

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

**Antibiotika ve vodách**

Lucie Vytlačilová

Bakalářská práce

2018

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie Vytlačilová**  
Osobní číslo: **C15026**  
Studijní program: **B2807 Chemické a procesní inženýrství**  
Studijní obor: **Ochrana životního prostředí**  
Název tématu: **Antibiotika ve vodách**  
Zadávací katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na výskyt antibiotik ve složkách životního prostředí, důraz kladte na výskyt antibiotik ve vodách. Uveďte, jaká rizika tyto látky ve složkách životního prostředí představují.
2. Zpracujte přehled dostupných postupů a metod, kterými je možné omezit množství antibiotik ve vodách. Možnost využití jednotlivých postupů a metod diskutujte.
3. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu" v platném znění.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Jiří Palarčík, Ph.D.**

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

**6. února 2018**

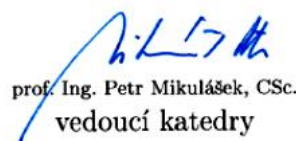
Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 6. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na mojí práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 ods. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 18. 6. 2018

Lucie Vytlačilová

Ráda bych poděkovala Ing. Jiřímu Palarčíkovi, Ph. D. za odborné vedení, ochotu, trpělivost a cenné připomínky při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu během studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou antibiotik ve složkách životního prostředí. První kapitola literární rešerše se věnuje rozdělení antibiotik, možným negativním vlivům při jejich průniku do povrchových i pitných vod. Druhá kapitola je věnována metodám, kterými lze antibiotika z vod analyzovat. Poslední část této práce se věnuje různým způsobům jejich odstranění ze složek životního prostředí, kde byl kladen důraz hlavně na odstraňování z vod. Jednotlivé metody jsou pak porovnávány pro nejčastěji se vyskytující antibiotika detekovaná v odpadních vodách.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Antibiotika, odpadní vody, odstranění antibiotik

## **TITLE**

Antibiotics in water

## **ANNOTATION**

This bachelor thesis deals with the problem of antibiotics in environmental compartments. The first chapter of the literary research deals with the distribution of antibiotics, possible negative effects on their penetration into surface and drinking water. The second chapter is devoted to the methods by which antibiotics can be analyzed from water. The last part of this work deals with various ways of their removal from the environmental compartments, where the emphasis was mainly on water removal. The individual methods are then compared for the most common antibiotics detected in waste water.

## **KEYWORDS**

Antibiotics, waste water, removal of antibiotics

## **OBSAH**

1	Úvod.....	11
2	Antibiotika .....	12
2.1	Dělení antibiotik.....	13
2.1.1	Podle původu .....	13
2.1.2	Podle biologického účinku.....	13
2.1.3	Podle chemické struktury.....	13
2.1.4	Podle intenzity účinku .....	14
2.1.5	Podle mechanismu účinku .....	14
2.2	Antibiotická rezistence.....	14
2.3	Antibiotika v životním prostředí .....	15
2.3.1	Výskyt antibiotik ve vodách .....	15
3	Analýza léčiv .....	19
3.1	Instrumentální analýza .....	20
3.1.1	Vysokoučinná kapalinová chromatografie .....	21
3.1.2	Ultra účinná kapalinová chromatografie.....	23
3.1.3	Plynová chromatografie.....	23
3.1.4	Chromatografie s hmotnostní spektrometrií .....	25
4	Možnosti odstranění antibiotik z životního prostředí .....	26
4.1	Chemické procesy .....	26
4.1.1	Fotodegradace .....	26
4.1.2	Oxidační procesy .....	27
4.2	Fyzikální procesy .....	30
4.2.1	Sorpce .....	30
4.2.2	Membránové procesy.....	31
4.3	Biologické procesy.....	32
4.3.1	Biodegradace .....	32

4.3.2	Fytoremediace.....	33
5	Konkrétní příklady studií odstraňování antibiotik.....	34
5.1	Tetracyklinová antibiotika.....	34
5.2	Chinolonová antibiotika.....	36
5.3	Sulfonamidová antibiotika.....	37
6	Diskuze k možnostem odstraňování antibiotik.....	40
7	Závěr.....	42
8	Literatura.....	43



## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Tabulka 1- Přehled oxidačních činidel používaných pro úpravu vody .....	27
Obrázek 1 - Grafické vyjádření spotřeby antibiotik v počtu balení vyjádřené jako procento z celkové spotřeby v ČR za rok 2008.....	16
Obrázek 2 - Schéma průniku léčiv do životního prostředí .....	18
Obrázek 3 - Obecné schéma analýzy vodných vzorků léčiv .....	19
Obrázek 4 - Schéma kapalinového chromatografu.....	21
Obrázek 5 - Schéma plynového chromatografu .....	24
Obrázek 6 – Chemická struktura tetracyklinu .....	34
Obrázek 7 – Chemická struktura ciprofloxacinu .....	36
Obrázek 8 - Základní chemická struktura sulfonamidů.....	38

## SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

AOP	Advanced oxidation processes; pokročilé oxidační procesy
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization; chemická ionizace za atmosférického tlaku
API	Atmospheric pressure ionization; ionizace za atmosférického tlaku
ASE	Accelerated solvent extraction; zrychlená extrakce kapalinou
BSK <sub>5</sub>	Biochemická spotřeba kyslíku během 5 dní
CAD	Corona charged aerosol detector; koronový nabitý aerosolový detektor
CNS	Centrální nervová soustava
ČOV	Čistírna odpadních vod
Da	Dalton
DDD/TID	Definovaná denní dávka na tisíc obyvatel a den
DNA	Deoxyribonucleic acid; deoxyribonukleová kyselina
ELSD	Evaporative light scattering detector; odpařovací detektor rozptylu světla
ESI	Electrospray ionization; ionizace elektrosprejem
GC	Gas chromatography; plynová chromatografie
GLC	Gas - liquid chromatography; plynová - kapalinová chromatografie
GSC	Gas sorption chromatography; plynová sorpční chromatografie
HLB	Hydrophilic - lipophilic balanced; hydrofilní - lipofilní vyváženost
HPLC	High - performance liquid chromatography; vysokoúčinná kapalinová chromatografie
CHSK	Chemická spotřeba kyslíku
LC	Liquid chromatography; kapalinová chromatografie
LLL	Liquid - liquid extraction; extrakce kapalina - kapalina
MS	Mass spectrometry; hmotnostní spektrometrie
PLE	Pressurized - liquid extraction; tlaková - kapalinová extrakce
SPE	Solid - phase extraction; extrakce na pevné fázi
t-RNA	Transfer ribonucleic acid; transferová ribonukleová kyselina
UHPLC	Ultra High - performance liquid chromatography; Vysoce účinná kapalinová chromatografie
UV	Ultraviolet; ultrafialová oblast záření

# 1 Úvod

Antibiotika patří mezi nejúčinnější léčiva při léčbě bakteriálních onemocnění. Používají se jak v humánní, tak i veterinární medicíně. Největším problémem je to, že jsou dnes často předepisována lékaři i na onemocnění, která se antibiotiky nevyлéčí. Jsou nadužívána a ve velkém množství používána veterináři pro hospodářská zvířata. Z těl jsou antibiotika vylučována téměř v nezměněné formě. Spolu s odpadními vodami se dostávají na čistírnu odpadních vod, kde nejsou běžnými čistírenskými procesy odstraněna. Dostávají se do životního prostředí, hlavně povrchových vod, kde mají negativní vliv na bakterie, které se podílejí na koloběhu živin i rozkladných procesů, a působí toxicky na vodní organismy. Přítomnost antibiotik v nízkých koncentracích po dlouhou dobu způsobuje vznik rezistentních bakterií, které způsobují nevyлéčitelné infekce a úmrtí mnoha lidí.

