



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STANOVENÍ BETABLOKÁTORŮ V ODPADNÍCH VODÁCH

DETERMINATION OF BETA-BLOCKERS IN WASTEWATER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Dominika Csabová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

BRNO 2016



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0975/2015	Akademický rok: 2015/2016
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Dominika Csabová	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Stanovení betablokátorů v odpadních vodách

Zadání bakalářské práce:

Zpracování literární rešerše

Provedení výběru léčiv, jejichž koncentrace bude sledována v odpadních vodách.

Výběr vhodné metody pro stanovení, její optimalizace a aplikace na reálné vzorky odpadních vod.

Interpretace získaných výsledků.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Dominika Csabová
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou léčiv v životním prostředí. Stanovovaná skupina léčiv, β -blokátory jsou značně rozšířená a klinicky důležitá léčiva používaná k léčbě kardiovaskulárních onemocnění, jakými jsou hypertenze, arytmie a angina pectoris. Tato skupina léčiv byla zvolena z důvodu již prokázané toxicity těchto látek na vodní organismy. Sledovanou matricí byla odpadní voda z ČOV Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně. Tato práce je kromě toho zaměřena na optimalizaci analytické metody pro identifikaci a kvantifikaci cílových analytů této skupiny léčiv. Pro izolaci analytů ze vzorků odpadní vody byla použita metoda extrakce tuhou fází (SPE), pro finální analýzu metoda ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) s UV-VIS detekcí pomocí diodového pole (DAD). Cílovými analyty byly metoprolol a propranolol.

ABSTRACT

The thesis discusses the issue of pharmaceuticals in the environment. Beta – blockers are clinically important drugs which are highly used to treat cardio-vascular diseases such as hypertension, arrhythmia and angina pectoris. This group of drugs was chosen because of their already proven toxicity on aquatic organisms. The matrix examined was a wastewater from a wastewater treatment plant of a University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno. The thesis focuses on an optimization of an analytical method for the identification and quantification of analytes in this group of drugs. A solid- phase extraction (SPE) was used for the isolation of analytes in a wastewater sample. A method of ultra - high performance liquid chromatography (UHPLC) with the UV-VIS detection using a diode array detector (DAD) was used for the final analysis. Target analytes were metoprolol and propranolol.

KLÍČOVÁ SLOVA

betablokátory, metoprolol, propranolol, odpadní voda, extrakce tuhou fází, ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie

KEY WORDS

betablockers, metoprolol, propranolol, waste water, solid phase extraction, ultra-high performance liquid chromatography

CSABOVÁ, D. *Stanovení betablokátorů v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 30 s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za cenné rady a odborné vedení. Dále chci také poděkovat své rodině a přítelovi za podporu při psaní této práce.

OBSAH

1	Úvod	7
2	Odpadní vody	8
2.1	Definice odpadních vod	8
2.2	Složení odpadních vod	8
2.2.1	Anorganické látky v odpadních vodách	8
2.2.2	Organické látky v odpadních vodách	9
3	Léčiva	11
3.1	Definice léčiv	11
3.2	Historie léčiv	11
3.3	Klasifikace léčiv	12
4	Sympatolytika	13
4.1	Přímo působící sympatolytika	13
4.1.1	Neselektivní α -sympatolytika	13
4.1.2	Selektivní α_1 sympatolytika	13
4.1.3	Selektivní α_2 sympatolytika	14
4.1.4	Neselektivní β sympatolytika	14
4.1.5	Selektivní β_1 sympatolytika	14
4.1.6	Selektivní β_2 sympatolytika	15
4.1.7	Sympatolytika s kombinovanými účinky	15
4.2	Nepřímo působící sympatolytika	15
5	Metody stanovení léčiv ve vodách	16
5.1	Odběr vzorku	16
5.2	Extrakce	17
5.2.1	Extrakce kapalinou	17
5.2.2	Extrakce plynem	17
5.2.3	Extrakce tuhou fází	17
5.3	Analýza	19
5.3.1	Chromatografie	19
6	Experimentální část	22
6.1	Použité přístroje a vybavení	22
6.2	Použité chemikálie	22
6.3	Sledovaná matrice	22

6.4	Postup stanovení	22
6.4.1	Odběr vzorků	22
6.4.2	Filtrace vzorků	22
6.4.3	Extrakce	23
6.4.4	Samotná analýza	23
7	Výsledky a diskuze	25
7.1	Optimalizace SPE	25
7.2	Optimalizace pH složek mobilní fáze	25
7.3	Kalibrační křivky	25
7.4	Limit detekce a limit kvantifikace	26
7.5	Reálné vzorky	27
7.6	Posouzení účinnosti ČOV	27
8	Závěr	28
9	Použitá literatura	29

1 ÚVOD

Vzhledem k tomu, že celosvětová produkce a spotřeba léčiv neustále stoupá, začala se léčiva dostávat do všech složek životního prostředí. Jejich přítomnost je zjišťována v půdě a zejména ve vodním prostředí, kde dosahují koncentrací v rozmezí μg - mg/l vody. Protože není možné omezit obchod s léčivy, je nutné zamezit jejich neuváženému předepisování a s tím souvisejícímu nekontrolovatelnému uvolňování do životního prostředí. Proto je důležité nejen vodu čistit, ale i sledovat účinnost tohoto procesu při odstraňování léčiv a dalších polutantů přítomných ve vodě.

Mezi často používané medikamenty patří beta-blokátory, které jsou jednou z hlavních indikačních skupin léků v kardiologii. U této skupiny léčiv byly prokázány toxické účinky na vodní organismy. Z těchto poznatků jednoznačně vyplývá, že je zapotřebí sledovat obsah této skupiny léčiv v odpadních vodách a je nezbytné stále hledat rychlé, cenově dostupné a dostatečně citlivé analytické metody pro jejich stanovení.

Tato práce je zaměřena na optimalizaci metody ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) s UV-VIS detekcí pomocí diodového pole (DAD) pro identifikaci a kvantifikaci cílových analytů z téhle skupiny léčiv – metoprololu a propranololu.

2 ODPADNÍ VODY

2.1 Definice odpadních vod

Odpadní vody jsou vody použité v obytných, průmyslových, zemědělských, zdravotnických a jiných stavbách, zařízeních nebo dopravních prostředcích, pokud mají po použití změněnou jakost (složení nebo teplotu), jakož i jiné vody z těchto staveb, zařízení nebo dopravních prostředků odtékající, pokud mohou ohrozit jakost povrchových nebo podzemních vod. Odpadní vody jsou i průsakové vody z odkališť, s výjimkou vod, které jsou zpětně využívány pro vlastní potřebu organizace, a vod, které odtékají do vod důlních, a dále jsou odpadními vodami průsakové vody ze skládek odpadu[1].

Rozdělení odpadních vod:

- splaškové
- městské
- průmyslové
- zemědělské
- dešťové

Splaškové a městské odpadní vody (splašky) jsou odpadní vody z domácností a sociálních zařízení, závodů (kuchyní, záchodů, umývárén), které neobsahují odpadní vody průmyslové. Pokud není v daném městě žádný průmysl, jsou městské odpadní vody pouze vodami splaškovými [2].

Průmyslové odpadní vody vznikají průmyslovou činností, při získávání anorganických a organických surovin a při jejich průmyslovém zpracování. Liší se charakterem znečištění, chemickým složením a fyzikálními vlastnostmi. Jejich složení a množství závisí na charakteru výroby a systému vodního hospodářství jednotlivého podniku. Do této kategorie patří i zemědělské odpadní vody (odpadní vody z rostlinné a živočišné výroby) [2,3].

Atmosférická (srážková) voda vzniká v ovzduší z vodních par při poklesu teploty pod rosný bod. Může být v kapalném (déšť, rosa, mlha) nebo tuhém skupenství (sníh, led, jinovatka, náledí). **Dešťové odpadní vody** jsou vody z atmosférických srážek odváděné stokovou sítí.

2.2 Složení odpadních vod

2.2.1 Anorganické látky v odpadních vodách

Anorganické látky jsou obsaženy v odpadní vodě v rozpuštěné formě, obvykle se stanoví jako obsah iontů a solí v jejím zdroji. Přítomnost většiny těchto látek není důležitá, pokud nepřesáhnou koncentraci 10 g/l. Současný trend čištění odpadních vod je zaměřen na snížení obsahu dusíku, solí fosforu a těžkých kovů. Zvýšený obsah dusíku a fosforu ve vodách může mít za následek eutrofizaci (růst řas, sinic, apod.).

2.2.1.1 Fosfor (P)

Fosfor se vyskytuje v metabolitech především ve formě fosfátové (fosforečnany), vylučovaných močí. Menší část fosforu je vázána do organických sloučenin, z nichž největší význam mají nukleové kyseliny – ribonukleová a deoxyribonukleová, obsažené ve všech živých organizmech (v buněčných jádrech). Specifická produkce fosforu je však podstatně

vyšší než odpovídá metabolickým produktům, neboť značný jejich podíl je obsažen zejména v polyfosfátech, které bývají součástí pracích prostředků.

2.2.1.2 Dusík (N)

Dusík je v odpadních vodách přítomen jak ve formě organických sloučenin, tak i v anorganických formách (amoniakové, dusitanové a dusičnanové).

2.2.1.3 Nerozpuštěné látky (NL)

Vyjadřují obsah pevných látek v odpadní vodě, obvykle se dělí na usaditelné a neusaditelné [4].

2.2.2 Organické látky v odpadních vodách

Organické látky ve vodách mohou být původu buď přírodního, nebo antropogenního.

