



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

STUDIUM DEGRADACE LÉČIV S VYUŽITÍM POKROČILÝCH OXIDAČNÍCH PROCESŮ

STUDY OF PHARMACEUTICALS DEGRADATION BY ADVANCED OXIDATION PROCESSES

TEZE DIZERTAČNÍ PRÁCE

PHD THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. ZUZANA OLEJNÍČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2015

ABSTRAKT

V současnosti je odbornou i laickou veřejností často diskutována problematika výskytu ženských pohlavních hormonů, estrogenů a gestagenů, ve vodních ekosystémech. Tyto látky steroidní struktury představují pro konvenční čistírenské a úpravárenské technologie využívané ve vodárenství často obtížně odstranitelné kontaminanty. V dané souvislosti mohou být vhodnou technikou pokročilé oxidační procesy, které jsou založeny na *in situ* tvorbě vysoce reaktivních hydroxylových radikálů. Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem kinetiky a degradačních meziproductů fotokatalytického rozkladu sedmi vybraných ženských pohlavních hormonů (estron, β -estradiol, estriol, ethinylestradiol, diethylstilbestrol, progesteron a norethindron). Experimenty probíhaly v laboratorním skleněném reaktoru, který byl vybaven energeticky úspornými LED diodami s emisní vlnovou délkou 365 nm a imobilizovaným fotokatalyzátorem ve formě pětivrstvého filmu TiO_2 naneseného na skleněném nosiči. Pracováno bylo s modelovými vzorky vody o počáteční koncentraci hormonů $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a průběh reakcí byl sledován metodou HPLC-MS. V daném systému vykázaly všechny zájmové látky s výjimkou estriolu velmi výrazný sklon k adsorpci. V případě estriolu byla na základě Langmuir-Hinshelwoodova modelu určena hodnota formální rychlostní konstanty fotokatalytického rozkladu pro dvě různé počáteční koncentrace, $0,5527 \text{ hod}^{-1}$ ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) a $0,1929 \text{ hod}^{-1}$ ($5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$); porovnáním těchto hodnot bylo zjištěno, že se zvyšující se koncentrací degradované látky probíhá rozklad pomaleji (při 5násobném zvětšení počáteční koncentrace poklesla hodnota formální rychlostní konstanty téměř na třetinu). Dále bylo zaznamenáno devět degradačních meziproductů fotokatalytického rozkladu estriolu a na základě hmotnostních spekter navržena jejich struktura.

Ve druhém tematickém okruhu práce byla pozornost věnována vývoji SPE-HPLC-MS metody pro stanovení ženských pohlavních hormonů v reálných vzorcích vody, zejména pak optimalizaci extrakčního kroku. Výsledný proces zpracování vzorků zahrnoval kromě extrakce na kolonkách SupelTM Select HLB s 200 mg sorbentu i odstranění mechanických nečistot, extrakci hormonů z pevného podílu zachyceného na filtračním materiálu, okyselení vzorku a přečištění extraktu na florisilových kolonkách SupelcleanTM ENVI-Florisil[®]. Optimalizovaná metoda byla použita pro stanovení koncentrace ženských pohlavních hormonů ve dvou brněnských řekách, Svitavě a Svatce. Ve většině případů byla koncentrace pod mezí detekce, případně pod mezí stanovitelnosti.

KLÍČOVÁ SLOVA

ženské pohlavní hormony, estrogeny, gestageny, heterogenní fotokatalýza, TiO_2 , HPLC-MS, povrchová voda

ABSTRACT

At present, the issue of occurrence of female sex hormones, estrogens and progestogens, in aquatic ecosystems is often discussed by experts and the general public. These substances of steroid structure can be difficult to remove completely by conventional wastewater and drinking water treatment technologies. In given context advanced oxidation processes based on *in situ* generation of highly reactive hydroxyl radicals can be a suitable technique. This thesis deals with the study of kinetics and degradation products of photocatalytic decomposition of seven female sex hormones (estrone, β -estradiol, estriol, ethinylestradiol, diethylstilbestrol, progesterone and norethindrone). Experiments were conducted in a laboratory glass reactor, which was equipped with an energy efficient UV-A LED light source (365 nm emission wavelength) and an immobilised photocatalyst in a form of TiO_2 five-layer film deposited on glass. Model samples of water with the initial hormone concentration of $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ were used and the degradation process was monitored by an HPLC-MS method. In the given system all compounds of interest except estriol had very significant tendency to be adsorb. In the case of estriol the formal rate constant of photocatalytic decomposition was determined based on the Langmuir-Hinshelwood model for two different initial concentrations, 0.5527 hour^{-1} ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and 0.1929 hour^{-1} ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), and by comparison of these values it was found that the higher degraded compound concentration, the slower decomposition (fivefold increase of the initial concentration resulted in the constant decrease to almost one-third). Moreover nine degradation products of estriol photocatalytic decomposition were recorded and their structure was designed based on mass spectra.

In the second thematic part of the thesis attention was paid to development of a SPE-HPLC-MS method for simultaneous determination of female sex hormones in water ecosystems, with emphasis on an extraction part optimization. The final samples treatment process included besides extraction with SupelTM Select HLB 200 mg SPE cartridges also mechanical impurities removal, hormones extraction from solids trapped on filtration material, sample acidification and extract purification with SupelcleanTM ENVI-Florisil[®] cartridges. Optimised method was used for determination of female sex hormones in two Brno rivers, Svitava and Svratka. In the most cases the concentration was below the detection or quantification limit.

KEYWORDS

female sex hormones, estrogens, progestogens, heterogeneous photocatalysis, TiO_2 , HPLC-MS, surface water

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1	ŽENSKÉ POHLAVNÍ HORMONY	7
2.1.1	<i>Estrogeny</i>	7
2.1.2	<i>Gestageny</i>	7
2.1.3	<i>Vybraní zástupci ženských pohlavních hormonů</i>	8
2.1.4	<i>Vliv na lidské zdraví a životní prostředí</i>	8
2.2	HETEROGENNÍ FOTOKATALÝZA NA OXIDU TITANIČITÉM	9
2.2.1	<i>Definice heterogenní fotokatalýzy</i>	9
2.2.2	<i>Fotokatalyzátory</i>	9
2.2.3	<i>Kinetika fotokatalytické reakce</i>	9
2.2.4	<i>Fotokatalytický reaktor</i>	10
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	11
3.1	INSTRUMENTACE	11
3.2	STANDARDY	11
3.3	FOTOKATALYTICKÁ DEGRADACE	11
3.3.1	<i>Reaktor</i>	11
3.3.2	<i>Fotokatalytický proces</i>	12
3.3.3	<i>Kvantifikace analytů</i>	12
3.4	ANALÝZA REÁLNÝCH VZORKŮ VOD	13
3.4.1	<i>Odběr vzorků</i>	13
3.4.2	<i>Úprava vzorků a extrakce analytů</i>	13
3.4.3	<i>Finální analytická metoda</i>	14
4	VYBRANÉ VÝSLEDKY	15
4.1	KINETIKA FOTOKATALYTICKÉHO ROZKLADU HORMONŮ	15
4.2	KONTAMINACE ŘEK SVITAVA A SVRATKA ŽENSKÝMI POHLAVNÍMI HORMONY	19
5	ZÁVĚR.....	20
	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	21
	PROFIL AUTORA	25

1 ÚVOD

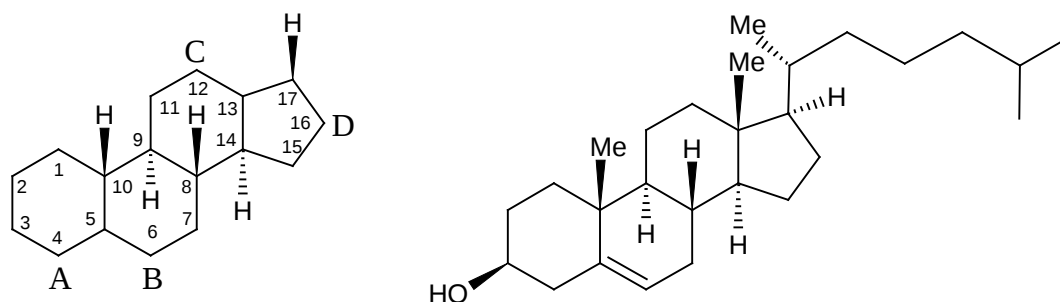
Pokroky v instrumentální analytické chemii umožňují sledovat stále nižší a nižší koncentrace chemických látek. Ve vodních ekosystémech tak byla odhalena přítomnost řady sloučenin, které díky své velmi nízké koncentraci byly dříve nezjistitelné a které vzhledem ke svým vlastnostem vzbuzují obavy z možných nežádoucích účinků na životní prostředí a na člověka. V současnosti je odbornou i laickou veřejností často diskutována problematika hormonálních látek. Pozornost je věnována zejména ženským pohlavním hormonům, estrogenům a gestagenům. Tyto látky steroidní struktury [1] mají významné využití v medicíně, protože jsou součástí perorální antikoncepce a využívají se k hormonální substituční terapii [1, 2]. Pro konvenční čistírenské a úpravárenské technologie využívané ve vodárenství představují ženské pohlavní hormony často obtížně odstranitelné kontaminanty; proto jsou celosvětově sledovány a detekovány na odtocích z čistíren odpadních vod [3–14], dále v povrchových [6, 9, 10, 15–24] a podzemních [22, 25–28] vodách a dokonce i v pitné vodě [29, 30]. Tato skutečnost nese s sebou závažné environmentální riziko, což znamená, že estrogeny a gestageny mohou, a to již ve velmi nízkých koncentracích, negativně ovlivňovat reprodukční systém ryb [31, 32] a rovněž mohou ohrožovat lidské zdraví [33–35].

V souvislosti s odstraňováním hormonálních látek z vody bylo zjištěno, že vhodnou technikou mohou být pokročilé oxidační procesy, které jsou založeny na *in situ* tvorbě vysoce reaktivních hydroxylových radikálů $\cdot\text{OH}$ [36]. Jedním z těchto procesů je fotokatalýza [37], která spočívá v urychlení fotochemické reakce v důsledku přítomnosti katalyzátoru [38]. Jako fotokatalyzátor se využívají různé typy polovodičů [39], přičemž pro degradaci organických látek by byl ideální takový polovodič, který by využíval viditelné světlo, a jeho fotokatalytická aktivita byla vysoká; kromě toho by byl dlouhodobě odolný vůči fotokorozi, chemicky inertní, netoxický a v neposlední řadě také finančně dostupný. Těmto požadavkům téměř zcela vyhovuje oxid titaničitý (TiO_2), který se používá v čisté nebo modifikované podobě [40].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Ženské pohlavní hormony

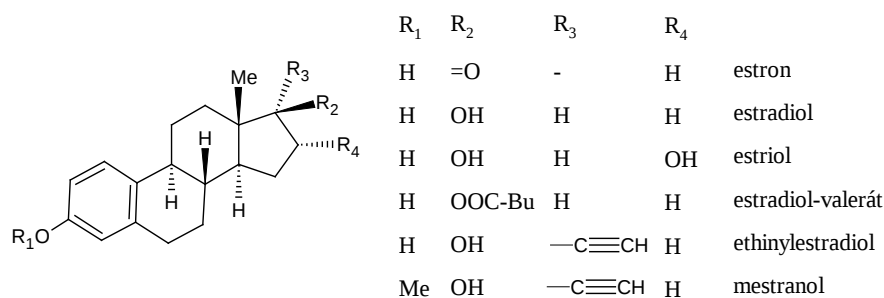
Ženské pohlavní hormony, estrogény a gestageny, patří z hlediska struktury do skupiny steroidních hormonů, tj. hormonů, které jsou strukturně odvozeny od gonanu a tvoří se biotransformací cholesterolu [1]. Sloučeniny gonan a cholesterol jsou zobrazeny na Obr. 1.