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární rešerši na výskyt antibiotik ve vodách. Popsat dostupné metody, kterými je lze analyzovat, i přesto, že se ve vodách vyskytují jen v malých koncentracích, a možnosti jejich odstranění. Porovnat účinnost fyzikálních chemických i biologických metod odstranění a jejich aplikaci na vybraná antibiotika v praxi.

## 2 Antibiotika

Antibiotika jsou zvláště důležitá při léčbě infekčních onemocnění a patří k nejúčinnějším skupinám léčiv proti chorobám vyvolaným různými mikroorganismy, jako jsou bakterie, houby nebo prvoci.<sup>1</sup>

První antibiotika byla přírodního původu, např. peniciliny produkované houbami rodu *Penicillium* nebo streptomycin z bakterií rodu *Streptomyces*. Dnes jich je stále více vyvíjeno polo-syntetickou nebo syntetickou cestou.<sup>2</sup> Jedná se o relativně malé molekuly s molekulovou hmotností nižší než  $2000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .<sup>3</sup>

Jiné výrazy, které se často pro jejich označení používají, jsou chemoterapeutika nebo antimikrobiální látky. Antimikrobiální činidla mohou být například účinná proti virům. Chemoterapeutika jsou sloučeniny, které zabíjejí konkrétní mikroorganismy nebo rakovinné buňky.<sup>4</sup> Tyto látky jsou schopné potlačovat růst nebo zcela zničit choroboplodné zárodky v makroorganismu, aniž by přitom způsobily vážnější poškození hostiteli. Antibiotika i chemoterapeutika mají několik společných vlastností:<sup>2</sup>

1. musí zastavit nebo usmrtit růst mikrobů;
2. jejich účinek musí být rychlý;
3. musí neutralizovat (rušit) toxiny mikrobů;
4. účinnost nesmí být snižována tělesnými tekutinami (hnis, krev);
5. musí pronikat i do buněk a ničit choroboplodné zárodky;
6. měly by přitahovat bílé krvinky;
7. mají urychlovat růst tkáně při hojivém procesu;
8. nesmí poškozovat živou tkáň;
9. nemají rušit účinky protilátek, které si organismus sám vytvoří;
10. ani ve velkých množstvích nesmí být jedovaté.

Kromě svých příznivých účinků mají antibiotika také nežádoucí účinky (toxicita, ovlivnění imunity, porucha ekologické rovnováhy, vznik rezistence).<sup>5</sup>

## 2.1 Dělení antibiotik

Antibiotika jsou dělena do mnoha skupin podle různých hledisek, např. podle původu, biologického účinku nebo podle mechanismu účinku. A protože jsou heterogenní skupinou látek s různými účinky na bakterie, dělí se do několika tříd podle chemické struktury.<sup>6</sup>

### 2.1.1 Podle původu

Z hlediska původu lze antibiotika rozdělit do skupin podle toho, kým nebo čím jsou produkována:<sup>6</sup>

- a) mikroorganismy (houby, mykobakterie);
- b) vyššími rostlinami, lišejníky a řasami;
- c) živočichy;
- d) synteticky.

### 2.1.2 Podle biologického účinku

Podle biologických účinků dělíme antibiotika na:<sup>6</sup>

- a) s protinádorovou aktivitou (kancerostatická, cytostatická);
- b) s antiinfekční aktivitou (antibakteriální, antitrypanosomální,...);
- c) s jinou aktivitou proti živým buňkám (herbicidní, insekticidní, akaricidní, nematocidní,...).

### 2.1.3 Podle chemické struktury

Existuje několik podskupin antibiotik podle jejich chemické struktury:<sup>7</sup>

- a) aminoglykosidy (streptomycin, neomycin,...) – molekuly nebo části molekul, které mají pozměněnou cukernou (glykosidovou) část aminem;
- b) amfenikoly (azidamfenikol, chloramfenikol,...) – širokospektrá antibiotika proti salmonelovým, meningokokovým nebo pneumokokovým infekcím;
- d) linkosamidy – používají se k léčbě infekcí měkkých tkání;
- e) sulfonamidy – obsahují sulfonamidovou skupinu –  $\text{SO}_2\text{-NH}_2$ ;
- f) tetracykliny – působí na většinu gramnegativních i gram pozitivních bakterií a další.

### 2.1.4 Podle intenzity účinku

Toto rozdělení není zcela přesné, protože některá bakteriostatická antibiotika působí při vyšších koncentracích i baktericidně a naopak baktericidní antibiotika neusmrcují některé bakterie ani při vysokých koncentracích.<sup>6</sup>

- a) bakteriostatická (makrolidy, tetracykliny, sulfonamidy,...);
- b) baktericidní (betalaktamová antibiotika, aminoglykosidy, chinolony,...).

### 2.1.5 Podle mechanismu účinku

Základním požadavkem při léčbě antibiotiky je optimální antimikrobiální účinek za minimálního poškození hostitele. Toho dosáhneme několika způsoby, podle jejich mechanismu účinků:<sup>6</sup>

- a) inhibice syntézy buněčné stěny (peniciliny, monobaktamy, karbapenemy,...);
- b) inhibice syntézy bílkovin (tetracykliny, makrolidy,...);
- c) inhibice syntézy nukleových kyselin (chinolony, sulfonamidy,...);
- d) porucha funkce cytoplazmatické membrány (azoly, polyeny, amfotericin B,...).

## 2.2 Antibiotická rezistence

Nejnovější Světové ekonomické fórum, které se zabývá nejnaléhavějšími problémy včetně ochrany zdraví a životního prostředí, uvádí odolnost bakterií vůči antibiotikům jako jednu z největších hrozeb pro lidské zdraví. Odhaduje se, že v Evropě každoročně umírá 25 000 lidí v důsledku infekcí způsobených bakteriemi, které jsou rezistentní vůči antibiotikům. Slovo antibiotikum se stalo synonymem pro antibakteriální drogu.<sup>8</sup> Téměř 80 % všech antibiotik používaných v humánní medicíně je předepisováno lékaři na běžné infekce, u kterých by došlo k vyléčení i bez použití antibiotik.<sup>9</sup>

Antibiotická rezistence je získaná schopnost patogenu odolat antibiotiku, které zabíjí jeho citlivější protějšky. Bakterie mohou být geneticky odolné vůči antibiotikům bez ohledu na předchozí kontakt s ním (primární rezistence), ale také mohou rezistenci získat mutací v chromozomálních genech, nebo získáním genu od jiné bakterie, která je již na dané antibiotikum rezistentní (sekundární rezistence).<sup>10</sup> Lze rozlišit i zkříženou rezistenci, která představuje rezistenci na léčiva, která jsou si podobná a sdruženou rezistenci, která vyjadřuje odolnost mikroorganismu na antibiotika chemicky odlišná.<sup>11</sup>