Mezi **přírodní organické znečištění** lze zařadit výluhy z půdy a sedimentů (půdní a rašelinný humus, výluhy z listů a tlejícího dřeva) a produkty životní činnosti rostlinných a živočišných organismů a bakterií. Jde o látky většinou biogenního původu, především o huminové látky.

Organické **látky antropogenního původu** pocházejí ze splaškových a průmyslových odpadních vod, z odpadů ze zemědělství, ze skládek a mohou vznikat i při úpravě vody chlorací. Některé organické látky mohou být jak přírodního, tak i antropogenního původu, a proto v těchto případech nelze považovat jejich přítomnost za jednoznačný průkaz znečištění přírodních vod odpady z průmyslu, měst nebo zemědělství (např. některé alifatické a aromatické uhlovodíky nemusí být vždy ropného původu; v malých koncentracích mohou vznikat v eutrofizovaných vodách biologickými pochody v planktonních a benthických mikroorganismech a jsou produktem metabolismu některých bakterií, plísní i rostlin).

Pro stanovení veškerých organických látek ve vodě se používá:

- a) stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK) dichromanem nebo manganistanem draselným
- b) stanovení organického uhlíku (TOC, DOC)
- c) stanovení biochemické spotřeby kyslíku (BSK)

Mezi organické látky vyskytující se ve vodách a mající zvláštní hygienický význam patří:

- **Uhlovodíky**

Hlavním zdrojem uhlovodíků jsou produkty získávané z ropy: benziny, petrolej, motorová nafta. Při styku uhlovodíků s vodou může docházet k jejich rozpouštění, těkání, emulgaci, sorpci na tuhých fázích, fotooxidaci a biochemickému rozkladu. Uhlovodíky ve vodách zhoršují jejich organoleptické vlastnosti¹, mohou působit toxicky na vodní organismy a povrchové filmy omezují přístup vzdušného kyslíku do vody, čímž je nepřímo ovlivněna samočistící schopnost.

- **Organické halogenderiváty**

I když se obecně hovoří o organických halogenderivátech, jedná se převážně o chlorderiváty. Jsou to látky většinou značně toxické, z nichž některé mají potenciálně karcinogenní a

¹ Vlastnosti, které jsou zjistitelné smyslovými orgány (teplota, barva, zákal, pach a chuť)

mutagenní účinky. Jedná se především o alifatické a aromatické polychlorované deriváty (PCB, trihalogenmethany, dibenzofurany, chlorované pesticidy aj.). Vzhledem ke své kumulační schopnosti a chemické a biologické stabilitě se mohou hromadit v prostředí, zejména v sedimentech, biomase a půdě.

- **Fenoly a polyfenoly**

Fenoly patří mezi hlavní komponenty znečištění odpadních vod z tepelného zpracování uhlí. Protože jednosytné fenoly mohou být příčinou organoleptických závad při chloraci vody, odlišují se analyticky od vícesytných. Pro správnou interpretaci výsledků sumárního stanovení fenolů je však nutné odlišit jednotlivé deriváty instrumentální analýzou.

- **Huminové látky**

Jsou běžnou součástí přírodních vod. Ve vodách jsou chemicky i biochemicky stabilní. Projevují se barvou, kyselostí a kompletační schopností. Z ekotoxikologického hlediska nejsou sice závadné, ovlivňují však do značné míry organoleptické vlastnosti vody (barvu).

- **Tenzidy a detergenty**

V současné době tenzidy nepatří mezi významné kontaminanty odpadních vod (s výjimkou odpadních vod z výroby detergentů). Současným problémem je tvorba biologicky rezistentních a event. toxických meziproduktů biodegradace některých typů tenzidů. Problém s detergenty spočívá ve složení aktivačních přísad. Preferuje se náhrada polyfosforečnanů zeolity, případně křemičitany.

- **Pesticidy**

Pesticidy přicházejí v úvahu jako možné kontaminanty především povrchových vod. Jejich výskyt je většinou sezónní. Problémem jsou především organochlorové pesticidy, které jsou značně chemicky i biochemicky stabilní a mohou proto kontaminovat prostředí po velmi dlouhou dobu.

- **Komplexotvorné látky**

Mohou do značné míry měnit jak chemické tak i biologické vlastnosti vody. Škodlivě mohou působit především látky, které jsou biologicky rezistentní. [5].

- **Léčiva**

Distribuce farmak do životního prostředí se poněkud liší v porovnání s tradičními polutanty. Primárním zdrojem odpadních léčiv a jejich metabolitů jsou pacienti nebo např. ženy užívající hormonální antikoncepci. Aktivní látky jsou po užití léku z těla vylučovány buď v nezměněné podobě, nebo ve formě jejich metabolitů prostřednictvím výkalů a moči a odcházejí díky splaškům až na čistírny odpadních vod (ČOV). Zde však nejsou některé z nich dostatečně zachycovány a přecházejí tak dále do recipientů², kde následně mohou působit na říční biocenózu³ a také se transportovat do dalších částí ekosystému. Za další významný zdroj jsou považovány léky s proslou trvanlivostí, které se do koloběhu dostávají buď formou průsaků ze skládek, nebo díky spláchnutí do odpadu. Mezi menší zdroje lze zařadit např. stabilizovaný kal z ČOV, farmaceutická výrobní zařízení a další [6].

² Vodní útvar, do něhož vyúsťují povrchové vody nebo znečištěné odpadní vody

³ Soubor populací všech druhů rostlin, živočichů, hub a mikroorganismů, které žijí v určitém biotopu; existují mezi nimi určité vztahy

3 LÉČIVA

3.1 Definice léčiv

Léčivá látka je účinná složka léčivého přípravku (léčiva). Pojem **léčivo** jasně definuje legislativa České republiky, konkrétně zákon č. 378/2007 Sb. Podle něj je léčivem (farmakem):

- a) látka nebo kombinace látek prezentovaná s tím, že má léčebné nebo preventivní vlastnosti v případě onemocnění lidí nebo zvířat, nebo
- b) látka nebo kombinace látek, kterou lze použít u lidí nebo podat lidem, nebo použít u zvířat nebo podat zvířatům, a to buď za účelem obnovy, úpravy nebo ovlivnění fyziologických funkcí prostřednictvím farmakologického, imunologického nebo metabolického účinku, nebo za účelem stanovení lékařské diagnózy [7].

Léková forma představuje způsob úpravy léčiva do formy vhodné pro léčebné použití. Léková forma musí být přizpůsobena požadované cestě podání léčiva do organismu a musí respektovat jeho fyzikálně-chemické vlastnosti [8].

3.2 Historie léčiv

V průběhu několika tisíciletí, v tzv. etapě přírodních léčiv, bylo empiricky, metodou pokus-omyl, nashromážděno obrovské množství poznatků o účincích různých přírodních látek na lidský organismus. Jednalo se přitom nejen o účinky léčivé. Bylo objeveno i psychotropní působení různých materiálů, jako omamné účinky opia, psychostimulační účinky listů koky aj. Léčiva vzniklá v této etapě se často označují jako **léčiva první generace**. Paracelsus předpokládal, že látky chemického původu jsou jako léčiva rovnocenné látkám přírodním. Zdůrazňoval význam pozorování a experimentu. Formuloval vztah mezi dávkou a toxicitou („nevratnost účinku činí z látky jed“). Svým učením položil základy iatrochemie⁴, předchůdkyně farmaceutické chemie. Iatrochemici zavedli do léčebné praxe používání anorganických látek, především jednoduchých sloučenin kovů (oxidů, sulfidů, solí). Pokrok, ke kterému došlo v oblasti experimentální chemie na přelomu 18. a 19. století, umožnil izolaci mnoha organických látek obsažených v přírodním materiálu. Jednou z největších osobností uvedeného období byl Scheele, který získal v čistém stavu např. glycerol, kyselinu benzoovou, jablečnou, vinnou a močovou. Velkým přínosem pro rozvoj farmaceutické chemie byla izolace alkaloidu morfinu z opia, kterou provedl roku 1803 Sertürner.

Průmyslově se začalo izolovat antimalarikum a antipyretikum chinin z kůry chininovníku. Objevila se první organická léčiva, pro jejichž struktury neexistuje v přírodě obdoba - inhalační anestetika diethylether a chloroform, sedativum a hypnotikum chloralhydrát, antipyretikum a analgetikum acetanilid - antifebrin a mnohé další. Chemická léčiva z období iatrochemie a z období extenzivního rozvoje organické chemie v 19. století se označují jako **léčiva druhé generace**. Znalosti o biologické aktivitě těchto látek byly získávány empiricky, často vlivem náhody. Za významný mezník ve vývoji chemických léčiv je považována Knorrova syntéza antipyretika fenazonu. Význam této Knorrovy syntézy nespočíval ani tolik

⁴ Z řeckého iatros = lékař

v antipyrinu samém, nýbrž spíše v přístupu k hledání nových léčiv. Představa, že stejnou nebo podobnou biologickou účinnost mohou mít i analoga matečné sloučeniny, znamenala počátek skutečného farmaceutického výzkumu. Látky, které vznikly cílenou obměnou struktury sloučenin přírodního nebo syntetického původu o známém biologickém účinku, se považují za **léčiva třetí generace**. Rozvoj biochemie ve 20. století významně ovlivnil i vývoj léčiv. Vznikl nový vědní obor zvaný farmakologie, který se zabývá vzájemnými interakcemi léčiva a organismu. Farmaka, jejichž struktura byla navržena s využitím korelačních vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou sloučenin, se označují jako **léčiva čtvrté generace**. V posledních letech se objevil zcela nový přístup k vyhledávání látek s biologickou aktivitou. Jde o kombinatoriální chemii, kterou se připravují tzv. chemické knihovny. Tato metodika umožňuje provést neobyčejně rychle a s relativně nízkými náklady syntézu a základní screening biologické aktivity stovek až desítek tisíc sloučenin. Farmaka vzniklá s využitím kombinatoriální chemie lze plným právem považovat za **další generaci léčiv**. Poslední desetiletí rovněž významně ovlivnila farmaceutickou výrobu. V zájmu ochrany spotřebitele (pacienta) uzákonily všechny vyspělé státy závazná pravidla pro farmaceutickou výrobu, nazývané správná výrobní praxe (SVP). Cílem uvedených opatření je minimalizace rizika, že by se v důsledku selhání lidského faktoru nebo jinou nešťastnou souhrou okolností ve farmaceutické výrobě dostal na trh lék nevyhovující kvality, případně jinak nevhodný pro použití v humánní nebo veterinární medicíně [8].