Obr. 1: Gonan (vlevo) a jeho derivát cholesterol (vpravo) [1]

2.1.1 Estrogény

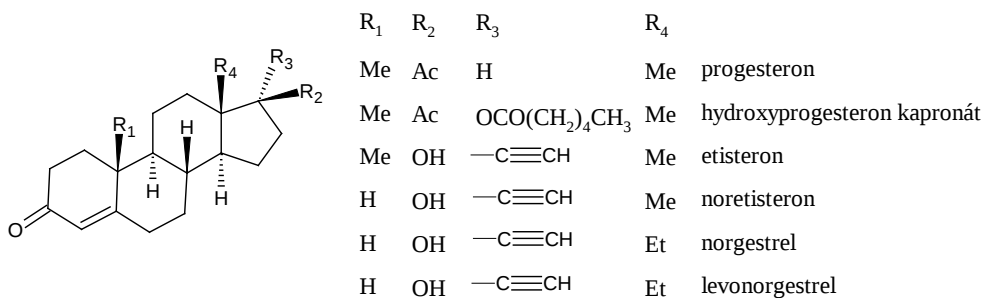
Přírodní estrogény (estron, β -estradiol a estriol) stimulují vývoj primárních i sekundárních ženských pohlavních znaků a v dospělosti regulují menstruační cyklus [1]. Tvoří v těle žen (převážně ve vaječnících) i v těle mužů (nadledviny) [2]. Protože přírodní estrogény se v organismu rychle odbourávají, byla pro medicínské účely syntetizována řada jejich stabilnějších derivátů, jako například estradiol-valerát, 17α -ethinylestradiol a mestranol. Okrajové využití v medicíně mají dále také syntetické estrogény, což jsou látky nesteroidní struktury, například fosfetrol a dříve používaný diethylstilbestrol [1]. Obr. 2 ukazuje strukturu vybraných steroidních estrogenů.



Obr. 2: Struktura vybraných steroidních estrogenů [1]

2.1.2 Gestageny

Progesteron ovlivňuje druhou polovinu menstruačního cyklu a průběh těhotenství [1]. Tvoří se v druhé polovině menstruačního cyklu ve žlutém tělísku vaječníků a po oplodnění také v placentě. V menším množství je produkován také nadledvinami a u mužů varlaty [2]. Stejně jako přírodní estrogény je také progesteron v organismu rychle inaktivován; proto se pro medicínské účely vyrábějí syntetické deriváty, například hydroxyprogesteron kapronát, etisteron, noretisteron, norgestrel a levonorgestrel [1]. Na následujícím obrázku (Obr. 3) je uvedena struktura vybraných gestagenů.



Obr. 3: Struktura vybraných gestagenů. Norgestrel je racemát a levonorgestrel stereoizomer s vyznačenou konfigurací [1].

2.1.3 Vybraní zástupci ženských pohlavních hormonů

Pro dizertační práci bylo zvoleno celkem 7 hormonů (přírodních i syntetických): estron (E1), estradiol (E2, β-E2), estriol (E3), ethinylestradiol (EE2), diethylstilbestrol (DES), progesteron (PROG) a norethindron (NOR). Jejich přehled je prezentován v Tab. 1.

Tab. 1: Přehled vybraných sloučenin [41]

Triviální název	CAS číslo	Vzhled	Sumární vzorec
estron	53-16-7	bílý krystalický prášek	C ₁₈ H ₂₂ O ₂
estradiol, β-estradiol, 17β-estradiol	50-28-2	bílý krystalický prášek	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
estriol	50-27-1	bílý krystalický prášek	C ₁₈ H ₂₄ O ₃
ethinylestradiol, 17α-ethinylestradiol	57-63-6	bílý krystalický prášek	C ₂₀ H ₂₄ O ₂
diethylstilbestrol	56-53-1	bílý krystalický prášek	C ₁₈ H ₂₀ O ₂
progesteron	57-83-0	bílý krystalický prášek	C ₂₁ H ₃₀ O ₂
norethindron, noretisteron	68-22-4	bílý krystalický prášek	C ₂₀ H ₂₆ O ₂

2.1.4 Vliv na lidské zdraví a životní prostředí

Ženské pohlavní hormony byly zařazeny v roce 2012 v IARC do skupiny 1, kam jsou zahrnuty látky pro člověka karcinogenní. Do této skupiny byly zařazeny ve formě léčiv určených k hormonální substituční léčbě u žen v menopauze (kombinace estrogenů s gestageny) a u postmenopauzálních žen (estrogeny) a dále ve formě perorální antikoncepce (kombinace estrogenů s gestageny) [33].

Estrogeny a gestageny rovněž zvyšují riziko žilního tromboembolizmu (VTE, venous thromboembolism) [34]. U mužů vede expozice estradiolu k disfunkcím reprodukčního systému (drobná ztráta libida, problémy s erekcí, inhibice spermatogeneze, která může vést až k neplodnosti, zakrňování sekundárních pohlavních znaků) a k rozvoji onemocnění zvaného gynekomastie (zvětšení prsů u mužů [2]) [35].

V životním prostředí byl negativní vliv ženských pohlavních hormonů pozorován zejména ve vodním ekosystému, neboť jedním z hlavních zdrojů těchto látek jsou odpadní vody. Bylo zjištěno, že estrogeny mohou způsobovat feminizaci rybích samců a tím negativně ovlivňovat reprodukci ryb. Hlavními projevy, s nimiž je feminizace spojována, jsou zvýšená koncentrace E2 a vitelogeninu v krevní plazmě, potlačení vývoje gonád, potlačení samčích sekundárních pohlavních znaků a spermatogeneze, patologické změny gonád, nižší plodnost a změněný

poměr pohlaví ve prospěch samic. Hladina VTG v krevní plazmě se stala vhodným indikátorem expozice ryb estrogenům [31].

Rovněž gestageny mají nepříznivý vliv na reprodukci ryb. Progesteron potlačuje tvorbu vajíček, snižuje plodnost a pohyblivost spermií. Norethindron rovněž potlačuje tvorbu vajíček a způsobuje maskulinizaci samic [32].

2.2 Heterogenní fotokatalýza na oxidu titaničitém

2.2.1 Definice heterogenní fotokatalýzy

Fotokatalýzu lze jednoduše definovat jako urychlení fotochemické reakce v důsledku přítomnosti katalyzátoru [38]. Řadíme ji mezi pokročilé oxidační procesy (AOP) [37], což je skupina procesů, které jsou založeny na *in situ* tvorbě vysoce reaktivních hydroxylových radikálů $\cdot\text{OH}$ [36]. Fotokatalýza se zpravidla dělí na homogenní a heterogenní. O homogenní fotokatalýze mluvíme, probíhá-li fotokatalýza v homogenní fázi [38]. Příkladem může být foto-Fentonova reakce [37]. O heterogenní fotokatalýze mluvíme, probíhá-li fotokatalýza na rozhraní mezi dvěma fázemi [38].

2.2.2 Fotokatalyzátory

Jako fotokatalyzátory se obvykle používají různé typy polovodičů [39]. Ideálním fotokatalyzátorem pro degradaci organických látek by byl takový polovodič, který využívá viditelné světlo, jeho fotokatalytická aktivita je vysoká, je dlouhodobě odolný vůči fotokorozi, chemicky inertní, netoxický a v neposlední řadě levný. Těmto požadavkům (avšak s jedinou podstatnou výjimkou) se velmi blíží oxid titaničitý [40].

Oxid titaničitý může být připraven ve formě krystalů, prášku nebo tenkého filmu, přičemž prášek a tenký film mohou být tvořeny krystality o velikosti od několika nanometrů po několik mikrometrů [40].

2.2.3 Kinetika fotokatalytické reakce

Kinetiku reakcí probíhajících na povrchu fotokatalyzátoru lze zpravidla popsat Langmuir-Hinshelwoodovým (L-H) modelem, podle něhož je rychlost rozkladu organické látky (v) přímo úměrná stupni pokrytí fotokatalyzátoru touto látkou (θ):

$$v = -\frac{dc}{dt} = k\theta = k \cdot \frac{Kc}{1 + Kc}, \quad (1)$$

kde c je koncentrace látky v kapalně fázi ($\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), t je čas (s), k je rychlostní konstanta reakce a K je Langmuierova adsorpční konstanta látky ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$) [37, 42]. Rovnice platí za podmíněk, že systém je v dynamické rovnováze a že soutěž meziproductů a reaktivních specií kyslíku o adsorpční místa na povrchu fotokatalyzátoru není limitující [37]. Z hlediska koncentrace organické látky mohou nastat dva krajní případy:

1) Je-li koncentrace organické látky vysoká, bude povrch fotokatalyzátoru danou látkou nasycen; stupeň pokrytí bude roven 1 a rychlost reakce bude odpovídat rychlostní konstantě (kinetika nultého řádu):

$$v = k \quad [42]. \quad (2)$$

2) Je-li koncentrace organické látky nízká (v řádu $\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$), lze rovnici upravit do tvaru, který odpovídá kinetice pseudo-prvního řádu:

$$v = kKc = k'c \quad [37]. \quad (3)$$

Rychlostní konstanty fotokatalytických reakcí probíhajících ve vodě se běžně pohybují v rozmezí 10^6 – $10^9 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ [37].

2.2.4 Fotokatalytický reaktor

Fotokatalytické reaktory lze podle formy použitého oxidu titaničitého rozdělit do dvou skupin, a to na 1) reaktory se suspendovaným fotokatalyzátorem a na 2) reaktory s fotokatalyzátorem imobilizovaným ve formě tenkého filmu nebo v pevném loži [37].