Mezi mechanismy antibiotické rezistence patří: změna cílového místa (beta-laktamy, makrolidy, linkosamidy), eflux antibiotika (aminoglykosidy, tetracykliny, chinolony), snížení

permeability vnější membrány (aminoglykosidy, tetracykliny), enzymatické modifikace a degradace antibiotika (aminoglykosidy, beta-laktamy) a metabolický bypass (sulfonamidy, trimethoprim).<sup>12</sup> Jednotlivé mechanismy se vzájemně kombinují a doplňují. Jsou kódovány genomem bakterie. V bakteriálních buňkách je DNA centrální kruhová a v plasmidech. Plazmidy mají schopnost přecházet mezi bakteriálními buňkami a snadno tak předávat geny rezistence.<sup>13</sup>

Kontrolovat antibioticky rezistentní bakterie a následné infekce vyžaduje obezřetné a odpovědné užívání antibiotik. Je nutné zabránit zbytečně dlouhému léčení antibiotiky a zlepšit předepisování jejich vhodných typů. Obezřetné používání se rovněž vztahuje na veterinární medicínu. Například antibiotika používaná jako stimulanty růstu jsou v Evropě zakázána.<sup>10</sup>

### **2.3 Antibiotika v životním prostředí**

V posledních letech patří antibiotika k nejpoužívanějším léčivům vůbec. V České republice vzrostla celková spotřeba antibiotik počátkem 90. let v důsledku nerespektování antibiotické rezistence a vlivu na životní prostředí. Hlavním problémem je předepisování antibiotik i na běžné nachlazení nebo jejich užívání bez indikace lékaře.<sup>14</sup>

Spotřeba antibiotik se měří na definovanou denní dávku na tisíc obyvatel a den (DDD/TID). Od roku 2010, kdy byla spotřeba 18,35 DDD/TID, vzrostla spotřeba v roce 2015 na 20,85 DDD/TID. Nejvyšší spotřebu vykazují peniciliny, na druhém místě makrolidy, a na dalších místech jsou cefalosporiny a tetracykliny.<sup>15</sup> Co se týče spotřeby, nachází se Česká republika na 13. místě v žebříčku 30 evropských zemí (země s nejvyšší spotřebou - Řecko).<sup>16</sup>

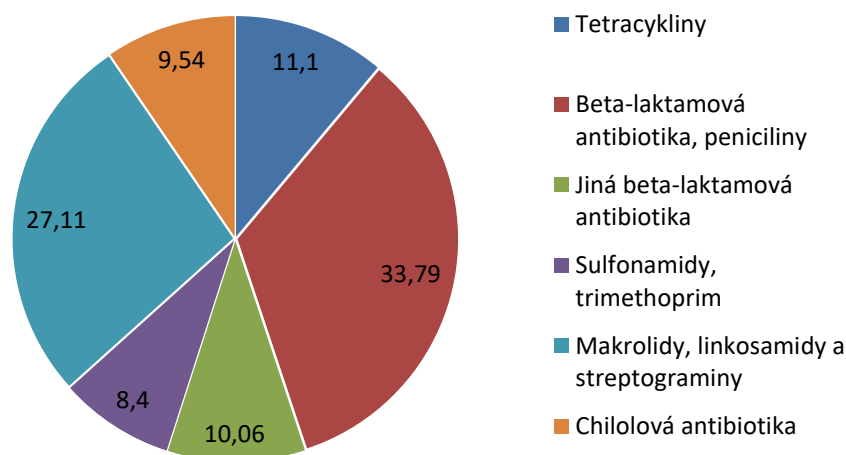
Vzhledem k tomu, že průměrná míra degradace antibiotik je kolem 50 – 60 %, je zřejmé, že se několik tisíc tun těchto látek, používaných v humánních a veterinárních klinikách i výzkumech, vyloučí do životního prostředí.<sup>14</sup>

#### **2.3.1 Výskyt antibiotik ve vodách**

Antibiotika vstupují do životního prostředí několika cestami (obrázek 2). Mohou být metabolizována ve větší nebo menší míře a rozdílně i podle toho, zda jsou využívána v humánním nebo veterinárním odvětví. V odpadních vodách se vyskytují z likvidace lidského odpadu, odpadů ze zemědělství, živočišné výroby, jsou přítomny i v rostlinách a průmyslových odpadních vodách z farmaceutické výroby.<sup>3</sup> Z důvodu nízké biodegradability jsou sledována zejména tato antibiotika: sulfonamidy, beta-laktamová antibiotika, chinolony,

nitroimidazoly, a další.<sup>17</sup> Nejvíce používaná antibiotika v lékařství jsou: beta-laktamy, makrolidy, sulfonamidy, tetracykliny, chinolony (obrázek 1).<sup>18,19</sup>

Ve vodních ekosystémech se sledují zejména sulfonamidy, trimethoprim, makrolidy, tetracykliny, chinolony, fluorochinolony a beta-laktamová antibiotika.<sup>14,20,21</sup> Koncentrace v odpadní vodě se pohybuje v  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , v povrchové vodě je v řádech  $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ .<sup>22,23</sup> V sedimentech byla detekována humánní i veterinární antibiotika, a to především tetracykliny, sulfonamidy a makrolidy. Koncentrace ve vodních sedimentech dosahuje řádů  $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ .<sup>24</sup> V kalu z čistíren odpadních vod byla zjištěna přítomnost sulfonamidových a fluorochinolonových antibiotik v jednotkách  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , přičemž koncentrace některých antibiotik se pohybovala v řádech  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .<sup>17,25</sup>



**Obrázek 1** - Grafické vyjádření spotřeby antibiotik v počtu balení vyjádřené jako procento z celkové spotřeby v ČR za rok 2008<sup>1</sup>

Přítomnost antibiotik v povrchových i podzemních vodách představuje značné riziko pro všechny organismy, které se ve vodním prostředí nacházejí. Dlouhodobé vystavování těmto chronickým dávkám u nich vyvolává hormonální změny, jako je tvorba specifických proteinů, či výskyt určitých charakteristických znaků u opačného pohlaví, než je obvyklé.<sup>14</sup> Hlavním problémem však zůstává vznik a rozšíření nových druhů rezistentních bakterií.<sup>26</sup> A protože antibiotika setrvávají v podzemních i povrchových vodách, můžou se dostávat

<sup>1</sup> Upraveno podle: Hofmanová, G. *Trendy ve spotřebě antibiotik v ČR 2004-2008*. Vysoká škola ekonomická v Praze. 2010, [cit. 2017-11-12]. Dostupné z: <https://vskp.vse.cz/58856>



i do vod pitných a způsobovat zatím neznámé poruchy z důvodu celoživotní expozice těchto látek u lidí.<sup>27</sup>

