, A., Caminada, D.** Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 2005, Vol. 76, pp. 122-159.
16. **Servos, M. R., Bennie, D. T., Burnison, B. K., Jurkovic, A., McInnis, R., Neheli, T., Schnell, A., Seto, P., Smyth, S. A., Ternes, T. A.** Distribution of estrogens, 17 $\beta$ -estradiol and estrone in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*. 2005, Vol. 336, pp. 155-170.
17. **Stumpf, M., Ternes, T. A., Wieken, R. D., Rodrigues, S. V., Baunamm, W.** Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of the Total Environment*. 1999, Vol. 225, pp. 135-141.
18. **Redderesen, K., Heberer, T., Dunnbier, U.** Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground and drinking water. *Chemosphere*. 2002, Vol. 49, pp. 539-544.
19. **Hrazdil, R.** Čištění odpadních vod na čistírně do 10 000 EO. Mendelova univerzita v Brně. 2010. Bakalářská práce.
20. ČOV Modřice. [Online] 7 21, 2005. [Cited: 3 17, 2008.]  
<http://www.bvk.cz/ipublisher/files/COV%20Modrice%20-%20technicky%20popis.pdf?show=dbfil&id=102>.
21. **Vydrová, L.** Využití separačních metod pro studium biologicky aktivních látek ve vodách. Brno : Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. Dizertační práce.
22. **Lacina, P., Mravcová, L., Vávrová, M.** The use of comprehensive two-dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection for the assessment of drug residue contamination of wastewater and surface water. Brno : BUT, Faculty of Chemistry, 2011.
23. **Togola, A., Budzinski, H.** Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*. 2008, Vol. 1177, pp. 150-158.
24. **Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., Kroiss, H.** Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research*. 2005, Vol. 39, pp. 4797-4807.
25. **Nebot, C., Gibb, S. W., Boyd, K. G.** Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2007, Vol. 598, pp. 87-94.

26. **Zorita, S., Boyd, B., Stig, J., Yilmaz, E., Svensson, C., Mathiasson, L., Bergstrom, S.** Selective determination of acidic pharmaceuticals in wastewater using molecularly imprinted solid phase extraction. *Analytica Chimica Acta*. 2008, Vol. 626, pp. 147-154.
27. **Gros, M., Petrovic, M., Barcelo, D.** Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta*. 2006, Vol. 70, pp. 678-690.