Fotokatalyzátor ve formě suspendovaných částic nabízí velký specifický povrch a snadný přestup hmoty a UV-fotonů ke svému povrchu. Toto je spojeno s vysokou účinností čistícího procesu, neboť fotokatalytické reakce mohou probíhat pouze na povrchu fotokatalyzátoru. Zásadním úskalím této skupiny reaktorů je nutnost separace fotokatalyzátoru z vody. Na co nejlepší vyřešení tohoto úskalí je proto soustředěna značná pozornost. Je zapotřebí předejít ztrátám fotokatalyzátoru a zamezit kontaminaci čištěné vody ze znečištěného fotokatalyzátoru. Jako separační krok lze využít sedimentaci, flokulaci, filtraci na cross-flow filtru nebo membránovou filtraci [37].

U reaktorů s imobilizovaným fotokatalyzátorem nastává obrácená situace. Sice odpadá nutnost separace fotokatalyzátoru, dochází však ke snížení účinnosti čistícího procesu, které je způsobeno snížením specifického povrchu a zhoršeným přestupem hmoty a UV-fotonů [43].

Pokud je oxid titaničitý deponován ve formě tenkého filmu na rotujícím disku, reaktor nabízí tyto tři hlavní výhody: 1) je osvětlena velmi velká plocha povrchu vzhledem k objemu reaktoru, 2) tenká vrstva kapaliny absorbuje velmi málo UV záření, v důsledku čehož je fotoaktivace oxidu titaničitého větší a 3) velká povrchová plocha usnadňuje přestup kyslíku ze vzduchu do kapalně fáze a tím zvyšuje celkovou účinnost fotokatalytické reakce. Důležitým provozním parametrem je rychlost rotace disku, od níž je odvislá tloušťka filmu kapaliny nesené na disku [43].

Deponování oxidu titaničitého na membránu umožňuje spojit výhody fotokatalytické degradace s membránovou filtrací (mikrofiltrace, ultrafiltrace nebo nanofiltrace) [37].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Instrumentace

Pro stanovení ženských pohlavních hormonů v modelových i reálných vzorcích vody byl využit kapalinový chromatograf 1100 Series s hmotnostním detektorem 6320 Ion Trap LC/MS vybaveným elektrosprejovou ionizací a iontovou pastí (Agilent Technologies, USA). Analyty byly separovány na koloně Kinetex[™] C18 150 x 3 mm; 2,6 μm (Phenomenex, USA).

Fotokatalytické pokusy probíhaly ve skleněném reaktoru s cirkulujícím roztokem (bližší popis viz kapitola 3.3.1), jehož součástí bylo peristaltické čerpadlo PCD 81 (Peristaltická čerpadla a dávkovače Ing. Jindřich Kouřil, ČR) a magnetická míchačka MM7 (Lavatec, ČR).

3.2 Standardy

Pro práci bylo zvoleno 7 zástupců ze skupiny ženských pohlavních hormonů. Vybrané látky zahrnovaly přírodní estrogeny a gestageny – estron (E1), β-estradiol (E2), estriol (E3) a progesteron (PROG), jejich syntetické deriváty – 17α-ethinylestradiol (EE2) a 19-norethindron (NOR), i syntetické (nesteroidní) hormony – diethylstilbestrol (DES). Zásobní roztoky jednotlivých analytů o koncentraci 1 mg·ml⁻¹ byly připraveny ve směsi acetonitrilu a MQ vody, 6:4 (v:v).

- estron (CAS č. 53-16-7): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)
- β-estradiol (CAS č. 50-28-2): ≥ 98 % (Sigma Aldrich, Německo)
- estriol (CAS č. 50-27-1): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)
- 17α-ethinylestradiol (CAS č. 57-63-6): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)
- diethylstilbestrol (CAS č. 56-53-1): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)
- progesteron (CAS č. 57-83-0): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)
- 19-norethindron (CAS č. 68-22-4): analytický standard (Sigma Aldrich, Německo)

3.3 Fotokatalytická degradace

3.3.1 Reaktor

Fotokatalytické pokusy probíhaly ve skleněném reaktoru s cirkulujícím roztokem. Základ reaktoru tvořila nízká skleněná nádoba, která byla uzavřena víkem se zabudovaným zdrojem záření a umístěna na magnetické míchačce. Zdroj záření byl typu UV-A LED s emisní vlnovou délkou 365 nm a poskytoval intenzitu záření 863 μW·cm⁻² (spočítáno z emisního spektra zdroje, pro výpočet vzato rozmezí vlnových délek 346 až 403 nm). Ve středu nádoby rotoval díky zabudovanému magnetickému míchadlu disk určený k uchycení nosiče s imobilizovaným fotokatalyzátorem. Jako fotokatalyzátor byl použit pětivrstvý film oxidu titaničitýho deponovaný na skleněné destičce (pracovní označení E37-A6A). Pracovní roztok byl pomocí peristaltického čerpadla odebírán ze dna nádoby reaktoru a Tygon[®] hadičkou (Saint-Gobain Performance Plastics, Francie) přiváděn zpět do nádoby tak, že shora stékal na rotující disk s oxidem titaničitým. Rotace disku zabezpečovala vytvoření tenkého filmu kapaliny nesené na disku a zároveň promíchávala pracovní roztok.

3.3.2 Fotokatalytický proces

Do fotokatalytického reaktoru byl vložen nosič s aktivovanou (superhydrofilní) vrstvou TiO_2 a odměřeno 40 ml pracovního roztoku. Aktivace TiO_2 probíhala po dobu 15 min pod zářivkami LYNX-S 11 W BL 368, které poskytovaly intenzitu záření $4\text{--}5 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ (změřeno přístrojem Irradiance meter X97 s detektorem UV-3701-4, Gigahertz-Optik, Německo). Následně byla zapnuta rotace disku s nosičem a cirkulace roztoku a po 10 min i zdroj záření (tento okamžik byl považován za 0. min fotokatalytické reakce). V časových intervalech (včetně 0. min) byly z reaktoru odebírány vzorky k analýze. Tentýž postup byl zopakován pro ověření fotolýzy a adsorpce. Při fotolytickém procesu byl nosič s imobilizovanou vrstvou TiO_2 nahrazen čistým nosičem, při procesu adsorpce byl po celou dobu pokusu ponechán zdroj záření vypnutý.

V experimentech byly použity modelové vzorky vody připravené přidáním patřičného množství zásobního roztoku daného hormonu o koncentraci $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ do MQ vody. Výchozí koncentrace hormonů byla $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, v případě estriolu bylo taktéž pracováno s koncentrací $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Vzorky byly z reaktoru odebírány v časovém intervalu 30 min po dobu 4 hod přímo do vialek. S ohledem na nemožnost vrácení vzorků zpět do reaktoru bylo odebíráno minimální množství nutné k analýze, tj. 0,4 ml. Během celého pokusu byly v součtu odebrány 4 ml (10krát 0,4 ml), což odpovídá 10 % z původních 40 ml, dá se tedy přepokládat, že ke zkreslení výsledků nedošlo.

3.3.3 Kvantifikace analytů

Průběh fotokatalytických reakcí byl sledován metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. Vzorky odebrané z reaktoru byly měřeny bez jakékoliv úpravy (zakoncentrování). Podmínky analýzy byly založeny na metodě pro simultánní stanovení ženských pohlavních hormonů, která je podrobně popsána v kapitole 3.4.3. Bylo pouze upraveno složení mobilní fáze tak, aby doba analýzy byla co nejkratší. V následujících tabulkách (Tab. 2 a Tab. 3) je uvedeno složení mobilní fáze pro jednotlivé metody a s tím související doba analýzy a retenční čas (t_R).

Tab. 2: Metoda pro stanovení estriolu o koncentraci $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Analyt	Nástřík (μl)	Složení MF	Doba analýzy (min)	t_R (min)
E3	5	40 % ACN, 60 % MQ voda	7	3,8

Tab. 3: Metody pro stanovení jednotlivých hormonů o koncentraci $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Analyt	Nástřík (μl)	Složení MF	Doba analýzy (min)	t_R (min)
E1	10	60 % ACN, 40 % MQ voda	8	4,9
E2				4,2
E3		40 % ACN, 60 % MQ voda	7	3,8
EE2		60 % ACN, 40 % MQ voda	8	4,5
DES				5,0
PROG		80 % ACN, 20 % MQ voda		4,8
NOR*		60 % ACN, 40 % MQ voda		4,7

*z důvodu nevyhovujících výsledků byla pro kvantifikaci nakonec použita metoda pro simultánní stanovení ženských pohlavních hormonů (kapitola 3.4.3)

3.4 Analýza reálných vzorků vod

3.4.1 Odběr vzorků

Reálné vzorky povrchových vod byly odebírány v průběhu 14 dní v červnu 2015. Odběrové lokality zahrnovaly obě řeky protékající městem Brnem, Svitavu a Svatku. Vzorky byly odebírány do lahví z tmavého skla a ihned transportovány do laboratoře. Zpracovány byly ještě tentýž den.

3.4.2 Úprava vzorků a extrakce analytů

Při analýze reálných vzorků povrchových vod byla zvolena extrakce hormonů do tuhé fáze metodou SPE. Postup extrakce byl v rámci práce optimalizován (přičemž se vycházelo z těchto literárních zdrojů [44–46]). Optimalizovaný postup je shrnut v následujícím odstavci.

Vzorek vody byl přefiltrován přes filtr ze skleněných vláken, aby se předešlo ucpávání SPE kolonek. Filtr byl zalit methanolem (15 ml na 1 l vzorku) a vložen do ultrazvukové lázně na dobu 15 min. Methanol byl následně přidán ke vzorku. Ultrazvuková extrakce z filtru byla zopakována ještě jednou; pH vzorku bylo upraveno kyselinou octovou na hodnotu 3. Z takto připraveného vzorku byly analyty extrahovány postupem uvedeným v Tab. 4. Získaný extrakt byl přečištěn na florisilových kolonkách postupem uvedeným v Tab. 5.

Tab. 4: SPE extrakce

SPE kolonky	Supel TM Select HLB 200 mg (Sigma Aldrich, Německo)
Kondicionace	5 ml hexanu
	5 ml ethylacetátu
	5 ml methanolu
	10 ml MQ vody
Vzorek	300 ml přibližnou rychlostí 100 ml za 0,5 hod
Promývací krok 1	5 ml 40% (v:v) methanolu ve vodě
Re-ekvilibrace	5 ml MQ vody
Promývací krok 2	2krát 5 ml 10% (v:v) methanolu ve 2% (w:w) NH ₄ OH ve vodě
Sušení	proudem vzduchu po dobu 20 min
Eluce	6 ml směsi ethylacetát:methanol, 5:1 (v:v)
Odpaření do sucha	pod dusíkem
Rozpuštění odparku	1 ml směsi dichlormethan:hexan, 1:1 (v:v)

Tab. 5: Přečištění extraktu

SPE kolonky	Supelclean TM ENVI-Florisil [®] (Sigma Aldrich, Německo)
Kondicionace	5 ml směsi aceton:hexan, 3:1 (v:v)
	5 ml směsi dichlormethan:hexan, 1:1 (v:v)
Vzorek	1 ml extraktu
Promývací krok	10 ml směsi dichlormethan:hexan, 1:1 (v:v)
Eluce	8 ml směsi aceton:hexan, 3:1 (v:v)
Odpaření do sucha	pod dusíkem
Rozpuštění odparku	1 ml methanolu

3.4.3 Finální analytická metoda

Parametry finální analytické metody (HPLC-MS) určené pro simultánní stanovení ženských pohlavních hormonů byly nastaveny (s drobnými úpravami) podle metody uvedené v diplomové práci studentky Martiny Remerové [47]. Parametry jsou shrnuty v Tab. 6. Sledované ionty (m/z) a retenční časy (min) jednotlivých analytů jsou prezentovány v Tab. 7.