3.3 Klasifikace léčiv

Každé léčivo je především chemickou látkou, takže má svůj chemický název. Užívá se však pouze výjimečně; pro použití v lékařské literatuře je nevhodný, neboť je obvykle velmi složitý a existuje v několika variantách. Základním názvem každého léčiva v daném jazyce je název generický. Je obvykle jednoslovný a vytváří se podle určitých pravidel. Generický název je obvykle podobný ve všech jazycích, ale nemusí tomu tak být vždy. Ve snaze sjednotit generické názvy vydává WHO pro každé léčivo tzv. mezinárodní nechráněný název (rINN – recommended International Nonproprietary Name). Tyto názvy jsou dnes celosvětově preferovány. Jsou stanovovány v latině, angličtině, francouzštině a španělštině. Generické a mezinárodní nechráněné názvy novějších léčiv obvykle obsahují informaci o terapeutické nebo chemické skupině, ke které daná látka náleží. Jsou vytvářeny tak, že obsahují společný morfém (tj. nejmenší seskupení hlásek), což může být předpona, kmen nebo – nejčastěji – přípona názvu. Název, pod kterým je léčivo uvedeno v lékopise, se nazývá lékopisný. Pro laickou veřejnost je nejvýznamnější výrobní název, který označuje konkrétní přípravek a je vlastnictvím výrobce. Většina léčiv je vyráběna několika různými výrobci, kteří používají názvy, ze kterých není možno odvodit, o jakou látku se jedná, což může způsobit nebezpečné komplikace. Nejsou výjimečné ani případy, kdy pacienti užívají jednu účinnou látku ve dvou, někdy i více přípravcích, což vede k předávkování a ohrožení jejich zdraví. Zvláště vysoké je toto riziko u volně prodejných léčiv [9,10]. V anatomicko-terapeuticko-chemickém (ATC) klasifikačním systému jsou látky rozděleny do různých skupin podle orgánu (orgánového systému), který ovlivňují a terapeutických, farmakologických a chemických vlastností [11].

4 SYMPATOLYTIKA

Sympatolytika (SL, adrenergní⁵ blokátory) jsou farmaka, která blokují adrenergní reakce. Jsou to nejen látky působící na adrenergní receptory přímo, ale i látky působící nepřímo, tj. ovlivněním dějů v nervovém zakončení. Sympatolytika rozdělujeme podle toho, zda přednostně blokují alfa- nebo beta- receptory. SL se často používají k léčbě závažných onemocnění, např. hypertenze.

4.1 Přímo působící sympatolytika

4.1.1 Neselektivní α -sympatolytika

Blokují α_1 i α_2 receptory.

Používané látky: **nicergolin, dihydroergocristin dihydroergotoxin, phentolamin tolazolin, dihydroergotamin,**

4.1.2 Selektivní α_1 sympatolytika

Tyto blokátory snižují krevní tlak snížením periferní rezistence. Selektivně blokují α_1 receptory. Nezpůsobují výrazné reflexní zvýšení srdeční frekvence. Používají se u:

- hypertenze a srdečního selhání
- obstrukci močových cest
- benigní hyperplazie⁶ prostaty

Závažným nežádoucím účinkem je synkopa⁷ se ztrátou vědomí a dále závratě, bolesti hlavy, únava, ospalost, průjem aj.

Používané látky: **prazosin, terazosin, metazoon, urapidil, indoramin, alfuzosin a doxazosin.**

⁵ týkající se noradrenalinu

⁶ zvětšení orgánu či jeho části v důsledku zvýšení počtu jeho buněk

⁷ krátkodobá ztráta vědomí, která je způsobena nedostatkem okysličené krve v mozku

4.1.3 Selektivní α_2 sympatolytika

Jedinou používanou látkou z této skupiny je **yohimbin**, působí selektivně na α_2 receptory a zvyšuje výdej noradrenalinu z nervového zakončení. Dochází k tachykardii a zvýšení krevního tlaku. Použití u:

- poruch erekce
- inkontinenci

4.1.4 Neselektivní β sympatolytika

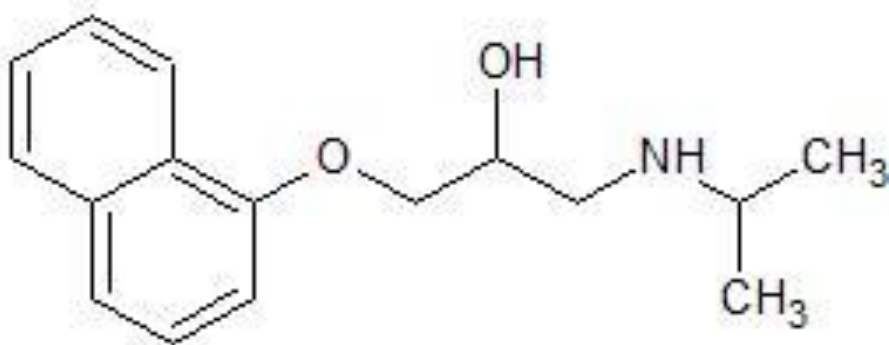
a) bez VSA:

Převážně používány ke snížení nitroočního tlaku při arytmiích. Do této skupiny patří například **propranolol**, který je nejstarším používaným β -blokátorem.

b) s VSA:

Zvyšují srdeční frekvenci v klidu, no snižují srdeční frekvenci při námaze. Jsou to např. **oxoprenolol**, **alprenolol** aj.

4.1.4.1 Propranolol



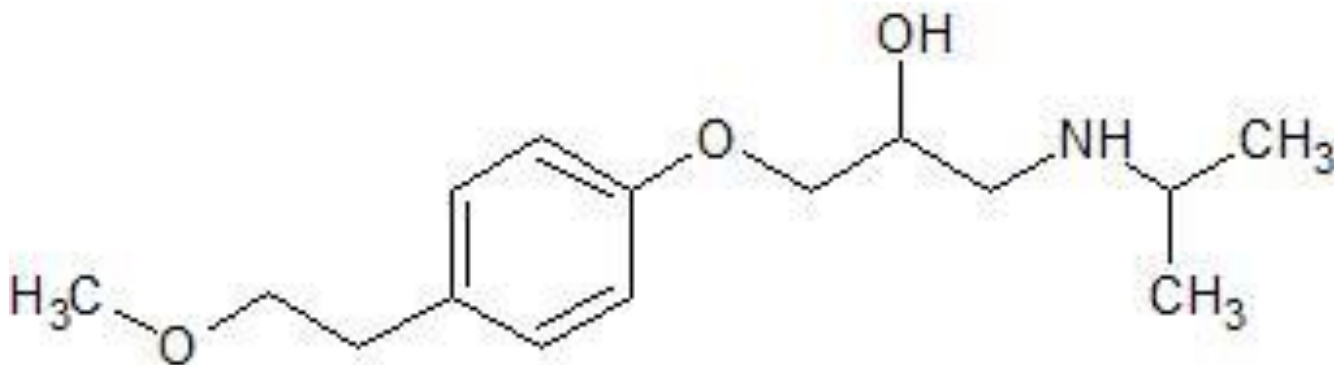
Obrázek 1: Strukturní vzorec propranololu

4.1.5 Selektivní β_1 sympatolytika

Jsou kardioselektivní látky, které mají méně nežádoucích účinků než látky neselektivní. Jsou vhodné k terapii anginy pectoris a hypertenze. Dělíme je podle toho, zda mají nebo nemají vnitřní sympatomimetickou aktivitu (VSA):

- a) bez VSA – **atenolol**, **bisoprolol**, **metoprolol**, **betaxolol**, **esmolol**, **talinolol**
b) s VSA – **acebutol**, **celiprolol**

4.1.5.1 Metoprolol



Obrázek 2: Strukturní vzorec metoprololu

4.1.6 Selektivní β_2 sympatolytika

Butoxamin a jemu podobné látky mají zatím význam pouze experimentální.

4.1.7 Sympatolytika s kombinovanými účinky

Labetalol blokuje reflexní tachykardii, jeho isomer **dilevalol** má výhodné hypotenzivní účinky. **Karvedilol** má blokující účinek jak na β_1 a α_1 tak i na vápníkové kanály.