### ***Humánní antibiotika***

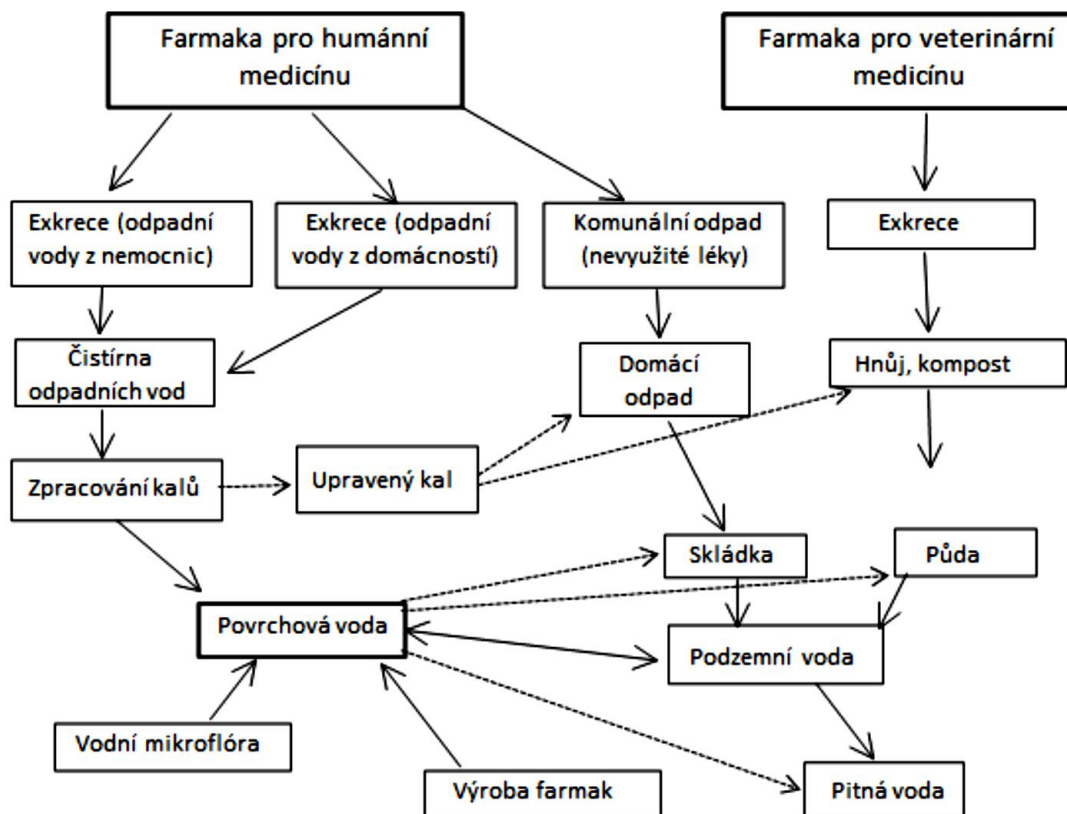
Metabolity humánních antibiotik se vylučují močí nebo stolicí do odpadních vod a dojdou až k čistírně odpadních vod. Léčivo nebo jeho metabolity mohou být mineralizovány organismy na oxid uhličitý a vodu (např. peniciliny). Přibližně 70 % spotřebovaného množství antibiotik je však vylučováno v nezměněné formě stále jako aktivní sloučeniny. A právě pokud nejsou během čištění eliminovány, mohou skončit v povrchových a podzemních vodách nebo sedimentech. Čistírny odpadních vod se tak stávají hlavním bodovým zdrojem vstupu antibiotik do životního prostředí. Pokud je antibiotikum stále, nerozkládá se, je polární a neváže se na pevné částice, nebude zadrženo v žádném stupni čištění na čistírně odpadních vod a snadno pronikne do vody, kde může působit toxicky na vodní organismy.<sup>17</sup>

### ***Veterinární antibiotika***

Dalším důležitým zdrojem vstupu antibiotik do životního prostředí je jejich používání k léčení a prevenci nemocí ve veterinární medicíně. Antibiotika podávaná živočichům jsou rovněž vylučována z jejich těl ve formě fekálií, kterými se hnojí půda a při dešti se z ní vymývají do podzemních i povrchových vod.<sup>4</sup> Několik studií zkoumalo vliv podávaných veterinárních přípravků, které měly být po aplikaci hnoje převzaty z půdy rostlinami. Analýzy půd ukázaly, že vybrané látky se pravděpodobně vyskytují v půdách i několik měsíců po aplikaci hnoje v měřitelném množství. Některá antibiotika jsou převzata z půdy zeleninou, jako je mrkev, listy salátu a kukuřice.<sup>28</sup> Testované plodiny kukuřice, zelené cibule a zelí absorbovaly chlortetracyklin a sulfamethazin. Jejich koncentrace byly v rostlinných tkáních malé, ale postupně se zvyšovaly s rostoucím množstvím antibiotik v hnoji. Nejvyšší koncentrace byly zjištěny u kukuřice a brambor.<sup>29</sup> Výsledky ukázaly, že existuje málo důkazů o významném riziku působení antibiotik v rostlinách. Tato expozice však může být důležitá, i když mají veterinární antibiotika velmi nízkou přijatelnou denní dávku, protože takto mohou vyvolávat mírné účinky po delší dobu nebo přispívají k jiným expozicím antibiotik.<sup>30</sup>

Dalším významným zdrojem, ze kterého mohou antibiotika prostupovat do životního prostředí, je akvakultura. Tento pojem označuje cíleně plánované obhospodařování vodních ploch s cílem dosáhnout dlouhodobě stálých výnosů ryb, humrů, krabů, krevet a jiných vodních organismů. Antibiotika oprávněná k používání v akvakultuře jsou florfenicol,

premix, sarafloxacin, erythromycin, oxytetracyklin nebo sulfonamidy.<sup>31</sup> Problém na těchto farmách je ten, že jsou antibiotika dávkována přímo do vody a nejsou organismy spotřebována na 100 %. Pronikají tedy přímo do vodního prostředí.<sup>17</sup>

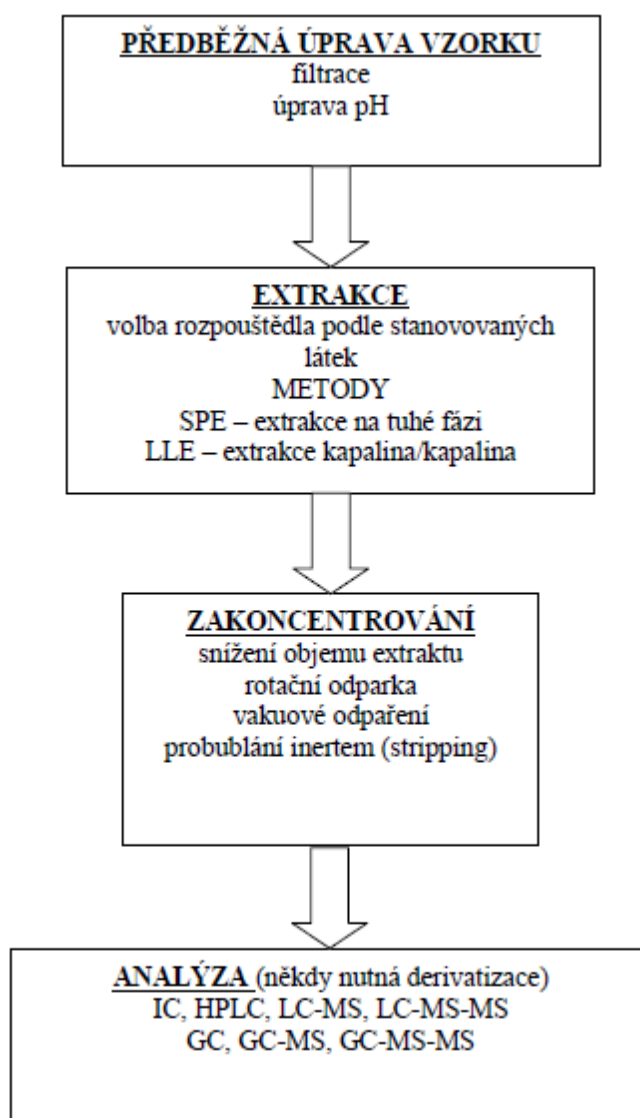


**Obrázek 2** - Schéma průniku léčiv do životního prostředí<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Upraveno podle: Heberer, T. *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data*. Toxicology Letters 131. 2002, [cit 2017-12-19]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378427402000413>