Tab. 6: Parametry HPLC-MS metody pro simultánní stanovení zájmových hormonů

HPLC parametry	
Nástřik	10 μ l
Průtok mobilní fáze	0,25 ml·min ⁻¹
Složení mobilní fáze	MQ voda, ACN
Gradient mobilní fáze	0 min – 40 % ACN, 20 min – 90 % ACN
Teplota kolony	25 °C
Celková doba analýzy	30 min (10 min ustálení tlaku) pro jeden polarizační mód
MS parametry	
Zmlžovací a sušící plyn	N ₂
Tlak zmlžovacího plynu	25 psi
Teplota sušícího plynu	350 °C
Průtok sušícího plynu	10 l·min ⁻¹
MS mód	sken
Rozsah skenu	50–800 m/z
Polarita	negativní: E1, E2, E3, EE2, DES, pozitivní: PROG, NOR

Tab. 7: Sledované ionty a retenční časy jednotlivých analytů

Analyt	Sledovaný ion (m/z)	Retenční čas (min)
E1	269,1	11,4
E2	271,1	9,9
E3	287,1	3,8
EE2	295,1	11,0
DES	267,1	12,8
PROG	315,3	16,6
NOR	299,2	10,6

4 VYBRANÉ VÝSLEDKY

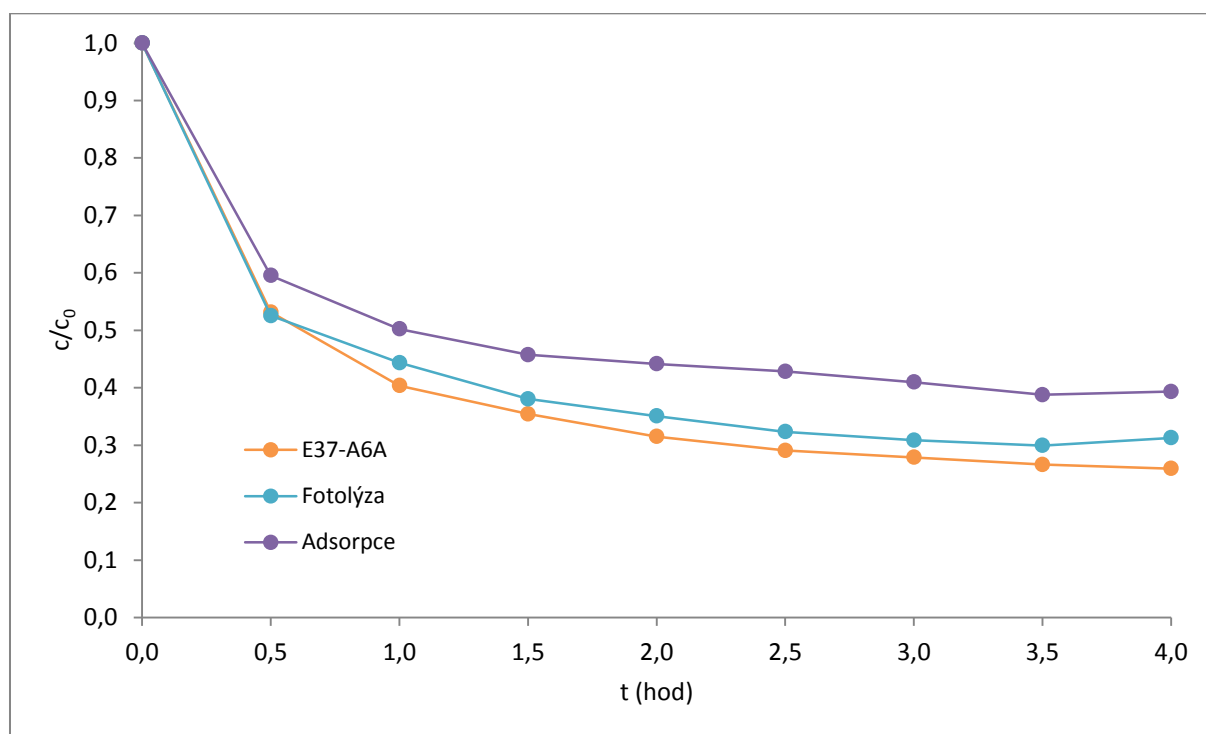
4.1 Kinetika fotokatalytického rozkladu hormonů

Všechny sledované látky, s výjimkou estriolu, vykázaly v daném systému velmi výrazný sklon k adsorpci. U čtyř analytů (E1, DES, PROG a NOR) byly zjištěny podobné až totožné výsledky tří různých experimentů (fotokatalýza, fotolýza a adsorpce); z toho lze vyvodit, že dominantním procesem, který zapříčinil pokles koncentrace, byla adsorpce. U dvou z těchto látek (DES a PROG) byl navíc pozorován velmi rychlý koncentrační úbytek – u DES poklesla koncentrace za půl hodiny libovolného experimentu pokaždé na 20 % z počáteční hodnoty, u PROG na 15 %.

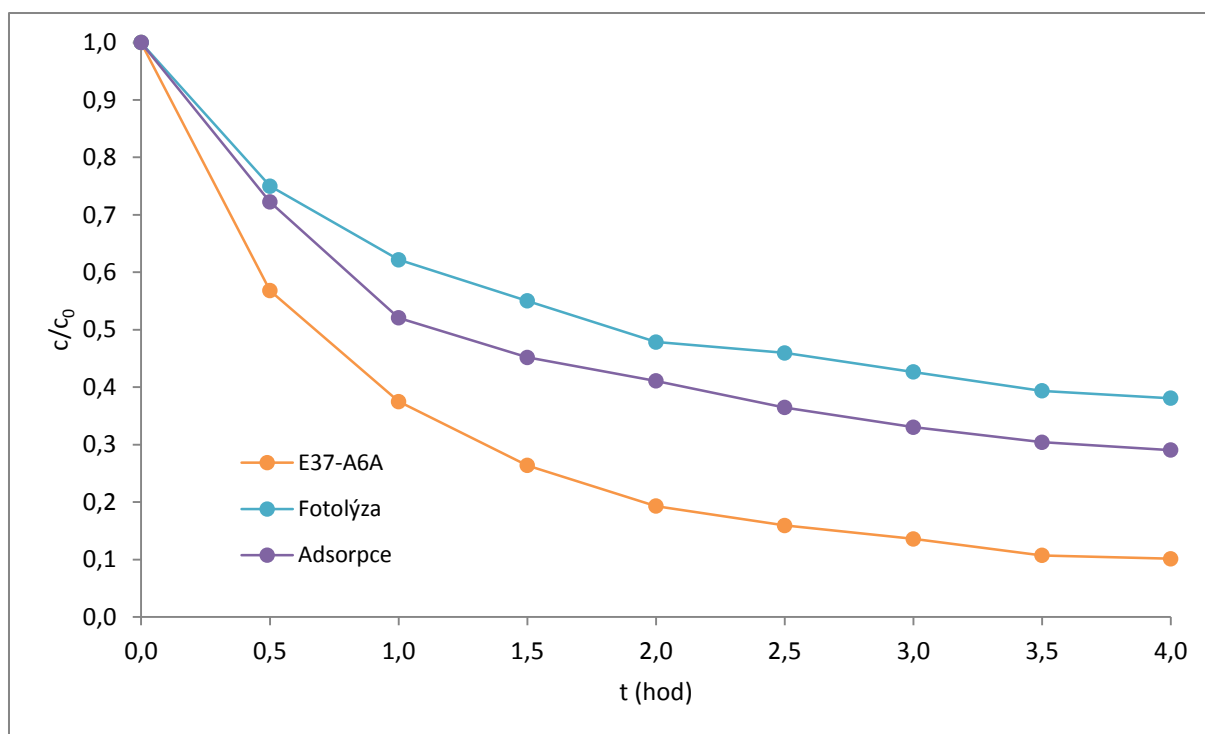
Estradiol a ethinylestradiol vykázaly určitý podíl fotokatalytické oxidace na poklesu koncentrace. Vliv adsorpce byl však i zde velmi výrazný. Navíc dlouhá doba ustavování adsorpční rovnováhy nedovolila určit formální rychlostní konstantu příslušného fotokatalytického rozkladu.

Ze sledovaných látek pouze estriol nepodléhal adsorpci. Pravděpodobným vysvětlením je vyšší rozpustnost estriolu ve vodě ve srovnání s ostatními zájmovými sloučeninami. Tato skutečnost umožnila určení formální rychlostní konstanty fotokatalytického rozkladu, jejíž hodnota byla $0,5527 \text{ hod}^{-1}$ pro počáteční koncentraci $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a $0,1929 \text{ hod}^{-1}$ pro počáteční koncentraci $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Porovnáním hodnot formální rychlostní konstanty pro různé počáteční koncentrace bylo zjištěno, že se zvyšující se koncentrací degradované látky probíhá rozklad pomaleji (při 5násobném zvětšení počáteční koncentrace poklesla hodnota formální rychlostní konstanty téměř na třetinu).