4.2 Nepřímo působící sympatolytika

Do této skupiny lze řadit tři skupiny farmak:

a) Falešné prekurzory

Jsou látky, které organismus využije jako substrát k syntéze neplnohodnotného neurotransmiteru. Typickým příkladem je alfa-metyldopa.

b) Látky vedoucí k depleci katecholaminů

Hlavním představitelem této skupiny je reserpin, který velmi snadno proniká do nervových zakončení a do CNS. Blokuje příjem noradrenalinu do zásobních vezikul a následně snižuje, až vyčerpává jeho obsah v těchto skladujících útvarech. Patří mezi antihypertenziva a neuroleptika.

c) Látky blokující uvolňování katecholaminů z nervových zakončení

Tlumí uvolňování neurotransmiterů z nervových zakončení, blokují také příjem noradrenalinu do nervového zakončení a mají i slabý lokálně anestetický účinek. K těmto látkám řadíme guanetidin, guanadrel a bretylium [12].

5 METODY STANOVENÍ LÉČIV VE VODÁCH

Obecný postup přípravy vzorku před vlastní analýzou zahrnuje tyto kroky:

- Odběr vzorků
- Extrakce
- Analýza

5.1 Odběr vzorku

Vlastnímu rozboru vody předchází odběr vzorku zkoumané vody a i doprava tohoto vzorku do laboratoře. Analyzovaný vzorek musí reprezentovat jakost vody v místě, v bodu i době odběru vzorku. Chyby vzniklé nesprávným odběrem vzorku nebo nesprávným skladováním odebraného vzorku po dobu jeho uchování před započítáním analýzy, nelze již obvykle napravit. Druh vzorku, místo, bod a druh odběru včetně časové a prostorové návaznosti odběrů a způsob (metodika nebo technologie) odběru se řídí účelem rozboru. Ukazatele jakosti vody, které se mohou během dopravy vzorku do laboratoře změnit a které nelze uchovat beze změny, je nutno stanovit ihned na místě odběru. Ukazatele jakosti vody, které lze konzervovat, se konzervují ihned na místě po odběru vzorku. Při každém odběru vzorku je nutno vyplnit průvodní list (protokol) se záznamem o podmínkách a způsobu odběru vzorku.

Místo odběru vyznačuje lokalitu odběru (název obce, úpravny vody, čistírny odpadních vod) a podrobnější určení (např. přítok, odtok vody, pravý nebo levý břeh vodního toku).

Bod odběru přesně určuje prostor ve vodním útvaru, odkud je vzorek odebírán (např. hloubka x metrů).

Prostý vzorek je jednorázově a nahodile odebraný vzorek z vodního útvaru v časové závislosti.

Směsný vzorek jsou dva nebo více vzorků smíšených ve vhodných známých poměrech poskytujících požadovaný výsledek veličiny.

Množství vzorku se řídí rozsahem rozboru a určí se z množství vzorku, požadovaného pro stanovení jednotlivých složek rozboru. Při výpočtu množství vzorku je nutné vždy počítat s rezervou vzorku pro případné opakování některého stanovení.

Vzorek se odebírá do skleněných nebo plastových lahví – vzorkovnic. Běžně užívané **vzorkovnice** jsou reagenční skleněné lahve, vyrobené z běžného sodno-vápenato-křemičitého obalového skla. Druh a počet vzorkovnic musí odpovídat požadavkům na rozbor. Vzorkovnice musí být řádně označeny, aby nebylo možné vzorky zaměnit.

Vzorek se odebírá buď přímo do vzorkovnice, nebo s použitím vzorkovačů. **Vzorkovače** jsou přístroje a zařízení, která umožňují jednorázově nebo opakovaně odebrat vzorek buď z místa obsluhy nepřístupného (hlubinné vzorkovače), nebo bez přítomnosti obsluhy (automatické vzorkovače).

Doba, která uplyne mezi odběrem a rozbořem vzorku by měla být co nejkratší. Nejlepší shody výsledků rozboru a jakosti odebrané vody můžeme očekávat u vzorků vod, analyzovaných bezprostředně po odběru. Konzervaci vzorku se rozumí uchování stejných

hodnot ukazatelů vzorku vody od doby odběru až po začátek rozboru. Způsob **konzervace** závisí na složce, která je konzervována i na analytické metodě, kterou bude složka stanovována [13].

5.2 Extrakce

Je to separační (dělicí) proces, při kterém jsou v kontaktu dvě vzájemně nemísitelné fáze. Analyty se rozdělují mezi tyto fáze na základě různé rozpustnosti (rozdílných rozdělovacích koeficientů) v použitých rozpouštědlech. Čím větší je rozdíl mezi rozdělovacími koeficienty látek, tím dokonalejší je jejich oddělení. Cílem extrakce je selektivní až specifické oddělení analytu od ostatních složek vzorku nebo naopak oddělení rušících složek od analytu.

Pro stanovení specifických organických látek ve vodě se prakticky výlučně jako analytické koncovky používají chromatografické metody. I když chromatografické techniky vynikají v současné době vysokou citlivostí, jejich citlivost nepostačuje k tomu, abychom mohli analyzovat přímo vzorek vody na úrovni tak nízkých koncentrací, které jsou požadovány. Proto je nutné nejdříve cílové látky z vody izolovat. Podle fyzikálně-chemických vlastností látek volíme jeden z níže uvedených postupů. Důležité je, aby izolační metoda poskytovala vysoký koncentrační faktor a pokud možno současně i dostatečně vysoký výtěžek celého izolačního postupu [13].

5.2.1 Extrakce kapalinou

Extrakce kapalinou je proces, při kterém se odpadní voda, ze které je třeba oddělit určitou složku, uvede do intenzivního styku se vhodným rozpouštědlem (extrakčním činidlem). Podmínkou úspěšného průběhu je to, že separovaná složka je podstatně lépe rozpustná v přidaném extrakčním činidle, než v odpadní vodě. Při styku zpracovávané kapaliny s extrakčním činidlem dochází k přestupu extrahované látky přes fázové rozhraní, které se vytváří v důsledku omezené mísitelnosti obou kapalin. Rychlost přestupu se urychluje intenzivním mícháním. Výsledkem kontaktu je vznik dvou fází, extraktu a rafinátu, ve kterých je zastoupení oddělované složky jiné než před jejich smícháním. Extrakt vzniká z přidaného rozpouštědla a oddělovaná složka je zde zakonzentrována, rafinát tvoří původní kapalina a oddělovaná složka má nižší koncentraci než před extrakcí. Oddělení extraktu od rafinátu se uskutečňuje na základě rozdílných hustot obou fází. Pro polárnější látky je však pro dosažení dobrého výtěžku nutná několikanásobná extrakce. Zde je ovšem nutné spojené extrakty zahustit (zpravidla odpařením rozpouštědla), aby se dosáhlo vyššího koncentračního faktoru celého postupu. Odpaření rozpouštědla však v sobě skrývá nebezpečí ztráty těkavějších látek a zahuštění nečistot z rozpouštědla [2, 13].

5.2.2 Extrakce plynem

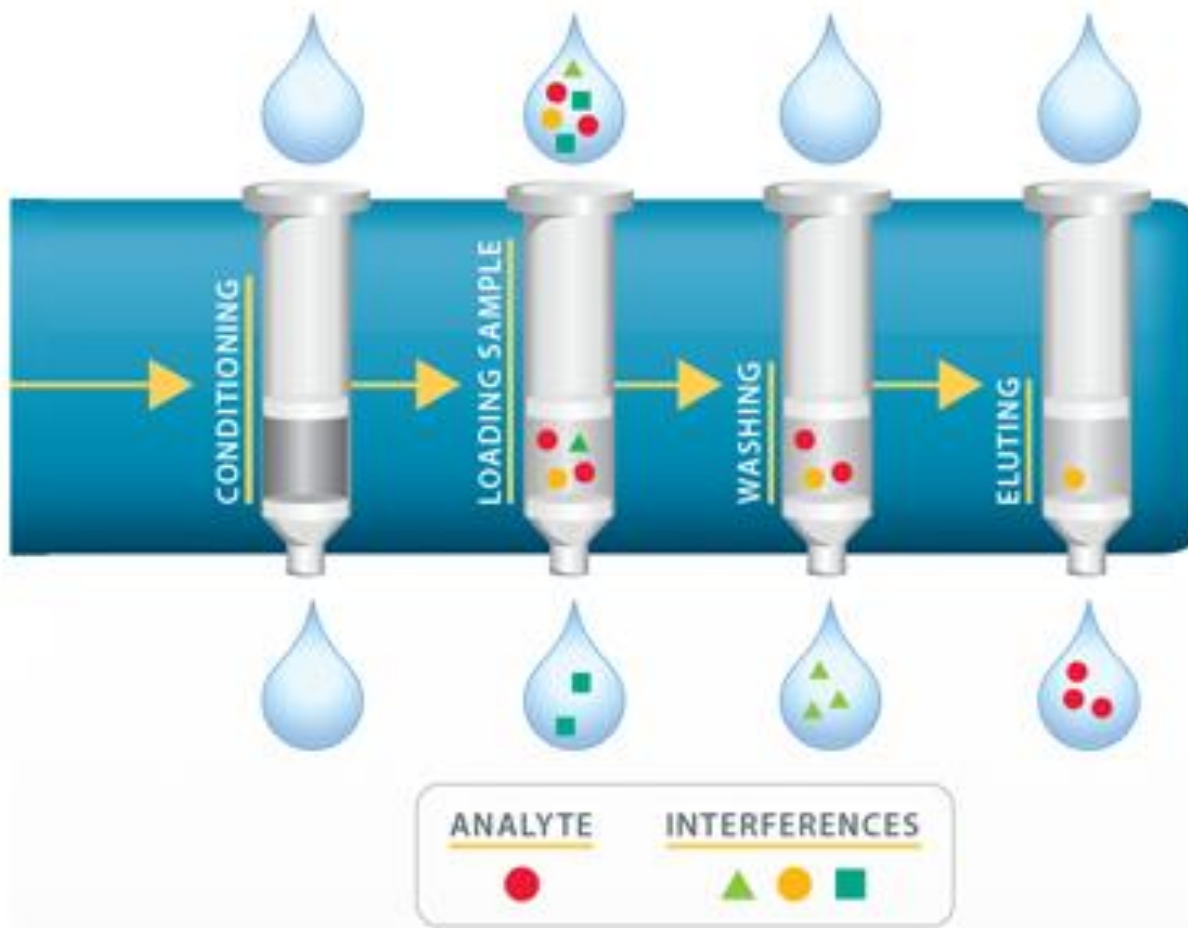
Medium, do kterého v tomto případě přestupují organické látky z vody, je plyn.