### 3 Analýza léčiv

Léčiva bývají v environmentálních matricích těžko stanovitelná, protože jsou v nich přítomna ve velmi nízkých koncentracích. Největším problémem stanovení jsou jejich odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti, složitá původní matrice a nutnost dosažení velmi nízkých limitů detekce. Analytické metody se obecně skládají z odběru a úpravy vzorku, extrakce, čištění a instrumentální analýzy (obrázek 3).<sup>32</sup>



**Obrázek 3** - Obecné schéma analýzy vodných vzorků léčiv<sup>3</sup>

<sup>3</sup> Kotyza, J. Soudek, P. Kafka, Z. Vaněk, T. *Léčiva – „nový“ environmentální polutant*. Chemické listy 103, 540-547. 2009, [cit 2018-01-31]. Dostupné z [www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009\\_07\\_540-547.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_07_540-547.pdf)

Z podzemních vod jsou vzorky odebírány čerpáním, z povrchových vod otevřenými povrchovými vzorkovači, vzorkovačem s těžátkem, tzv. Mayerovou lahví nebo průtočným vzorkovačem, tzv. Friedingerovým vzorkovačem. Dále se přefiltrují (1 μm) nebo centrifugují. Vzorky se uchovávají v neprůhledných skleněných nebo plastových vzorkovacích lahvích při snížené teplotě (asi 4 °C). Vzorkovací lahve musí být zbaveny všech nečistot. Většina léčiv není chemicky stabilní a působením kyslíku, světla, oxidačních činidel dochází k jejich rozkladu a následnému úbytku ve vzorku pro analýzu, proto je nutné sledovat stabilitu roztoku.<sup>32</sup>

Hladiny koncentrací léčiv jsou tak nízké, že není možné jejich přímé vstříkávání do chromatografického systému, proto je nutné vzorky před analýzou zakoncentrovat.<sup>32</sup> Extrakce kapalina-kapalina LLE (Liquid-Liquid Extraction) byla nahrazena metodou SPE (Solid Phase Extraction). Soxhletovu extrakční metodu pro pevné vzorky postupně nahradila tlaková extrakce rozpouštědlem PLE (Pressurized Liquid Extraction). Pro extrakci antibiotik z pevné fáze je používána i extrakce v ultrazvukové lázni nebo zrychlená extrakce kapalinou ASE (Accelerated Solvent Extraction). Při extrakci kapalina-kapalina se používá systém acetonitril-voda-petrolether nebo acetonitril-voda-hexan. Místo acetonitrilu je možné použít methanol.<sup>33</sup>

K přečištění vzorku se používá extrakce na pevnou fázi (SPE). Výběr stacionární a mobilní fáze u této metody je složitější než u extrakce kapalina-kapalina. Existuje mnoho typů náplní, které se používají k extrakci léčiv z odpadních, podzemních i povrchových vod. K nejčastějším patří Hydrophilic-Lipophilic Balanced kopolymer (HLB), který je stabilní v širokém rozmezí pH.<sup>34</sup>

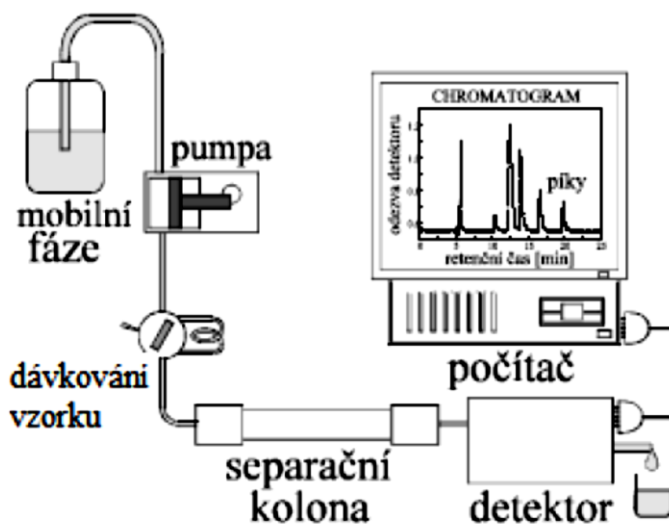
### **3.1 Instrumentální analýza**

Nejvíce využívanými jsou chromatografické metody - separační metody s možností kvalitativního a kvantitativního hodnocení separovaných látek ve směsi. Principem je rozdělení látek mezi dvě fáze – stacionární (nepohyblivá) a mobilní (pohyblivá). Během chromatografického procesu se mezi těmito fázemi vytváří rovnovážný stav. Podle charakteru mobilní fáze se tyto metody rozdělují na plynovou (GC) a kapalinovou chromatografii (LC). U plynové chromatografie tvoří mobilní fázi inertní plyn (argon, dusík). U kapalinové chromatografie se jako mobilní fáze používá kapalina a můžeme ji rozdělit podle uspořádání na tenkovrstvou, papírovou nebo kolonovou (vysokoúčinná kapalinová chromatografie).<sup>35</sup>

Chromatografické metody jsou často založeny na kapalinové chromatografii s hmotnostní detekcí (LC/MS) nebo tandemové hmotnostní detekci (LC-MS/MS). Při porovnání obou metod bylo dokázáno, že pro analýzu antibiotik je selektivnější a má nižší limity detekce metoda LC-MS/MS.<sup>35</sup>

### 3.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) našla velké uplatnění v analýze léčiv. Vyvinula se z klasické kolonové chromatografie, která byla objevená v roce 1906. Oproti jiným metodám má řadu výhod: možnost kvalitativního i kvantitativního hodnocení složek, možná automatizace, spotřeba malého množství vzorku, rychlé a citlivé stanovení.<sup>36</sup> Vysoké účinnosti se dosahuje díky stacionární fázi, která je tvořena malými částicemi pravidelného tvaru a přibližně stejné velikosti (1-10  $\mu\text{m}$ ), která homogenně vyplňuje kolonu. Dostatečný průtok mobilní fáze je zajištěn pomocí čerpadla, které mobilní fázi protlačuje kolonou pod vysokým tlakem (40 MPa).<sup>37</sup> Kapalinový chromatograf se skládá ze zařízení pro uchování a transport vzorku (čerpadlo), zařízení pro dávkování vzorku, zařízení pro separaci látek (kolona) a zařízení pro detekci látek (obrázek 4).<sup>38</sup>



Obrázek 4 - Schéma kapalinového chromatografu<sup>4</sup>

<sup>4</sup> Dohnal, V. Kadlečková, I. *Analýza látek pomocí HPLC*. Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem. 2013, [cit 2018-01-31].