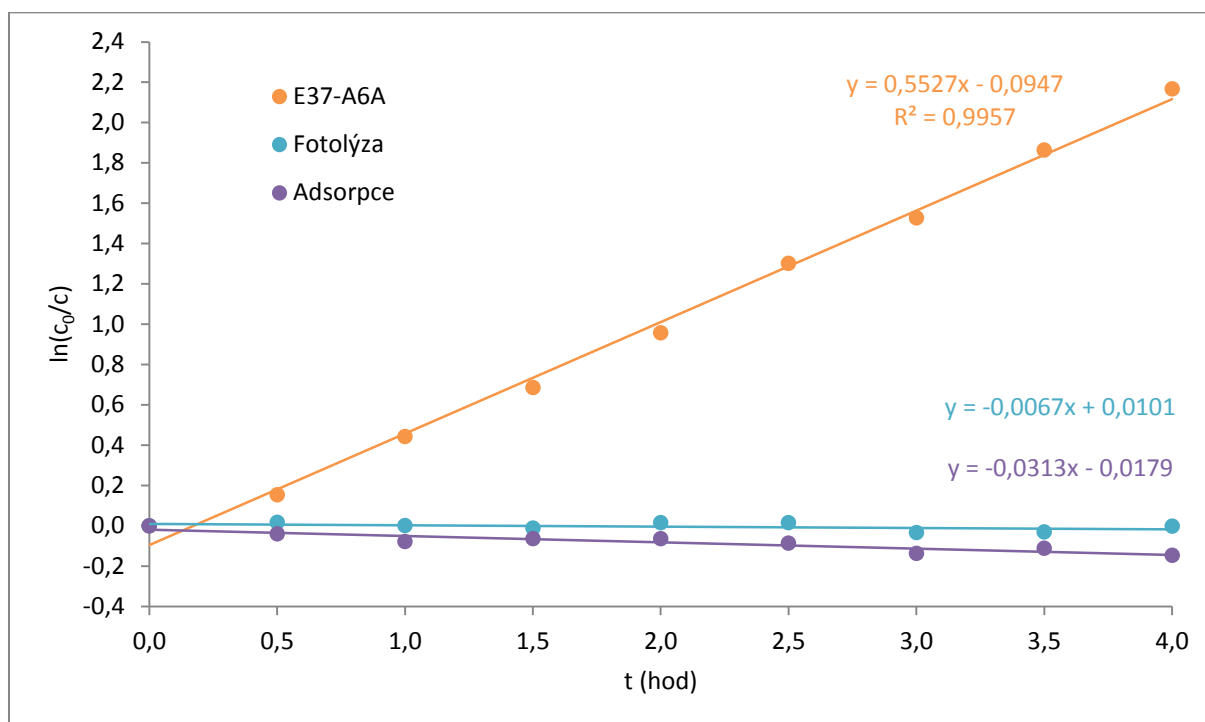
Na následujících obrázcích (Obr. 4–Obr. 11) je vyjádřena závislost relativní koncentrace na čase (E1, E2, EE2, DES, PROG a NOR) a určení formální rychlostní konstanty (E3).



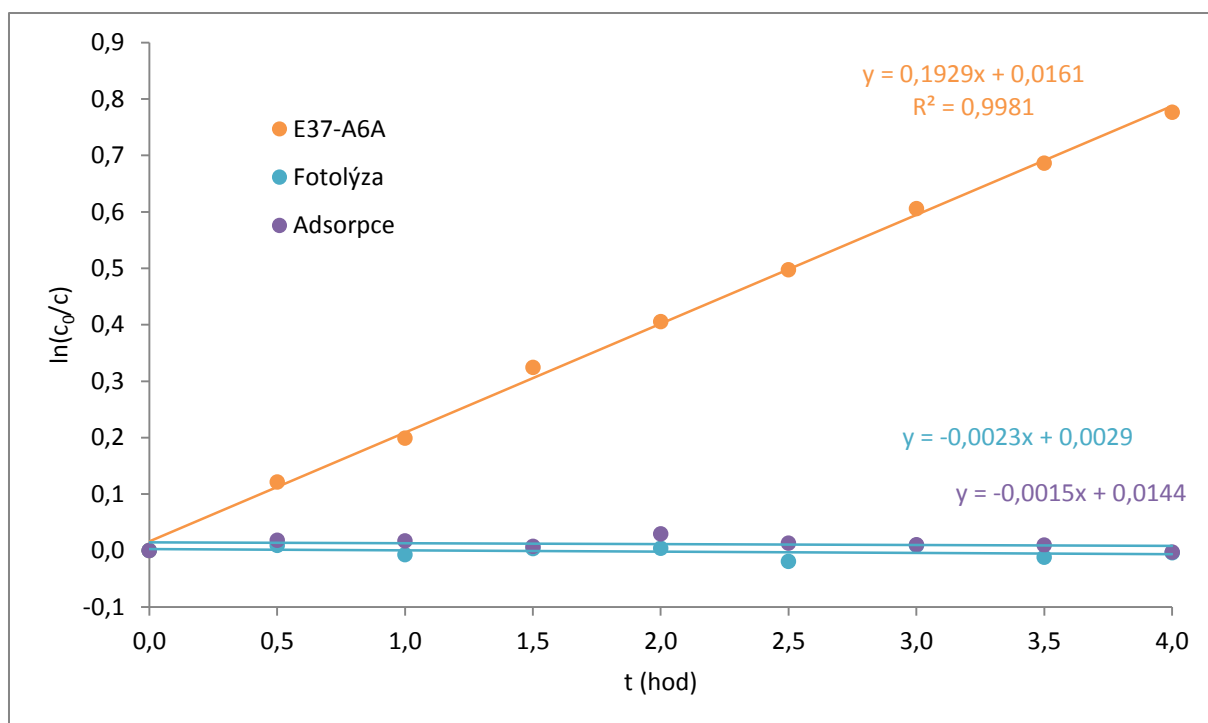
Obr. 4: Kinetika fotokatalytického rozkladu estronu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase



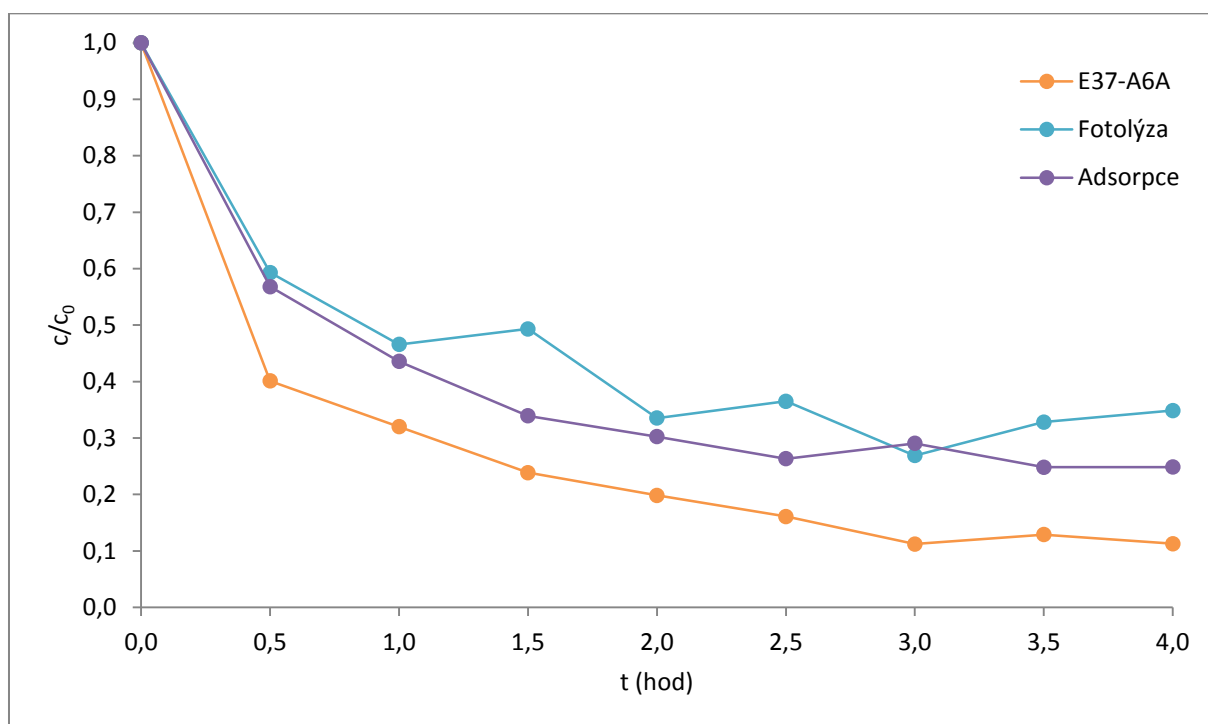
Obr. 5: Kinetika fotokatalytického rozkladu estradiolu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase



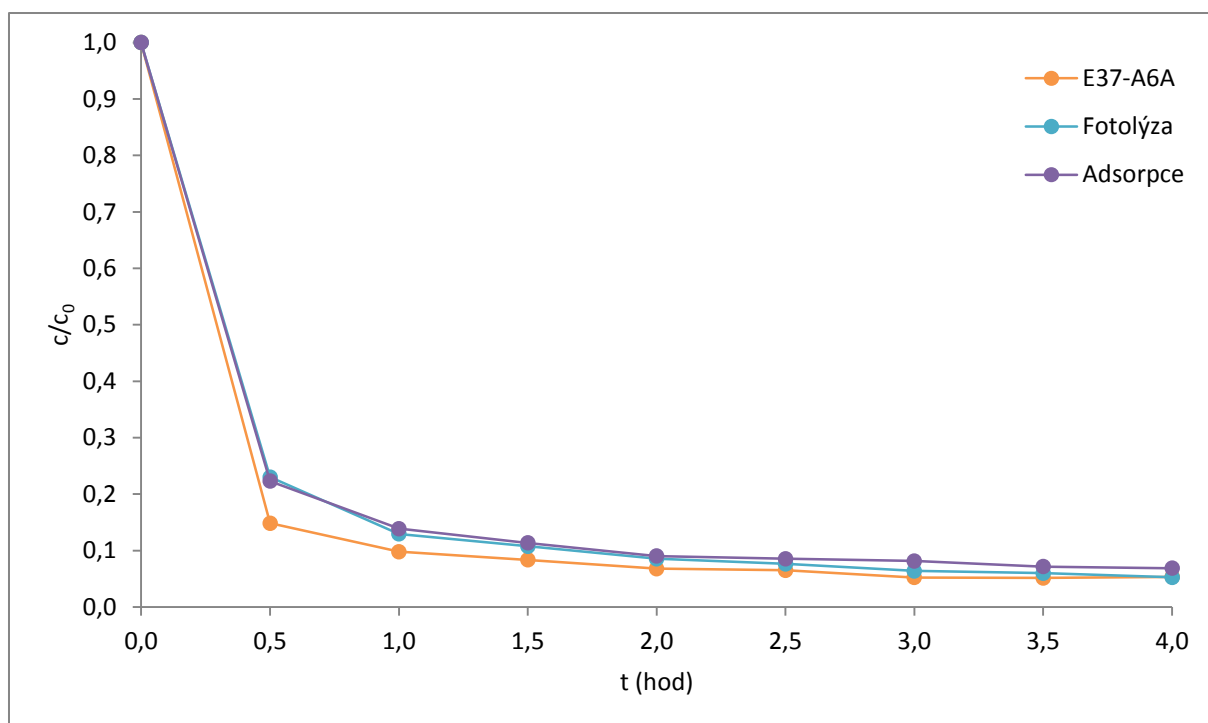
Obr. 6: Kinetika fotokatalytického rozkladu estradiolu o koncentraci $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$: závislost $\ln(c_0/c)$ na t