5.2.3 Extrakce tuhou fází

V tomto případě jsou analyzované látky zachycovány přímo ze vzorku vody na vhodném sorbentu. Sorbent je pak vysušen a látky jsou z jeho povrchu uvolněny vhodným organickým rozpouštědlem. Tento roztok je podroben chromatografické analýze.

Proces extrakce tuhou fází se skládá z následujících kroků:

- **Aktivace sorbentu** – solvatace organickým rozpouštědlem
- **Aplikace vzorku** – během průtoku vzorku kolonou je analyt z větší části zachycen na sorbentu a tím oddělen od matrice vzorku
- **Promytí sorbentu** – zde dochází k odstranění interferujících složek z povrchu sorbentu promytím malým množstvím vody, případně pufru
- **Eluce analytu** – analyt je desorbován vhodným rozpouštědlem.



Obrázek 3: Schéma SPE [18]

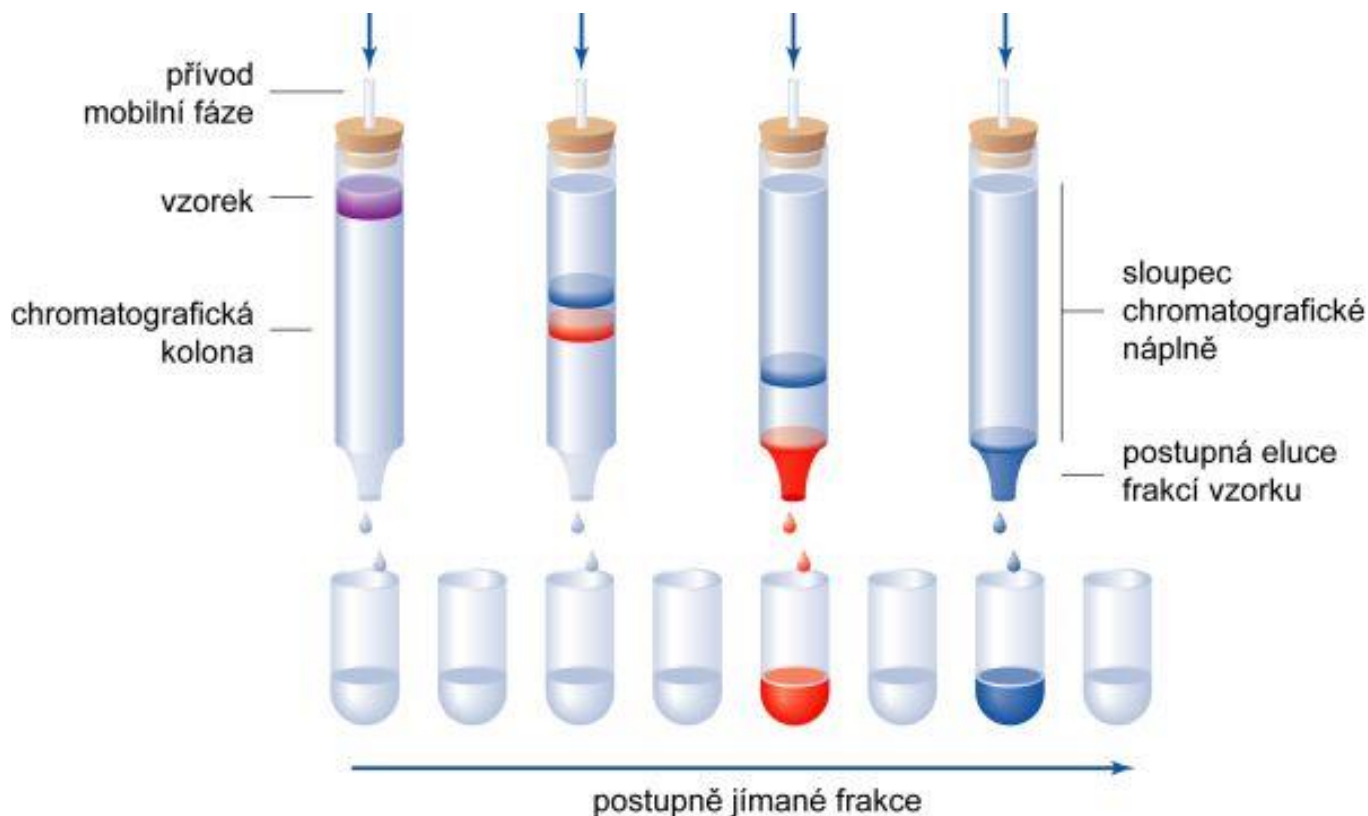
5.3 Analýza

5.3.1 Chromatografie

Separací proces, který je založený na rozdílné afinitě dělených látek ke stacionární (nepohyblivé) a mobilní fázi. Mobilní fáze unáší vzorek prostorem, ve kterém dochází k separaci, stacionární fáze představuje nepohybující se náplň separačního prostoru. Při průchodu vzorku separačním prostorem dochází k jeho opakované interakci se stacionární fází. Komponenty vzorku jsou touto interakcí selektivně bržděny ve svém pohybu, míra brždění je úměrná vazebné síle této interakce. Distribuci vzorku X mezi mobilní a stacionární fází můžeme popsat distribučním poměrem D , případně distribuční konstantou K_D .

$$K_D = \frac{[X]_s}{[X]_m}$$

S rostoucí hodnotou K_D bude látka více zadržována stacionární fází, bude se pomaleji pohybovat separačním prostorem a později tento prostor opustí. Komponenty vzorku s různými rychlostmi budou od sebe oddělovány, komponenty se shodnými K_D nebudou rozděleny.



Obrázek 4: Schéma chromatografie [14]

Podle typu pohyblivé fáze lze chromatografické metody rozdělit na:

- **Kapalinovou chromatografii (LC)** - mobilní fází je kapalina
- **Plynovou chromatografii (GC)** - mobilní fází je plyn
- **Chromatografii s nadkritickou mobilní fází (SFC)** - mobilní fází je tekutina v nadkritickém stavu. [15]

5.3.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

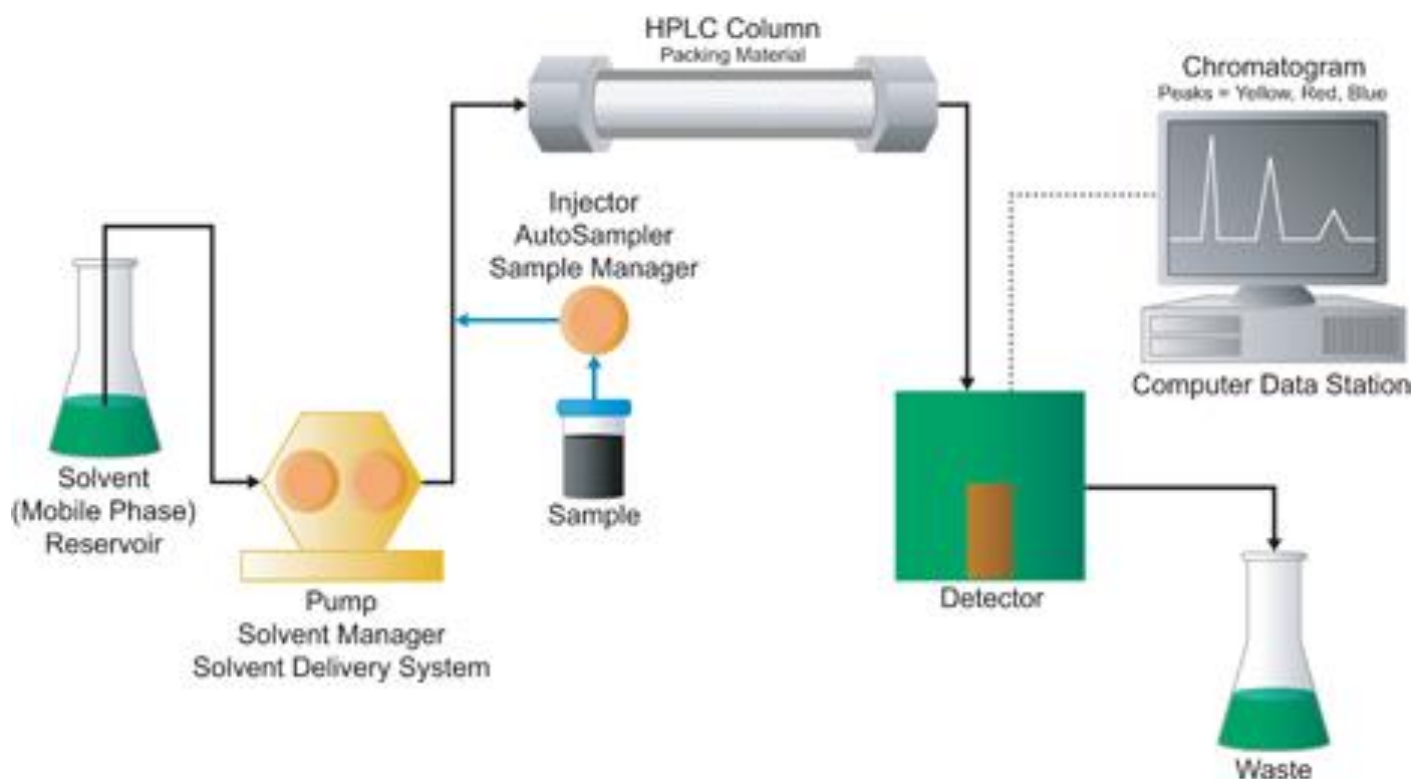
Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je instrumentální technika, využívající kolon s náplní tvořenou malými částicemi sférického tvaru (průměr částic je dnes 5 μm , 3 μm i méně) s úzkou distribucí velikostí. Tyto kolony jsou vysoce účinné, avšak kladou vysoký odpor průtoku mobilní fáze, a proto se musí využívat vysokotlakých čerpadel schopných dodávat na kolonu konstantní tok mobilní fáze bez tlakových pulsů v rozsahu průtoků nejčastěji od desítek $\mu\text{l/min}$ do jednotek ml/min . Eluát opouštějící kolonu pak protéká měrnou celou detektorem, kde je kontinuálně sledována nějaká jeho vlastnost a převáděna na elektrický signál zpracovatelný pomocí počítače, který registruje tzv. chromatogram – časovou závislost odezvy detektoru. Na chromatogramu jsou píky – zóny separovaných látek – charakterizované retenčním časem (doba od nástřiku vzorku po maximum daného píku), který slouží k identifikaci dané látky, a plochou nebo výškou píku, která je využívána ke kvantifikaci.

V ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografii (UHPLC, Ultra-High Performance Chromatography) je velikost používaných částic obvykle v rozmezí od 1,5 do 2 μm . Kolony mají délku 50 až 150 mm a vnitřní průměr většinou 2,1 mm. Uspořádání UHPLC pístroje je velice podobné uspořádání HPLC. Rozdíl je pouze v tom, že v případě UHPLC se nepoužívá předkolona, ale pouze filtr před kolonou (in-line filter). Převod metody HPLC na UHPLC je poměrně jednoduchý, lze si přepočítat průtok mobilní fáze, velikost nástřiku a dobu analýzy

Separační proces u kapalinové chromatografie může být ovlivněn výběrem stacionární fáze, parametry kolony, složením mobilní fáze (typ rozpouštědla, izokratická nebo gradientová eluce), průtokem a teplotou. [16]

Kapalinový chromatograf se skládá z těchto částí:

- zařízení pro uchovávání a transport mobilní fáze (vysokotlaké čerpadlo)
- zařízení pro dávkování vzorku
- zařízení pro separaci látek (chromatografická kolona, termostat kolony)
- zařízení pro detekci látek popř. sběrač frakcí



Obrázek 5: Schéma HPLC [17]

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité přístroje a vybavení

- zařízení pro přípravu milli-Q vody Milli-Q® Academic, Millipore, Francie
- pH metr inoLab® 730, WTW Series, WTW, Německo
- SPE extraktor Baker, model spe - 12G, s vakuovou pumpou Barmany, Co., USA
- SPE kolonky:
 - Supel™-Select HLB (200 mg) SPE Tube, Sigma-Aldrich, Německo
 - J.T. Baker® (500mg), VWR, USA
- přístroj EVATERM pro sušení vzorků proudem dusíku, LABICOM, Česká Republika
- kapalinový chromatograf Agilent 1 290 Infinity, Agilent, USA
- stříkačkové filtry LUT Syringe Filters, PTFE, 4mm, 0,45μm, orange, Labicom, Česká republika
- stříkačkové filtry LUT Syringe Filters, PTFE, 4mm, 0,22μm, purple, Labicom, Česká republika
- běžné laboratorní vybavení

6.2 Použité chemikálie

- Metoprolol tartrát, čistota ≥ 98 %, Sigma-Aldrich, Německo
- Propranolol hydrochlorid, čistota ≥ 99 %, Sigma-Aldrich, Německo
- Deionizovaná voda upravená přístrojem Milli-Q®
- Methanol HPLC Gradient Grade, čistota $\geq 99,8$ %, J. T. Baker®, Nizozemsko
- Acetonitril Gradient Grade for HPLC, čistota $\geq 99,9$ %, Sigma-Aldrich, Německo
- Dihydrogenfosforenan draselný, čistota $\geq 99,5$ %, Fluka, Sigma-Aldrich, Německo
- Kyselina chlorovodíková ONEX CHEMIE, s.r.o., Česká republika

6.3 Sledovaná matrice

Analyzovanou matricí byla odpadní voda odebraná z čistírny odpadních vod situované v areálu Veterinární a farmaceutické univerzity Brno. Za účelem porovnání účinnosti čistírny odpadních vod byly vzorky odebírány na přítoku i na odtoku ČOV.

6.4 Postup stanovení

6.4.1 Odběr vzorků

Odpadní voda z ČOV z areálu VFU Brno má poněkud jiný charakter než ostatní vody z komunálních ČOV. Odpadní voda má na čistírně krátkou dobu zdržení a upravené odpadní vody jsou z čistírny vypouštěny do stokové sítě města Brna. Vzorek byl odebírán v jednodenních intervalech na přítoku a na odtoku z ČOV (25.4.2016 – 29.4.2016). Vzorky byly odebírány personálem čistírny a přelévány do tmavých skleněných vzorkovnic, které byly transportovány, pokud to bylo možné, byly ihned zpracovány, případně uskladněny při teplotě 5°C v lednici a následně zpracovány, a to nejdéle do 24 hodin od zahájení odběru.

6.4.2 Filtrace vzorků

Odebraný vzorek odpadní vody zpravidla obsahuje drobné nerozpustné částice, které je zapotřebí odstranit. Pro separaci pevných nečistot se používá klasická filtrace. Filtruje se buď přes celulózové filtry, nebo přes speciální filtry ze skelných vláken, a to s průměrem pórů 0,45 nebo 0,75 μm za použití vodní vývěvy.

6.4.3 Extrakce

Okamžitě po přefiltrování vzorků přes kruhové papírové filtry byla provedena extrakce tuhou fází (SPE). Kolonky byly nejdříve aktivovány methanolem a Milli-Q vodou. Následně byl na kolonku kvantitativně nanesen vzorek. Objem odpadní vody pro analýzu byl 100 ml. Potom byl sorbent promyt Milli-Q vodou a sušen proudem vzduchu 15 minut. Následovala eluce methanolem; eluát byl jímán do 12 ml vialek a potom odpařen pod proudem dusíku. Odparek ve vialce byl rozpuštěn v 1 ml methanolu a přefiltrován přes stříkačkové filtry LUT Syringe do 1,8 ml vialek. Optimalizovaný postup SPE je uveden v tabulce č. 1.

Tabulka 1: Použitý postup SPE

Aktivace sorbentu	6 ml methanolu, 4 ml Milli-Q vody
Nanesení vzorku	100 ml odpadní vody z ČOV
Promytí	3 ml Milli-Q vody
Sušení	proudem vzduchu 15-20 min
Eluce	2 × 4 ml methanolu

6.4.4 Finální analýza

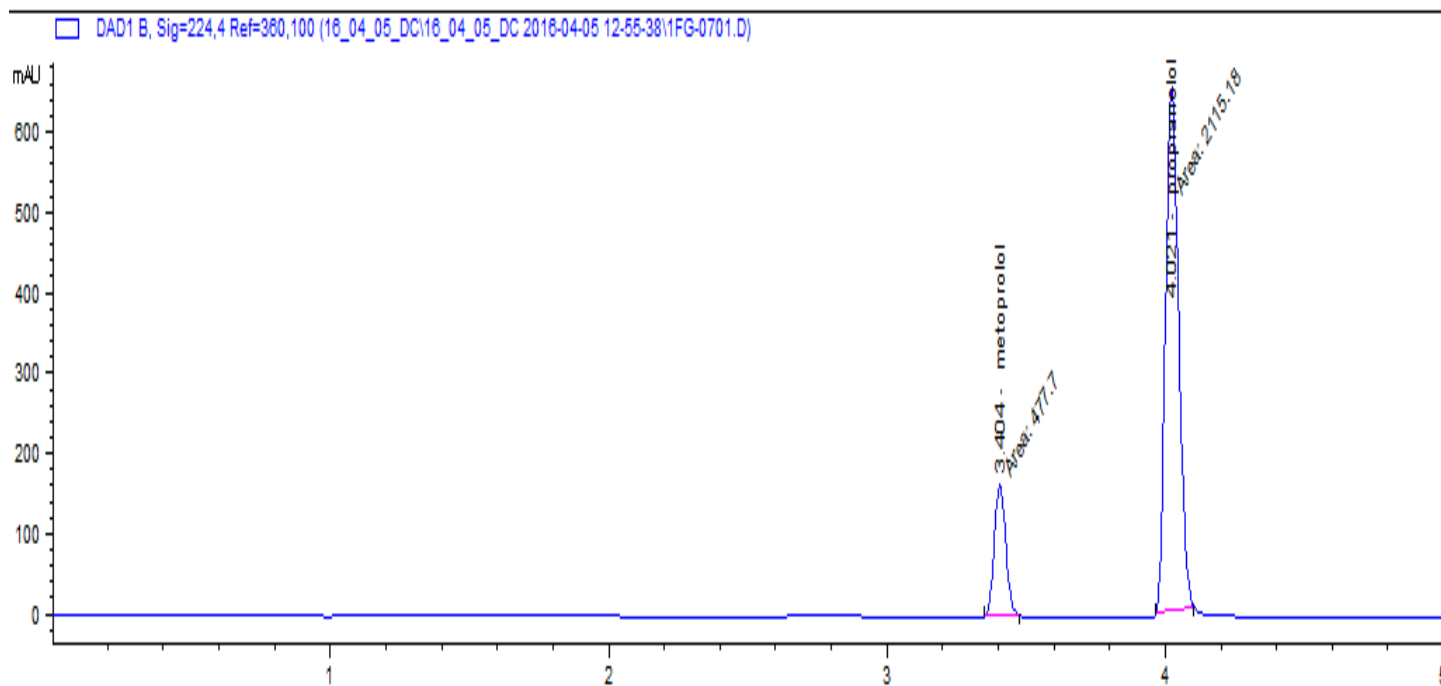
Finální analýza stanovovaných látek byla provedena na kapalinovém chromatografu (UHPLC) Agilent 1290 Infinity. K samotné separaci docházelo na koloně Zorbax SB C18 od firmy Agilent. Analyty byly potom detekovány ultra-účinnou kapalinovou chromatografií se specifickým UV/VIS detektorem s diodovým polem (DAD). Optimální chromatografické podmínky jsou uvedeny v tabulce.