Zásobníky obsahují mobilní fázi. Pokud se během procesu mění složení mobilní fáze, jde o tzv. gradientovou eluci. Pokud je složení v průběhu separace stejné, jedná se o izokratickou eluci.<sup>36</sup>

Čerpadlo (pumpa) zabezpečuje transport mobilní fáze konstantní rychlostí přes kolonu do detektoru.<sup>36</sup>

Dávkovací ventil aplikuje vzorek do chromatografické kolony a umožňuje dávkovat konstantní objem.<sup>36</sup> Automatické dávkovače spojené se zásobníkem vzorku nazýváme autosamplery. Dávkovací ventily mohou být ovládané elektricky nebo pneumaticky.<sup>39</sup>

Kolonu tvoří v podstatě trubka nebo úzká kapilára rovnoměrně naplněná stacionární fází. Plášť kolony musí být chemicky inertní s hladkým povrchem a musí odolávat vysokým tlakům. Vyrábí se ze skla nebo nerezové oceli. Na obou koncích je kolona ukončena ochranným kroužkem a koncovou hlavicí. Mezi polární adsorbenty používané v kolonách patří silikagel, který lze připravit velmi čistý s různě upravenými fyzikálními vlastnostmi, oxid hlinitý a další chemicky vázané polární stacionární fáze: aminopropyl, kyanopropyl, pentafluorfenylpropyl. Nepochární adsorbenty jsou například fenyl, bifenyl, arylfluorfenyl. Mobilní fáze musí být odplyněná a čistá. Pokud fáze obsahuje vodu, musí se filtrovat přes membránové filtry.<sup>39</sup>

Na detektory jsou v dnešní době kladeny vysoké požadavky. Musí umět detekovat všechny složky ve vzorku, odezva detektoru musí být rychlá, požaduje se vysoká citlivost a nízká úroveň šumu, musí být odolné vůči tlaku a teplotě. Detektory lze rozdělit na několik typů:

- Spektrofotometrické detektory – absorpce záření v oblasti vlnových délek 190 – 800 nm. Kvantitativní vyhodnocení pomocí Lambert-Beerova zákona.
- Fluorescenční detektory – měří se emisní záření, které látka vydá po absorpci excitačního záření. Absorpcí látky přecházejí do vyšších energetických hladin a absorbovanou energii může excitovaná molekula vyzářit.
- Elektrochemické detektory – pro látky, které jsou schopné elektrochemické reakce
- Detektor ELSD (Evaporative Light Scattering Detector) – pro látky, které v molekule neobsahují chromofor nebo fluorofor. Pro detekci sacharidů, fosfolipidů nebo mastných kyselin.
- Detektor Corona Charged Aerosol Detector (CAD) – detekce kladných částic, které mají jinou pohyblivost.<sup>39</sup>

### 3.1.2 Ultra účinná kapalinová chromatografie

Se zvyšujícími se nároky na rychlost analýzy došlo i ke zlepšení HPLC. Toto vylepšení vysokoúčinné kapalinové chromatografie využívá princip separace na porézních částicích menších než 2  $\mu\text{m}$ . K výhodám oproti běžné HPLC patří až devítinásobné zkrácení doby analýzy, dvojnásobné zlepšení rozlišení a trojnásobné zlepšení citlivosti. Tato zlepšení vedou k úspoře času, nákladům na energii a množství organických rozpouštědel. Ultra účinná kapalinová chromatografie (UHPLC) se provádí při tlaku až 100 MPa a musí se používat speciální kolony – monolitické kolony a kolony s povrchově porézními částicemi.<sup>40</sup>

Kolony s povrchově porézními částicemi lze použít i pro HPLC. Tyto kolony pracují při běžných tlacích 40 MPa. Částice stacionární fáze jsou tvořeny pevným jádrem, porézní silikagelovou slupkou a dosahují průměru asi 2,7  $\mu\text{m}$ . Analyt nemusí díky tomu, že je částice tvořená stabilním jádrem, difundovat skrz celou částici. Zkrátí se jeho dráha a tím pádem se zvýší rychlost analýzy.<sup>40</sup>

Monolitické kolony jsou tvořené jediným kusem pórovitého materiálu, který zcela zaplňuje separační kolonu. Na rozdíl od běžných kolon, monolitické neobsahují mezičásticové prostory. Mají dva typy pórů: makropóry, které zajišťují rychlý průtok mobilní fáze a mesopóry, které zajišťují dostatečnou selektivitu. Vyrábí se hydrolytickou polymerací tetramethoxysilanu nebo tetraethoxysilanu ve vodném roztoku kyseliny octové za přítomnosti polyethylenglykolu. Tato technologie umožňuje přípravu monolitů s přesně definovanou strukturou a velikostí makropórů i mesopórů.<sup>40</sup>

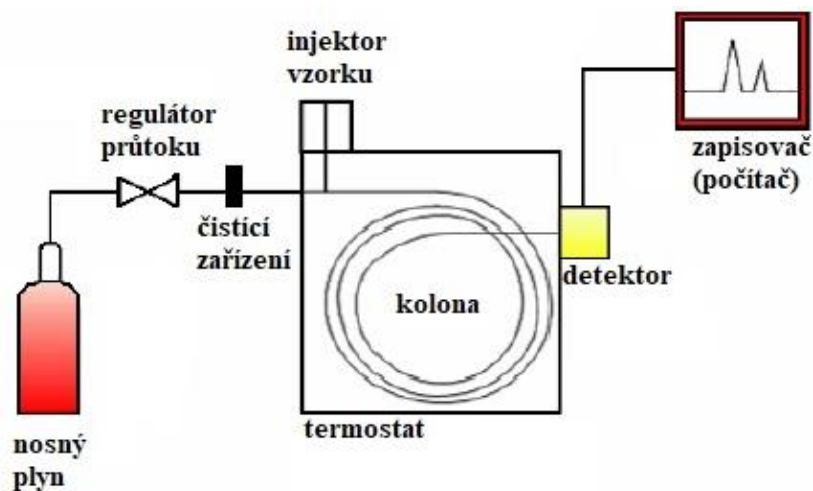
### 3.1.3 Plynová chromatografie

Tato separační metoda zajišťuje rovnovážnou distribuci mezi dvě fáze, plynnou (mobilní) a kapalnou nebo tuhou (stacionární). U plynové chromatografie (GC) je mobilní fází nosný plyn. Nosný plyn musí být inertní, aby neměl vliv na separaci. Nejčastěji se používá vodík, dusík, helium nebo argon. Tato metoda je vhodná pro analýzu směsi plynů nebo těkavých látek. Je možné analyzovat i kapalně a pevně látky, ale musí být zplynitelné. Pokud jsou látky málo těkavé, lze využít derivatizaci, tj. převedení málo těkavých látek na těkavé deriváty. Mezi antibiotika, která je možné stanovit touto metodou, patří sulfonamidy nebo aminoglykosidy.<sup>33,41</sup>

Podle stacionární fáze ji lze rozdělit na plynovou adsorpční chromatografii (GSC), při které probíhá separace analytu pomocí adsorpce složky na povrch pevného sorbentu

a plynovou rozdělovací chromatografií (GLC), při které se složky vzorku rozdělují mezi plynou mobilní fází a stacionární, která je kapalná.<sup>42</sup>