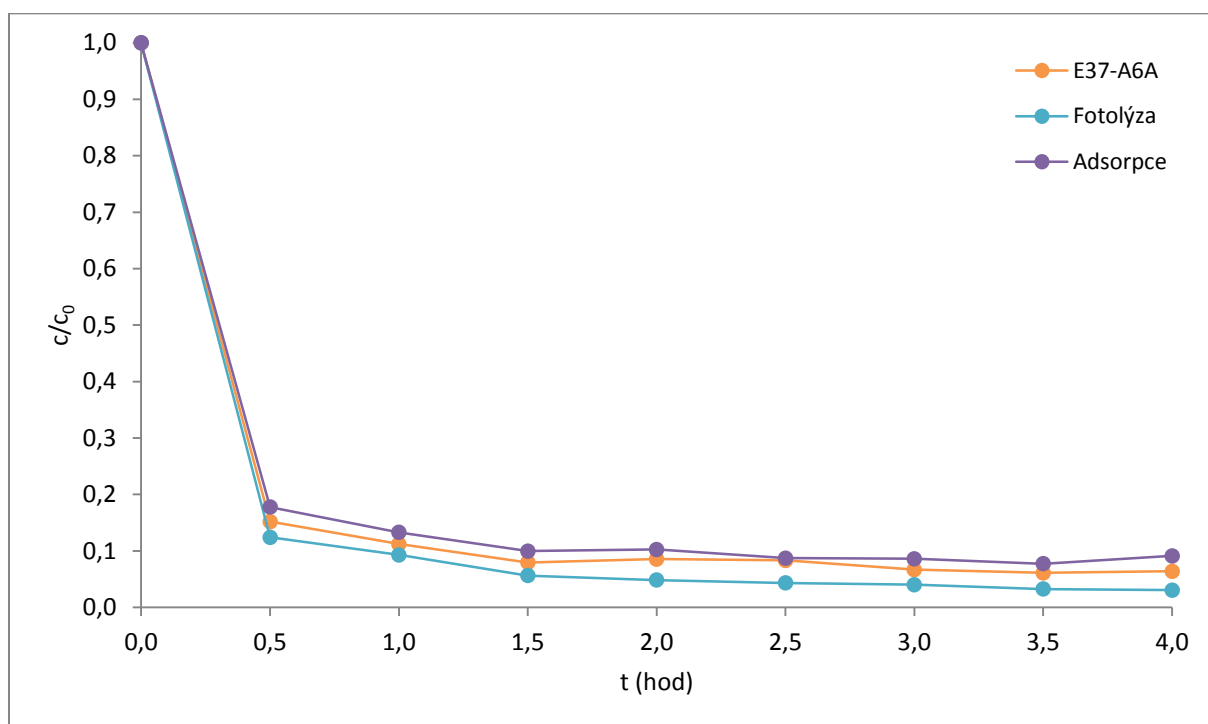
Obr. 7: Kinetika fotokatalytického rozkladu estriolu o koncentraci $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$: závislost $\ln(c_0/c)$ na t



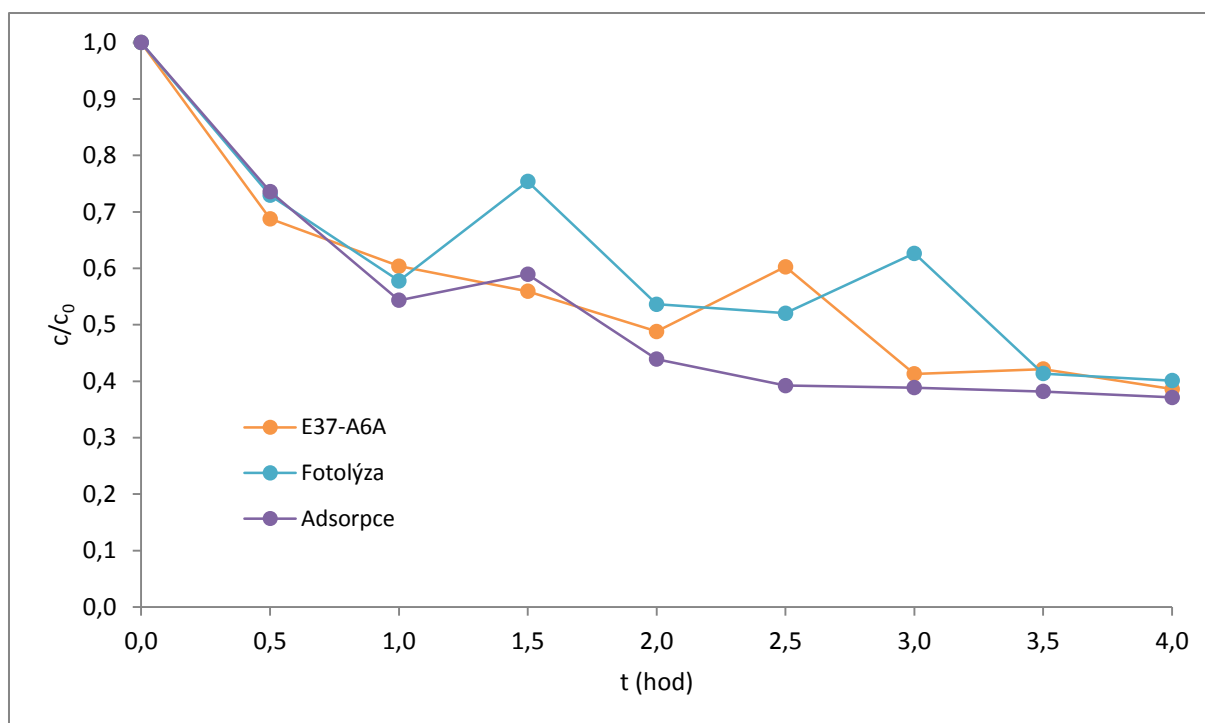
Obr. 8: Kinetika fotokatalytického rozkladu ethinylestradiolu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase



Obr. 9: Kinetika fotokatalytického rozkladu diethylstilbestrolu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase



Obr. 10: Kinetika fotokatalytického rozkladu progesteronu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase



Obr. 11: Kinetika fotokatalytického rozkladu norethindronu ($1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$): závislost relativní koncentrace na čase

4.2 Kontaminace řek Svitava a Svratka ženskými pohlavními hormony

Každý vzorek byl zpracován třikrát a následně byla vypočtena průměrná hodnota koncentrace včetně směrodatné odchylky (funkce SMODCH v Excelu). Pro účely výpočtu parametrů uvedených v předchozí větě byly koncentrace pod mezí detekce a pod mezí stanovitelnosti nahrazeny referenčními hodnotami odpovídajícími středům intervalů (0, LOD) a (LOD, LOQ). Příslušné hodnoty LOD a LOQ jsou zobrazeny v Tab. 8.

Ve Svitavě se koncentrace ženských pohlavních hormonů ve sledovaném období pohybovaly většinou pod mezí detekce, případně pod mezí stanovitelnosti. Kvantifikovatelná průměrná hodnota byla zjištěna třikrát, dvakrát u progesteronu (12 a $22 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) a jednou u norethindronu ($26 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$). Obdobné výsledky byly zjištěny pro Svratku. Ve většině případů byla koncentrace ženských pohlavních hormonů pod mezí detekce, případně pod mezí stanovitelnosti. Kvantifikovatelná průměrná hodnota byla zjištěna pětkrát, jednou u estronu ($25 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) dvakrát u progesteronu (12 a $21 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) a dvakrát u norethindronu (31 a $34 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$).

Tab. 8: LOD a LOQ ze dne, kdy byly měřeny reálné vzorky

Analyt	Instrumentální		Reálná	
	LOD ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	LOQ ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	LOD ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$)	LOQ ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$)
E1	2	6	6	20
E2	2	7	7	24
E3	2	7	12	42
EE2	2	8	9	30
DES	0,3	1	47	156
PROG	1	2	3	9
NOR	1	3	3	9

5 ZÁVĚR

Předložená dizertační práce se zabývá problematikou výskytu ženských pohlavních hormonů ve vodních ekosystémech, s důrazem na možnosti odstranění těchto látek fotokatalytickou oxidací. Práce byla rozdělena do dvou tematických okruhů.

První tematický okruh byl zaměřen na studium fotokatalyzovaného rozkladu zájmových látek. Experimenty probíhaly v reaktoru vybaveném energeticky úspornými LED diodami, které si vyžádaly pečlivý výběr vhodného fotokatalyzátoru. Za tímto účelem byl zvolen pětivrstvý film oxidu titaničitého s pracovním označením E37-A6A.

Kinetika fotokatalytického rozkladu zájmových látek byla studována s využitím modelových vzorků vody (uměle kontaminovaná MQ voda obsahující vždy pouze jednu látku o koncentraci $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), která musela být s ohledem na nízkou rozpustnost hormonů ve vodě připravena z příslušných zásobních roztoků. V daném systému vykázaly všechny sledované hormony s výjimkou estriolu velmi výrazný sklon k adsorpci, která znemožnila určení formálních rychlostních konstant příslušných fotokatalytických rozkladných reakcí. U E1, DES, PROG a NOR byla adsorpce dominantním procesem, který zapříčinil pokles koncentrace během experimentů. U E2 a EE2 byl vliv fotokatalytické oxidace na snížení koncentrace již znatelný, avšak vliv adsorpce zůstal výrazný, navíc s dlouhou dobou ustavování adsorpční rovnováhy.

Ze sledovaných látek pouze estriol nepodléhal adsorpci. Pravděpodobným vysvětlením je vyšší rozpustnost estriolu ve vodě ve srovnání s ostatními zájmovými sloučeninami. Tato skutečnost umožnila určení formální rychlostní konstanty fotokatalytického rozkladu, jejíž hodnota byla $0,5527 \text{ hod}^{-1}$ pro počáteční koncentraci $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a $0,1929 \text{ hod}^{-1}$ pro počáteční koncentraci $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Porovnáním hodnot formální rychlostní konstanty pro různé počáteční koncentrace bylo zjištěno, že se zvyšující se koncentrací degradované látky probíhá rozklad pomaleji (při 5násobném zvětšení počáteční koncentrace poklesla hodnota formální rychlostní konstanty téměř na třetinu).

Zvýšením počáteční koncentrace estriolu na $25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a vhodnou úpravou podmínek analýzy se podařilo zaznamenat celkem 9 počátečních degradačních meziproduktů jeho fotokatalytické oxidace a na základě hmotnostních spekter navrhnout jejich strukturu. Zjištěné meziprodukty byly porovnány s literaturou.

Druhý tematický okruh práce byl zaměřen na vývoj analytické metody pro stanovení ženských pohlavních hormonů v reálných vzorcích vody. Pro zakoncentrování analytů a minimalizaci matričního efektu byla zvolena extrakce do tuhé fáze metodou SPE, pro finální analytickou metodu vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí. V této části práce byla pozornost věnována zejména optimalizaci extrakční metody, a to s ohledem na silný matriční efekt, který vykazovaly reálné vzorky vody. Výsledný proces zpracování vzorků byl poměrně obsáhlý a kromě extrakce na kolonkách SupelTM Select HLB s 200 mg sorbentu (včetně dvou promývacích kroků) zahrnoval odstranění mechanických nečistot, extrakci hormonů z pevného podílu zachyceného na filtračním materiálu, okyselení vzorku a přečištění extraktu na florisilových kolonkách SupelcleanTM ENVI-Florisil[®]. Výťažnost metody se pro všechny hormony s výjimkou DES pohybovala v rozmezí 57–97 % (u DES byla výtěžnost téměř nulová).