Tabulka 2: Optimální chromatografické podmínky

Nástřik	2 µl
Teplota kolony	35 °C
Mobilní fáze	10 mM KH ₂ PO ₄ pufr (pH=3) + acetonitril
Průtok mobilní fáze	0,3 ml/min
Typ eluce	gradientová (tabulka č. 3)
Vlnová délka	224 nm

Tabulka 3: Gradient mobilní fáze

Čas [min]	Acetonitril [%]	KH ₂ PO ₄ pufr [%]
0	8	92
1,2	8	92
1,9	27	73
2	27	73
3	40	60
4	40	60
5	60	40
7	60	40



Obrázek 6: Ukázka chromatogramu standardů při zvoleném gradientu

Kvalitativní charakteristikou sledovaných analytů je retenční čas a kvantitativní charakteristikou plocha píku po integraci. Analyty byly kvantifikovány metodou externí kalibrace, tj. využitím vícebodové kalibrační křivky sestrojené zvlášť pro každý analyt.

Tabulka 4: Retenční časy sledovaných analytů

	Retenční čas [min]
Metoprolol	3,404
Propranolol	4,021

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Optimalizace SPE

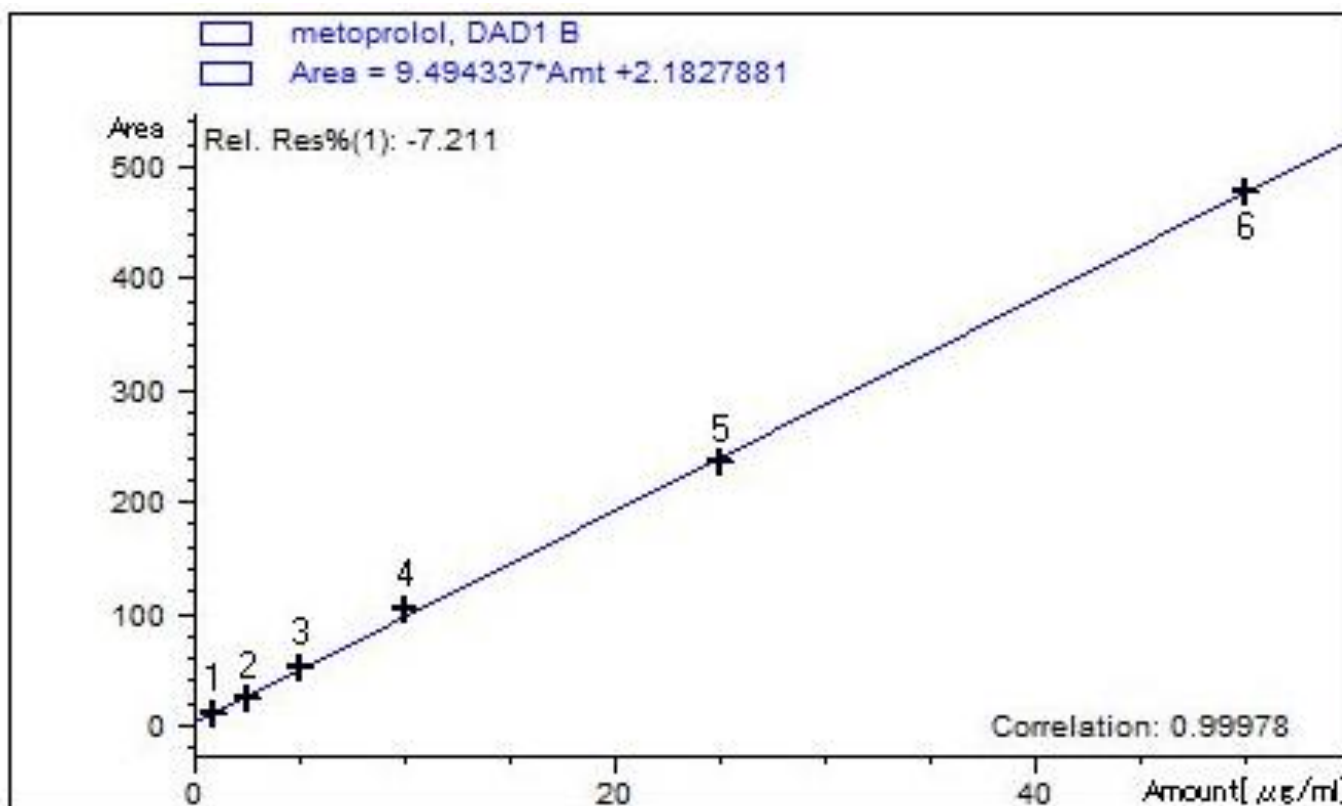
Součástí optimalizace extrakce tuhou fází byl výběr vhodných SPE kolonek. Testovány byly kolonky Supel Select™ HLB (200 mg) od firmy Sigma-Aldrich – výtěžnost 70% a J.T. Baker® (500mg) – výtěžnost 45%. Na základě porovnání výtěžnosti byly dále používány kolonky Supel Select™ HLB.

7.2 Optimalizace pH složek mobilní fáze

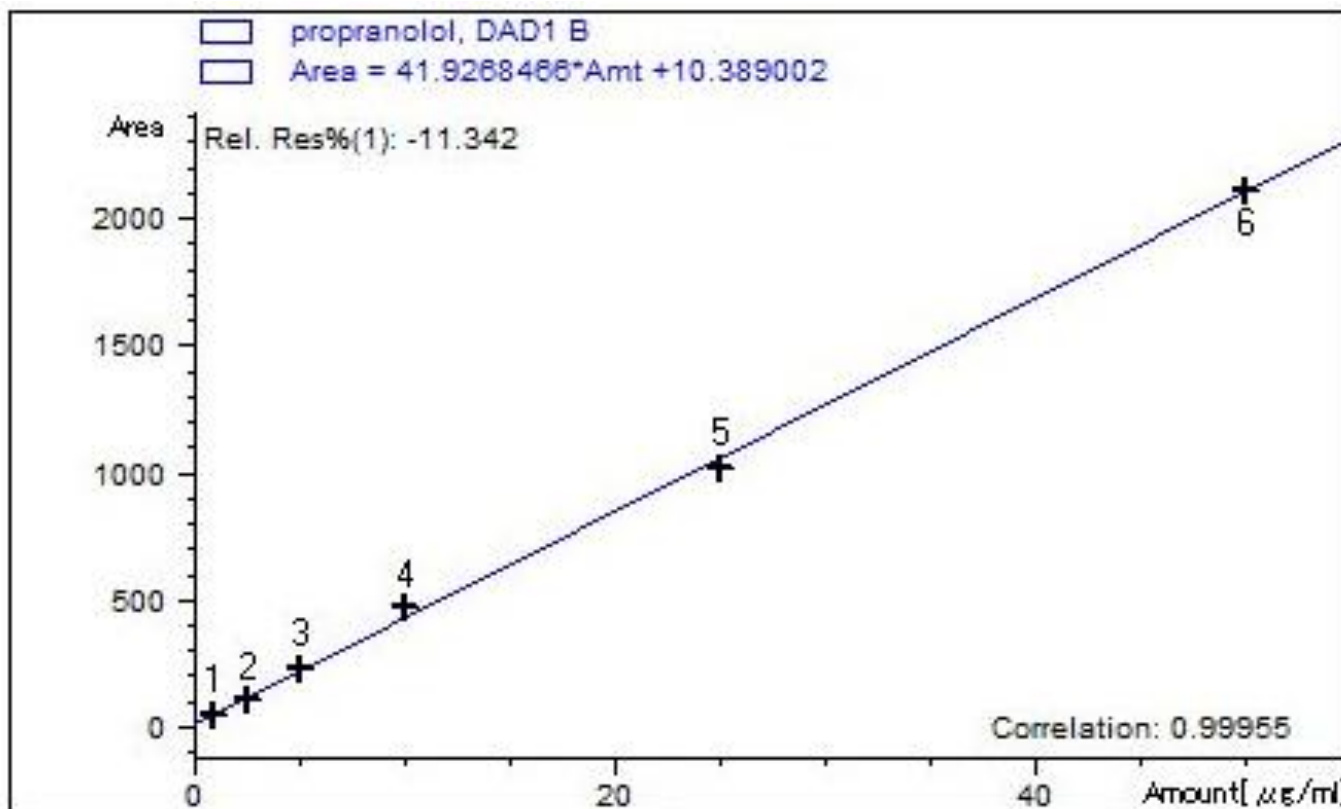
Jako vodní složka mobilní fáze byl používán fosfátový pufr. Při použití mobilní fáze s vodní složkou o pH 4,5 docházelo k značnému rozmývání píků. Po úpravě pH pufru na 3 k rozmývání nedocházelo, a proto byla pro celou analýzu zvolena mobilní fáze s vodní složkou o pH 3.