Tlakové lahve slouží jako zásobníky nosného plynu. Čistící zařízení má za úkol pohlcovat nečistoty a odstraňovat zbytky nežádoucích plynů, zejména kyslíku. Vzorek se dává stříkačkou přes pryžové septum do proudu nosného plynu, který jej unáší kolonou. Obvyklý objem nastříkovaného vzorku je 1  $\mu$ l. Hlavní částí plynového chromatografu je kolona, ve které jsou jednotlivé složky oddělovány na základě rozdílné interakce se stacionární fází. Používají se náplňové kolony ze skla nebo nerezové oceli o průměru 3 – 8 mm a délce 1 – 5 m, které jsou naplněné sorbentem (silikagel). Mnohem účinnější jsou kapilární kolony, které se vyrábí z taveného křemene s vnitřním průměrem 0,1 – 0,6 mm a délkou 15 – 60 m. Termostat udržuje konstantní teplotu v injektoru, koloně i detektoru, aby byl vzorek po celou dobu separace v plynném stavu. Složky, které vychází z kolony, jsou indikovány detektorem. Nejpoužívanější je plamenově-ionizační detektor, který měří změnu ionizačního proudu (obrázek 5).<sup>42,43</sup>



**Obrázek 5** - Schéma plynového chromatografu<sup>5</sup>

5 Upraveno podle: Plynová chromatografie (GC) [online]. [cit 2018-02-25]. Dostupné z: <<http://www.chemi.muni.cz/~literak/uvod.pdf>>.



### 3.1.4 Chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Kombinace vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (HPLC/MS) nebo plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) se využívá při stanovení nově vyvíjených léčiv. V prvním kroku se směs látek rozdělí vhodnou separační technikou (HPLC) a poté se spektrální metodou získají informace o struktuře jednotlivých sloučenin.<sup>44</sup> Při této metodě se atomy a molekuly ve vzorku ionizují a následně separují podle poměru hmotnosti a náboje vzniklého iontu ( $m/z$ ). Jedná se o destruktivní metodu, protože ionizací dodáme neutrální částici dostatečné množství energie, aby vznikl iont, ale přechod částice z tohoto excitovaného stavu do stavu základního již není možný.<sup>32</sup>

U spojení HPLC/MS nastává několik problémů oproti jednoduššímu GC/MS. Hmotnostní spektrometr pracuje za vysokého vakua, ale na konci analýzy jsou látky nesené za atmosférického tlaku v proudu kapalné fáze. Tím, že je mobilní fáze kapalina, vstupuje do hmotnostního spektrometru mnohem více molekul než při zavádění plynné fáze. Abychom předešli těmto problémům, používá se ionizace za atmosférického tlaku (API), ionizace elektrosprejem (ESI) a chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI).<sup>42</sup>

Spojení plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem se někdy označuje jako tzv. bezdrátový přenos, protože konec kapilární kolony je zaveden přímo do iontového zdroje a složky vzorku jsou okamžitě analyzovány. Tato metoda je vhodná zejména pro monitorování čistoty vody.<sup>45</sup>

## 4 Možnosti odstranění antibiotik z životního prostředí

Současné technologické postupy čištění odpadních vod nejsou schopny zajistit úplné odstranění antibiotik a dochází k různému stupni degradace těchto látek v odpadních vodách.<sup>46</sup> Odstranění léčiv z odpadních vod je důsledkem několika různých procesů. Můžeme je rozdělit na biotické, kam patří biodegradace bakteriemi a houbami, a nebiotické procesy jako je fotolýza, sorpce, hydrolýza, oxidace a redukce.<sup>4</sup>

Ve světové odborné literatuře je již dlouho poukazováno na nutnost efektivního odstraňování antibiotik, protože je známo, že jsou některá xenobiotika vůči biologickému čištění rezistentní, pronikají zpátky do povrchových vod a mají negativní důsledky na celou biosféru.<sup>46</sup>

### 4.1 Chemické procesy

#### 4.1.1 Fotodegradace

Fotochemická degradace je jedna z hlavních cest, která vede k rozložení léčiva ve vodních tocích.<sup>47</sup>

Fotolýza, přirozený rozklad, je závislá na absorpci slunečního záření molekulou léčiva (absorpční spektrum látky) a na intenzitě slunečního záření.<sup>47</sup> O tom, které látky budou podléhat fotolýze, rozhoduje jejich struktura. Přímou absorpci slunečního záření usnadňuje přítomnost aromatických kruhů s konjugovaným systémem dvojných vazeb. Tyto látky pak absorbují záření o vlnových délkách 280 – 400 nm.<sup>48,49</sup>

Fotolýza probíhá hlavně v čistých povrchových vodách. Neprobíhá v zakalené vodě, v čisté vodě, která je zastíněna nebo v půdních a odpadních vodách, protože mají nedostatečné světlo. Proto nelze efektivitu fotodegradace vždy odvodit přímo z výsledků získaných v laboratorních testech. Účinnost procesů se také může lišit v různých podmínkách prostředí jako je pH, tvrdost vody, umístění, období, zeměpisná šířka.<sup>4</sup> Mezi antibiotika citlivá na světlo patří chinolony, tetracykliny, sulfonamidy, tylosin a nitrofurany.<sup>4</sup>

Fotokatalýza vychází z fotolýzy, ale kromě světelného záření využívá i katalyzátor, který rozklad látek urychluje. Jako nejúčinnější katalyzátor se využívá oxid titaničitý v anatasové formě, která je stabilní při nižších teplotách. Tento katalyzátor je ve viditelné oblasti chemicky stabilní, neadsorbuje světlo a je zdravotně nezávadný. Fotokatalýza probíhá neefektivněji při UV světle o vlnové délce 388 nm.<sup>50</sup>

### 4.1.2 Oxidační procesy

Oxidace patří mezi oxidačně-redukční reakce, při nichž se mění oxidační čísla atomů. Oxidace i redukce probíhají současně. Při oxidaci se oxidační číslo atomu zvyšuje (atom ztrácí elektrony), naopak při redukci se oxidační číslo snižuje (atom elektrony přijímá). Přehled oxidačních činidel používaných k oxidaci vody je uveden v tabulce 1, kde jsou činidla řazena podle jejich standartních oxidačně-redukčních potenciálů od nejsilnějšího po nejslabší.<sup>50</sup>

Činidlo	Reakce
Fluor	$F_2 + 2H^+ + 2e^- = 2HF (aq)$
Hydroxylové radikály	$OH^\cdot + H^+ + e^- = H_2O$
Singletový kyslík	$O^1 + 2H^+ + 2e^- = H_2O$
Ozon	$O_3 + 2H^+ + 2e^- = H_2O + O_2$
Peroxydisíran sodný	$S_2O_8^{2-} + 2e^- = 2SO_4^{2-}$
Peroxid vodíku	$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O$
Hydroperoxylový radikál	$2HOO^\cdot + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O + O_2$
Manganistan draselný	$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$
Oxid chloričitý	$ClO_2 + 4H^+ + 5e^- = Cl^- + 2H_2O$
Dichroman draselný	$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$
Chlor	$Cl_2 + 2e^- = 2Cl^-$
Kyslík rozpuštěný ve vodě	$O_2(g) + 4H^+ + 4e^- = 2H_2O$ $O_2(g) + 2H^+ + 2e^- = H_2O_2$

**Tabulka 1-** Přehled oxidačních činidel používaných pro úpravu vody<sup>6</sup>

Pro odstranění perzistentních farmaceutických sloučenin z odpadní vody se využívají pokročilé oxidační procesy AOP (Advanced oxidation processes). AOP jsou schopny vytvářet hydroxylový radikál, který je nejsilnějším oxidačním činidlem a je schopen oxidovat téměř všechny organické molekuly. Mezi AOP řadíme i ozonizaci, protože ozon může při svém rozkladu přispět k tvorbě hydroxylových radikálů.<sup>46</sup>

<sup>6</sup> Upraveno podle: Dušek, L. *Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály*. Chemické listy 104, 846-854. 2010, [cit 2018-04-15].