Optimalizovaná metoda byla použita pro stanovení koncentrace ženských pohlavních hormonů v povrchové vodě odebrané ve dvou brněnských řekách, Svitavě a Svratce. Ve většině případů byla koncentrace pod mezí detekce, případně pod mezí stanovitelnosti.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] HAMPL, F., S. RÁDL a J. PALEČEK. *Farmakochemie*. 2. rozš. vyd. Praha: VŠCHT, 2007, 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [2] *Rodinná encyklopedie zdraví*. 1. vyd. Překlad J. Hořejší. Praha: Gemini, 1993, 1184 s. ISBN 80-716-1057-7.
- [3] JANEX-HABIBI, M.-L., A. HUYARD, M. ESPERANZA a A. BRUCHET. Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: The benefit of wastewater treatment. *Water Research*. 2009, vol. 43, issue 6, s. 1565-1576. DOI: 10.1016/j.watres.2008.12.051.
- [4] SIM, W.-J., J.-W. LEE, S.-K. SHIN, K.-B. SONG a J.-E. OH. Assessment of fates of estrogens in wastewater and sludge from various types of wastewater treatment plants. *Chemosphere*. 2011, vol. 82, issue 10, s. 1448-1453. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.11.045.
- [5] CHANG, H., Y. WAN, S. WU, Z. FAN a J. HU. Occurrence of androgens and progestogens in wastewater treatment plants and receiving river waters: Comparison to estrogens. *Water Research*. 2011, vol. 45, issue 2, s. 732-740. DOI: 10.1016/j.watres.2010.08.046.
- [6] YING, G.-G., R. S. KOOKANA, A. KUMAR a M. MORTIMER. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland. *Science of The Total Environment*. 2009, vol. 407, issue 18, s. 5147-5155. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.06.002.Ying
- [7] CAN, Z. S., M. FIRLAK, A. KERÇ a S. EVCIMEN. Evaluation of different wastewater treatment techniques in three WWTPs in Istanbul for the removal of selected EDCs in liquid phase. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2014, vol. 186, issue 1, s. 525-539. DOI: 10.1007/s10661-013-3397-7.
- [8] SOUSA, A., R. SCHÖNENBERGER, N. JONKERS, M. J.-F. SUTER, S. TANABE a C. M. BARROSO. Chemical and Biological Characterization of Estrogenicity in Effluents from WWTPs in Ria de Aveiro (NW Portugal). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2010, vol. 58, issue 1, s. 1-8. DOI: 10.1007/s00244-009-9324-9.
- [9] LIU, S., G.-G. YING, J.-L. ZHAO, F. CHEN, B. YANG, L.-J. ZHOU a H.-j. LAI. Trace analysis of 28 steroids in surface water, wastewater and sludge samples by rapid resolution liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2011, vol. 1218, issue 10, s. 1367-1378. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.01.014.
- [10] ATKINSON, S. K., V. L. MARLATT, L. E. KIMPE, D. R. S. LEAN, V. L. TRUDEAU a J. M. BLAIS. The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*. 2012, vol. 430, s. 119-125. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.04.069.
- [11] HEDGESPEETH, M. L., Y. SAPOZHNIKOVA, P. PENNINGTON, A. CLUM, A. FAIREY a E. WIRTH. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in treated wastewater discharges into Charleston Harbor, South Carolina. *Science of The Total Environment*. 2012, vol. 437, s. 1-9. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.07.076.
- [12] MISPAHEL, C., G. ALLINSON, M. ALLINSON, F. SHIRAISHI, M. NISHIKAWA a M. R. MOORE. Observations on the Estrogenic Activity and Concentration of 17β-

- Estradiol in the Discharges of 12 Wastewater Treatment Plants in Southern Australia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2009, vol. 56, issue 4, s. 631-637. DOI: 10.1007/s00244-008-9261-z.
- [13] CAMACHO-MUÑOZ, D., J. MARTÍN, J. L. SANTOS, I. APARICIO a E. ALONSO. Effectiveness of conventional and low-cost wastewater treatments in the removal of pharmaceutically active compounds. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2012, vol. 223, issue 5, s. 2611-2621. DOI: 10.1007/s11270-011-1053-9.
- [14] MARTÍN, J., D. CAMACHO-MUÑOZ, J. L. SANTOS, I. APARICIO a E. ALONSO. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, vol. 239-240, s. 40-47. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.04.068.
- [15] ZHANG, H.-C., X.-j. YU, W.-c. YANG, J.-f. PENG, T. XU, D.-Q. YIN a X.-l. HU. MCX based solid phase extraction combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the simultaneous determination of 31 endocrine-disrupting compounds in surface water of Shanghai. *Journal of Chromatography B*. 2011, vol. 879, issue 28, s. 2998-3004. DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.08.036.
- [16] CIOFI, L., D. FIBBI, U. CHIUMINATTO, E. COPPINI, L. CHECCHINI a M. DEL BUBBA. Fully-automated on-line solid phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometric analysis at sub-ng/L levels of selected estrogens in surface water and wastewater. *Journal of Chromatography A*. 2013, vol. 1283, s. 53-61. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.01.084.
- [17] GORGA, M., M. PETROVIC a D. BARCELÓ. Multi-residue analytical method for the determination of endocrine disruptors and related compounds in river and waste water using dual column liquid chromatography switching system coupled to mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013, vol. 1295, s. 57-66. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.04.028.
- [18] ROCHA, S., V. F. DOMINGUES, C. PINHO, V. C. FERNANDES, C. DELERUE-MATOS, P. GAMEIRO a C. MANSILHA. Occurrence of Bisphenol A, Estrone, 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol in Portuguese Rivers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2013, vol. 90, issue 1, s. 73-78. DOI: 10.1007/s00128-012-0887-1.
- [19] JEFFRIES, K. M., L. J. JACKSON, M. G. IKONOMOU a H. R. HABIBI. Presence of natural and anthropogenic organic contaminants and potential fish health impacts along two river gradients. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2010, vol. 29, issue 10, s. 2379-2387. DOI: 10.1002/etc.265.
- [20] CHEN, W.-L., G.-S. WANG, J.-C. GWO a C.-Y. CHEN. Ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry determination of feminizing chemicals in river water, sediment and tissue pretreated using disk-type solid-phase extraction and matrix solid-phase dispersion. *Talanta*. 2012, vol. 89, s. 237-245. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.12.020.
- [21] CHEN, T.-S., T.-C. CHEN, K.-J. C. YEH, H.-R. CHAO, E.-T. LIAW, C.-Y. HSIEH, K.-C. CHEN, L.-T. HSIEH a Y.-L. YEH. High estrogen concentrations in receiving river discharge from a concentrated livestock feedlot. *Science of The Total Environment*. 2010, vol. 408, issue 16, s. 3223-3230. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.03.054.

- [22] LIU, S., G.-G. YING, R.-Q. ZHANG, L.-J. ZHOU, H.-J. LAI a Z.-F. CHEN. Fate and occurrence of steroids in swine and dairy cattle farms with different farming scales and wastes disposal systems. *Environmental Pollution*. 2012, vol. 170, s. 190-201. DOI: 10.1016/j.envpol.2012.07.016.
- [23] KUSTER, M., D. A. AZEVEDO, M. J. LÓPEZ DE ALDA, F. R. AQUINO NETO a D. BARCELÓ. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). *Environment International*. 2009, vol. 35, issue 7, s. 997-1003. DOI: 10.1016/j.envint.2009.04.006.
- [24] MIGOWSKA, N., M. CABAN, P. STEPNOWSKI a J. KUMIRSKA. Simultaneous analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs and estrogenic hormones in water and wastewater samples using gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography with electron capture detection. *Science of The Total Environment*. 2012, vol. 441, s. 77-88. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.043.
- [25] KARNJANAPIBOONWONG, A., J. G. SUSKI, A. A. SHAH, Q. CAI, A. N. MORSE a T. A. ANDERSON. Occurrence of PPCPs at a Wastewater Treatment Plant and in Soil and Groundwater at a Land Application Site. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2011, vol. 216, issue 1-4, s. 257-273. DOI: 10.1007/s11270-010-0532-8.
- [26] BARTELT-HUNT, S., D. D. SNOW, T. DAMON-POWELL a D. MIESBACH. Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. *Journal of Contaminant Hydrology*. 2011, vol. 123, issue 3-4, s. 94-103. DOI: 10.1016/j.jconhyd.2010.12.010.
- [27] VULLIET, E. a C. CREN-OLIVÉ. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environmental Pollution*. 2011, vol. 159, issue 10, s. 2929-2934. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.04.033.
- [28] MANSILHA, C., A. MELO, I. M. P. L. V. O. FERREIRA, O. PINHO, V. DOMINGUES, C. PINHO a P. GAMEIRO. Groundwater from Infiltration Galleries Used for Small Public Water Supply Systems: Contamination with Pesticides and Endocrine Disruptors. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2011, vol. 87, issue 3, s. 312-318. DOI: 10.1007/s00128-011-0337-5.
- [29] VULLIET, E., C. CREN-OLIVÉ a M.-F. GRENIER-LOUSTALOT. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. *Environmental Chemistry Letters*. 2011, vol. 9, issue 1, s. 103-114. DOI: 10.1007/s10311-009-0253-7.
- [30] SODRÉ, F. F., M. A. F. LOCATELLI a W. F. JARDIM. Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2010, vol. 206, issue 1-4, s. 57-67. DOI: 10.1007/s11270-009-0086-9.
- [31] LEET, J. K., H. E. GALL a M. S. SEPÚLVEDA. A review of studies on androgen and estrogen exposure in fish early life stages: effects on gene and hormonal control of sexual differentiation. *Journal of Applied Toxicology*. 2011, vol. 31, issue 5, s. 379-398. DOI: 10.1002/jat.1682.
- [32] ORLANDO, E. F. a L. E. ELLESTAD. Sources, concentrations, and exposure effects of environmental gestagens on fish and other aquatic wildlife, with an emphasis on reproduction. *General and Comparative Endocrinology*. 2014. DOI: 10.1016/j.ygcen.2014.03.038.