7.3 Kalibrační křivky

Pro kvantifikaci sledovaných analytů v reálných vzorcích odpadní vody byla použita metoda externí kalibrace; za tím účelem bylo zapotřebí sestavit kalibrační křivky, a to jako závislosti plochy píku sledovaného analytu na jeho koncentraci. Pro jejich sestavení bylo připraveno šest směsných roztoků o koncentracích 1; 2,5; 5; 10; 25 a 50 µg/ml, které byly měřeny při vlnové délce 224 nm. Sestrojené kalibrační křivky jsou zobrazeny na obrázcích.



Obrázek 7: Kalibrační křivka metoprololu



Obrázek 8: Kalibrační křivka propranololu

7.4 Limit detekce a limit kvantifikace

Limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ) metody byly vypočítány zvlášť pro každý analyt pomocí rovnic (1) a (2). Při výběru těchto vztahů pro výpočet LOD a LOQ se vycházelo z literatury [19]. Z nejnižšího bodu kalibrace, tj. při koncentraci c byla odečtena výška signálu sledovaných β -blokátorů, což představuje hodnotu S . Ze šumu základní linie bylo náhodně vybráno patnáct píků reprezentujících šum a odečtena výška jejich píků. Průměrná hodnota výšek píků šumu pak představuje N . V tabulce jsou uvedeny vypočítány hodnoty LOD a LOQ pro jednotlivé β -blokátory.

$$LOD = 3 \cdot \left(\frac{c}{\frac{S}{N}} \right)$$

$$LOQ = 10 \cdot \left(\frac{c}{\frac{S}{N}} \right)$$

Tabulka 5: Hodnoty LOD a LOQ

	LOD [$\mu\text{l/l}$]	LOQ [$\mu\text{l/l}$]
metoprolol	0,0756	0,2517
propranolol	0,0494	0,1794

7.5 Reálné vzorky

Celý pracovní postup stanovení, zahrnující odběr vzorků, extrakci tuhou fází a finální analýzu pomocí UHPLC, byl úspěšně aplikován pro analýzu odpadní vody. Vzorky odpadní vody byly analyzovány paralelně dvakrát a prezentované naměřené hodnoty jsou průměrem z těchto dvou hodnot. Zjištěné koncentrace sledovaných β -blokátorů ve vzorcích odpadní vody prezentuje tabulka.

Tabulka 6: Naměřené koncentrace sledovaných látek v odpadní vodě

den	přítok/odtok	koncentrace [$\mu\text{g/l}$]	
		metoprolol	propranolol
25.4	přítok	5,217	1,022
	odtok	<LOD	<LOD
26.4	přítok	1,031	0,4606
	odtok	<LOQ	<LOD
27.4	přítok	1,012	0,3416
	odtok	<LOQ	<LOD
28.4	přítok	3,030	<LOQ
	odtok	<LOQ	<LOQ
29.4	přítok	1,530	0,2172
	odtok	<LOQ	<LOQ

7.6 Posouzení účinnosti ČOV

Za účelem posouzení účinnosti ČOV v areálu Veterinární a farmaceutické fakulty v Brně při odstraňování β -blokátorů z odpadních vod byla provedena analýza odpadní vody odebrané na přítoku i na odtoku. Koncentrace stanovovaných látek na odtoku byla ve všech případech menší než na přítoku, a lze jednoznačně konstatovat, že k odbourání sledovaných látek během procesu čištění dochází. Nutno si však uvědomit, že nízké koncentrace těchto léčiv jsou detekovatelné i ve vyčištěné odpadní vodě, odkud se mohou dostávat i do vod povrchových.

8 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce řeší problematiku stanovení léčiv v odpadní vodě. Toto téma je velmi aktuální, vzhledem ke stoupající spotřebě léčiv a jejich následnému negativnímu dopadu na životní prostředí. Vybranou skupinou léčiv pro tuto práci byli β -blokátory, a to konkrétně metoprolol a propranolol.

Vzorky odpadní vody byly odebrány z čistírny odpadních vod, situované v areálu Veterinární a farmaceutické fakulty v Brně, a to jak na přítoku, tak i na odtoku.

Pro stanovení vybraných léčiv byla vybrána metoda ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) s UV-VIS detekcí pomocí diodového pole (DAD). Pro izolaci a zakoncentrování analytů z vodní matrice byla použita metoda extrakce tuhou fází (SPE). Pro sledované analyty byly stanoveny meze detekce a kvantifikace.

Pomocí vybraného postupu byly vypočteny koncentrace sledovaných léčiv v řádech několika μg v jednom litru na přítoku. Koncentrace na odtoku byly nižší, přesto se i po procesu čištění léčiva v odpadní vodě nacházela.

Sledovanou matricí byla odpadní voda z ČOV Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně. Tato čistírna slouží pro předčištění a hygienizaci odpadních vod produkovaných v jednotlivých částech univerzity. Lze proto předpokládat, že při analýze odpadní vody z velkých čistíren, jejichž průtok odpovídá více než 5 000 ekvivalentních obyvatel, jakou je například ČOV Brno-Modřice, by mohla být koncentrace stanovovaných léčiv podstatně větší. [20]

Na závěr lze konstatovat, že tato práce poukazuje na důležitost čistírenských procesů aplikovaných v ČOV a jejich nezbytnou kontrolu, aby se co nejvíc zamezilo průniku těchto látek do povrchových vod a do životního prostředí, což by mohlo mít negativní dopad na vodní ekosystémy i na člověka.

9 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Zákon č. 254 /2001 Sb. o vodách a o změně některých zákonů: vodní zákon.
- [2] BINDZAR, Jan. 2009. *Základy úpravy a čištění vod*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 251 s. ISBN 978-80-7080-729-3.
- [3] Úprava a čištění vody: Multimediální učební texty zaměřené na problematiku úpravy a čištění vody. 2010. KUČEROVÁ, Radmila, Peter FEČKO a Barbora LYČKOVÁ. *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*[online]. [cit. 2015-05-6]. Dostupné z: http://homen.vsb.cz/hgf/546/Materialy/Radka_2010/index.html
- [4] GRODA B, Vítěz T, MACHALA M, *Čištění odpadních vod jako nástroj k ochraně životního prostředí v zemědělské praxi a na venkově*, MZE, 2007.
- [5] PITTER, Pavel. 2009. *Hydrochemie*. 4. aktualiz. vyd. Praha: VŠCHT. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [6] *Chemické listy*. 2009. Praha: VŠCHT. ISBN 1213-7103. ISSN 1213-7103. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_07_540-547.pdf
- [7] Zákon č. 378/2007 Sb. o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů.
- [8] HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. 2007. *Farmakochemie*. 2. rozš. vyd. Praha: VŠCHT, 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [9] HEGER, Jozef, Jozef KOLÁŘ a Vladimír ŠPRINGER. 2005. *Názvy liečiv a liekov a ich informačný potenciál*. 1. vyd. Martin: Osveta, 289 s. ISBN 80-806-3183-2.
- [10] ŠVIHOVEC, J. Několik poznámek k názvosloví léčiv. *Remedia*, 1994.
- [11] WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2013. Oslo, 2012.
- [12] HYNIE, Sixtus a . 2001. *Farmakologie v kostce*. Vyd. 2. Praha: Triton, 520 s. ISBN 80-725-4181-1.
- [13] HORÁKOVÁ, Marta. 2003. *Analytika vody*. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 335 s. ISBN 80-708-0520-X.
- [14] KODÍČEK, Milan. 2004. *Biochemické pojmy: výkladový slovník*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 171 s. ISBN 80-708-0551-X.
- [15] SOMMER, Lumír. 2000. *Základy analytické chemie II*. Vyd. 1. V Brně: Vutium, 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [16] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. Moderní HPLC separace v teorii a praxi. vyd. 1. Hradec Králové, Klatovy: Lucie Nováková, Michal Douša, 2013, 299 s. ISBN 978-80-260-4243-3.
- [17] How Does High Performance Liquid Chromatography Work? *Waters: The science of what's possible* [online]. 2016 [cit. 2016-03-13]. Dostupné z:

http://www.waters.com/waters/en_CZ/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?cid=10049055&locale=en_CZ

[18] Automated Solid Phase Extraction Cartridges. *John Morris Scientific: Service Plus Solutions*[online]. [cit. 2016-03-13]. Dostupné z: <http://www.johnmorris.com.au/Solid-Phase-Extraction-Automated/ASPEC-C18-50mg-1ml.aspx?pd=181238&CategoryID=1302>

[19] IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. The Gold Book [online]. Oxford. © 2014 [cit. 2016-04-29]. Dostupné z: <http://goldbook.iupac.org/>.

[20] Dohányos, M., J. Koller, a N. Strnadová, Čištění odpadních vod., Vydavatelství VŠCHT, 2007