- [33] *A Review of Human Carcinogens: Pharmaceuticals*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2012. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 100A.
- [34] ARCHER, D. F. a E. OGER. Estrogen and progestogen effect on venous thromboembolism in menopausal women. *Climacteric*. 2012, vol. 15, issue 3, s. 235-240. DOI: 10.3109/13697137.2012.664401.
- [35] POHANISH, R. P. E. *Sittig's Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*. Elsevier, 2012, s. 1143. DOI: 10.1016/B978-1-4377-7869-4.00005-9.
- [36] GÜLTEKIN, I. a N. H. INCE. Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*. 2007, vol. 85, issue 4, s. 816-832. DOI: 10.1016/j.jenvman.2007.07.020.
- [37] CHONG, M. N., B. JIN a C. SAINT. Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review. *Water Research*. 2010, vol. 44, issue 10, s. 2997-3027. DOI: 10.1016/j.watres.2010.02.039.
- [38] SERPONE, N. a A. V. EMELINE. Suggested terms and definitions in photocatalysis and radiocatalysis. *International Journal of Photoenergy*. 2002, vol. 4, s. 91-131.
- [39] FUJISHIMA, A., X. ZHANG a D. TRYK. TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surface Science Reports*. 2008, vol. 63, issue 12, s. 515-582. DOI: 10.1016/j.surfrep.2008.10.001.
- [40] CARP, O. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Progress in Solid State Chemistry*. 2004, vol. 32, issue 1-2, s. 33-177. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2004.08.001.
- [41] *Hazardous Substances Data Bank (HSDB)* [databáze online]. Dostupné z: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- [42] HERRMANN, J.-M. Titania-based true heterogeneous photocatalysis. *Environmental Science and Pollution Research*. 2012, vol. 19, issue 9, s. 3655-3665. DOI: 10.1007/s11356-011-0697-8.
- [43] OCHIAI, T. a A. FUJISHIMA. Photoelectrochemical properties of TiO₂ photocatalyst and its applications for environmental purification. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 2012, vol. 13, issue 4, s. 247-262. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2012.07.001.
- [44] JURASOVÁ, L. *Stanovení vybraných hormonálních přípravků pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem*. Brno, 2012. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
- [45] INGRAND, V., G. HERRY, J. BEAUSSE a M.-R. de ROUBIN. Analysis of steroid hormones in effluents of wastewater treatment plants by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2003, vol. 1020, issue 1, s. 99-104. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)00770-2.
- [46] ČECHOVÁ, E. *Removal of estrogens in different treatment processes*. Brno, 2013. Rigorous thesis. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí.
- [47] REMEROVÁ, M. *Využití pasivního vzorkování při analýze hormonů v pitných vodách*. Brno, 2013. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.

PROFIL AUTORA

Osobní údaje

Jméno: Ing. Zuzana Olejníčková
Datum narození: 8. 9. 1986
E-mail: xcolejnickova@fch.vutbr.cz

Dosažené vzdělání

Institute: **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Období: 2011–současnost
Typ studia: doktorské
Obor: Chemie životního prostředí
VŠKP: Studium degradace léčiv s využitím pokročilých oxidačních procesů

Institute: **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Období: 2009–2011
Typ studia: navazující magisterské (prospěla s vyznamenáním)
Obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
VŠKP: Odstraňování reziduí specifického antropogenního znečištění vody organickými látkami s hormonálními účinky při úpravě na vodu pitnou

Institute: **Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická**
Období: 2006–2009
Typ studia: bakalářské (prospěla s vyznamenáním)
Obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
VŠKP: Odstraňování reziduí specifického antropogenního znečištění vody organickými látkami při úpravě na vodu pitnou

Institute: **Gymnázium Kroměříž**
Období: 2002–2006
Typ studia: střední všeobecné (prospěla s vyznamenáním)

Ocenění

11/2011 1. místo v soutěži diplomových prací v oboru ochrany vod (Cena J. S. Čecha), pořadatel HYDROTECH s. r. o.
06/2011 Cena rektora za vynikající studijní výsledky během celého studia

Další vzdělání – letní školy

08/2014 24th Jyväskylä Summer School: Environmental Fate and Possible Effects of Nanoparticles: Background and Laboratory Exercises

Další vzdělání – vícedenní semináře

03/2015 Zajištění kvality analytických výsledků 2015, Žermanická přehrada (3 dny)
05/2013 Odběry vzorků, Valtice (3 dny)
03/2013 Zajištění kvality analytických výsledků, Žermanická přehrada (3 dny)

10/2012	Analýza látek v životním prostředí, Komorní Lhotka (3 dny)
09/2012	13. Škola hmotnostní spektrometrie, Srní (6 dnů)
04/2012	Škola GC MS, Praha (3 dny)
10/2011	Analýza organických látek, Valtice (4 dny)

Další vzdělání – jednodenní semináře

11/2013	seminář firmy Waters “VIZE 2013”, Brno
03/2013	seminář firmy Merck “LabWater Tour 2013”, Brno
02/2013	seminář firmy Sigma Aldrich ve spolupráci s Ústavem analýzy potravin a výživy VŠCHT Praha “Chemie v potravinách a životním prostředí: Jak nám chromatografie pomáhá v poznání?”, Praha
11/2012	seminář firmy Waters “VIZE 2012”, Brno
04/2012	seminář firmy Labicom “Nové trendy v oblasti přípravy vzorků a měřicí analytické techniky”, Brno
02/2012	seminář firmy Sigma Aldrich ve spolupráci s Ústavem chemie a analýzy potravin VŠCHT Praha “Čisté životní prostředí jako podmínka pro produkci zdravých potravin: Moderní postupy pro jejich kontrolu”, Praha
11/2011	seminář firmy Waters “VIZE 2011”, Brno

Konference

12/2014	The 15 th European Meeting on Environmental Chemistry, Brno
12/2013	studentská odborná konference Chemie je život 2013, Brno
09–10/2013	17 th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, Istanbul (Turecko)
10/2012	7 th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment and 13 th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides, Porto (Portugalsko)
05/2012	Konference Pitná voda 2012, Tábor
09/2011	5 th Meeting on Chemistry and Life, Brno

Projekty

FCH-S-15-2869	Posouzení vstupu nových kontaminantů do složek životního prostředí (specifický výzkum, standardní jednoletý projekt, člen týmu)
FCH/FSI-J-15-2896	Využití moderních statistických metod pro hodnocení úrovně kontaminace životního prostředí (specifický výzkum, juniorský jednoletý projekt, člen týmu)
FCH-S-14-2487	Hodnocení znečištění životního prostředí metodami environmentální analýzy a ekotoxikologie (specifický výzkum, standardní jednoletý projekt, člen týmu)
FCH/FSI-J-14-2439	Posouzení kontaminace životního prostředí vybranými polutanty a jejich zhodnocení moderními statistickými metodami (specifický výzkum, juniorský jednoletý projekt, člen týmu)
FCH-S-13-2087	Zatížení ekosystémů prioritními polutanty a možnosti jejich eliminace (specifický výzkum, standardní jednoletý projekt, člen týmu)

- FCH/FSI-J-13-2081 Aplikace moderních statistických metod pro hodnocení kontaminace životního prostředí (specifický výzkum, juniorský jednoletý projekt, navrhovatel)
- FCH-S-12-4 Posouzení úrovně kontaminace vodního a terestrického ekosystému (specifický výzkum, standardní jednoletý projekt, člen týmu)
- 2335/2012, G4 Zavedení nových úloh do Praktika z environmentální analýzy – Stanovení nových xenobiotik v biotické matici (FRVŠ, juniorský jednoletý projekt, navrhovatel)

Publikační činnost

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ, Josef ČÁSLAVSKÝ, Jaroslav MEGA a Zdeněk ŠIMEK. Assessment of drinking water treatment technologies to remove estrogens. *Journal of Environmental Protection and Ecology*. 2015 (v recenzním řízení).

ŠKARKOVÁ, Pavlína, Helena ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, Jan HOLEŠOVSKÝ, Milada VÁVROVÁ, Jaroslav MICHÁLEK a Zuzana OLEJNÍČKOVÁ. Application of statistical methods for ecotoxicological data evaluation. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2015, vol. 24, issue 5.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Jan HOLEŠOVSKÝ, Milada VÁVROVÁ a Jaroslav MICHÁLEK. Zhodnocení kontaminace ryb z řeky Svratky methylrtutí. In: *Zajištění kvality analytických výsledků, sborník přednášek ze semináře, 24.-26.3. 2015 na Žermanické přehradě. Žermanická přehrada, 2015, s. 147-148. ISBN 978-80-86380-75-9.*

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Petr DZIK, Milada VÁVROVÁ a Michal VESELÝ. Photocatalytic oxidation of estriol. In: *Book of Abstracts, The 15th Meeting on Environmental Chemistry, Brno, Czech Republic, December 3-6, 2014. Brno, 2014, s. 72-72. ISBN: 978-80-214-5073-8.*

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Jan HOLEŠOVSKÝ, Milada VÁVROVÁ, Zuzana KRÁLOVÁ a Jaroslav MICHÁLEK. Methylmercury in tissues of fish from the Svratka River, the Czech Republic. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2014, vol. 23, issue 12b, s. 3319-3324.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ a Ludmila MRAVCOVÁ. Simultaneous Determination of Estrogens in Wastewater Using Liquid Chromatography with Mass Detection. In: *Studentská odborná konference Chemie je život 2013: Sborník příspěvků. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013, s. 323-325. ISBN 978-80-214-4823-0.*

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ a Ludmila MRAVCOVÁ. Simultaneous Determination of Estrogens in Wastewater Using Liquid Chromatography with Mass Detection. In: *Studentská odborná konference Chemie je život 2013: Sborník abstraktů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013, s. 91-91. ISBN 978-80-214-4822-3.*

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ a Zuzana KRÁLOVÁ. Determination of methylmercury in fish tissues. In: *17th International Symposium on Environmental Pollution*

and its Impact on Life in the Mediterranean Region: Abstract Book. Istanbul, 2013, s. 265-265.

ČÁSLAVSKÝ, Josef, Martina REMEROVÁ, Zuzana OLEJNÍČKOVÁ a Milada VÁVROVÁ. Hormones in drinking water. In: *17th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region: Abstract Book*. Istanbul, 2013, s. 264-264.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ, Ludmila MRAVCOVÁ a Lenka JURASOVÁ. Stanovení vybraných hormonálních látek v odpadní vodě kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí. In: *Analýza organických látek v životním prostředí: Sborník přednášek ze semináře*. Komorní Lhotka, 2012, s. 426-432. ISBN: 978-80-86380-65-0.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Milada VÁVROVÁ, Jaroslav MEGA, Josef ČÁSLAVSKÝ a Zdeněk ŠIMEK. Hormones in water: determination using liquid chromatography with mass detection and removal by water treatment technologies. In: *Book of Abstracts: 7th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment and 13th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides*. Porto, 2012, s. 265-266. ISBN: 978-989-20-3263-4.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana. Elimination of residues of estrogens during drinking water treatment. *SOVAK*. 2012, vol. 21, issue 1, s. 25–25.

OLEJNÍČKOVÁ, Zuzana, Jaroslav MEGA a Zdeněk ŠIMEK. Elimination of residues of estrogens during drinking water treatment. In: *Chemické listy: Proceedings of the 5th Meeting on Chemistry and Life*. 2011, vol. 105 (S), s. 977–977.