## ***Ozonizace***

Ozon je velmi reaktivní tří-atomová molekula kyslíku, která se přirozeně vyskytuje v atmosféře v tzv. ozonové vrstvě, ve které vzniká ze vzdušného kyslíku působením UV záření ze Slunce nebo se vytváří technologickými postupy, jako je vysokonapěťový elektrický výboj ve vzduchových nebo UV trubkách. Za normálních podmínek je to nestabilní plyn s výrazným zápachem. Patří k nejsilnějším oxidačním činidlům, které se používá při čištění odpadních vod.<sup>51</sup>

Poprvé byl ozon použit k desinfekci pitné vody koncem 19. století. Při čištění odpadních vod se používá např. k odbarvování vod, měl by být účinný zejména na hlavní znečišťující látku, měl by zlepšit biologickou rozložitelnost odpadních vod a vodu desinfikovat. Ozonizace funguje dobře pokud jsou v molekule přítomny dvojně vazby uhlík-uhlík, aromatické vazby nebo dusík. Oxidace ozonem probíhá podle rovnice (1) a (2):<sup>51</sup>



Rozpuštěný ozón se ve vodě rozkládá. Rychlost rozkladu závisí na teplotě a pH. Ozón má mnohem silnější oxidační vlastnosti než chlor. Rozkládá biodegradabilní sloučeniny na jednodušší, biologicky přístupné, které se po delší době působení ozónu úplně rozloží.<sup>51</sup>

Jedná se o bezodpadovou technologii, protože ozonizace je tak účinná, že vede až k úplnému dokončení mineralizace na oxid uhličitý a vodu. Velký problém představuje fakt, že počáteční vedlejší produkty po částečné ozonizaci mohou být toxičtější než mateřská sloučenina. Musí být dobře zvolena doba ozonizace.<sup>52</sup> Další nevýhodou je horší rozpustnost ve vodě, což vyžaduje větší objemy reaktorů a komplexnější zařízení pro jeho dávkování do upravované vody.<sup>51</sup>

## ***Homogenní Fentonova oxidace***

Fentonova reakce je založena na reakci peroxidů (peroxidu vodíku) a železnatých iontů v kyselém prostředí za vzniku vysoce reaktivních hydroxylových radikálů podle rovnice (3):<sup>52</sup>

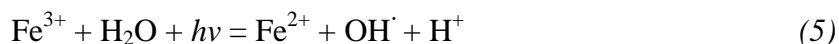


Hydroxylové radikály mohou odstranit jeden elektron z jakékoli látky přítomné v roztoku za vzniku hydroxidového aniontu nebo mohou získat atom vodíku z uhlovodíků, aby nahradily jejich chybějící atom.<sup>52</sup>

V první fázi je reakce rozkladu kontaminantů velmi rychlá, protože je v roztoku obsaženo velké množství železnatých iontů a hydroxylové radikály se tvoří rychle. Ve druhé fázi se z důvodu spotřeby železnatých iontů a tvorby železitých iontů sníží rychlost reakce. Je to důsledkem toho, že reakce, která probíhá podle rovnice (4), železitých iontů a peroxidu vodíku vede k tvorbě hyperoxylového radikálu, který je slabší než hydroxylový radikál.<sup>52</sup>



Tvorbu hydroxylových radikálů a účinnost degradace antibiotik můžeme zvýšit UV zářením v procesu nazývaném Foto-Fenton. Tento proces je založen na výrobě hydroxylových radikálů katalytickým rozkladem peroxidu vodíku v kyselém prostředí a za ozáření. Aby se zabránilo vysrážení železnatých iontů, provádí se tato reakce při pH 3, podle rovnice (5) a (6):<sup>52</sup>



U Foto-Fentonova procesu je požadované množství katalyzátoru na bázi železa a objem vytvořeného kalu podstatně nižší než u Fentonova procesu. Zpracování kalu, který obsahuje velké množství železa je nákladné a vyžaduje velké množství chemikálií. Náklady na tento pokročilý oxidační proces mohou být sníženy, pokud se místo umělého světla používá sluneční energie.<sup>52</sup>

Homogenní Fentonův proces je široce používán kvůli jeho jednoduchosti a provozu za normální teploty a tlaku. Ale kvůli velkým únikům železa do životního prostředí, vysoké spotřebě peroxidu vodíku a úzkému rozmezí pH, při kterém se dá reakce provozovat, se začal vyvíjet heterogenní Fentonův proces.<sup>53</sup>

### ***Heterogenní Fentonova oxidace***

Heterogenní reakce mají za cíl rozšířit rozsah pH a snížit problémy spojené se separací velkého množství železa po úpravě v kalu.<sup>53</sup> Zatímco homogenní Fentonovy procesy závisí pouze na chemických reakcích mezi činidly a kontaminujícími látkami, u heterogenních Fentonových procesů řídí celkový výsledek procesu a chemické reakce fyzikální procesy

na povrchu katalyzátoru. Fyzikální procesy zahrnují povrchové reakce a desorpci, chemické reakce se týkají reakcí mezi kontaminanty a produkovanými radikály. V heterogenní Fentonově reakci se mohou vyskytovat tři různé mechanismy: chemisorpce léků na povrchu katalyzátoru, homogenní přeměna peroxidu vodíku na hydroxylové radikály vyluhováním železa do reakčního roztoku nebo reakce peroxidu vodíku s druhy železa na povrchu katalyzátoru a jeho rozložení na hydroxylové radikály.<sup>54</sup>

Nedávný výzkum se soustředil na vývoj stabilních heterogenních katalyzátorů, aby se minimalizovalo vyluhování železa, zvýšila se katalytická aktivita a dlouhodobá stabilita.<sup>55</sup> Je třeba zaměřit se na charakteristiky katalyzátoru, jako je plocha povrchu, objem a distribuce pórů, hustota a porozita.<sup>52</sup>

Magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) je ekologicky nezávadný materiál pro odstranění znečišťujících látek, protože patří mezi složky půdy. Je stabilní a snadno použitelný. Magnetit oxiduje organické látky na méně nebezpečné nebo biologicky odbouratelné formy. Nevýhodou je, že nanočástice magnetitu mohou aglomerovat a tím snižovat poměr povrchu, objemu a katalytické aktivity.<sup>52</sup>

Další řešení představuje začlenění nanočástic oxidu železa do porézních nosičových materiálů, jako je aktivovaný uhlík. Toto uspořádání snižuje silnou tendenci aglomerace nanočástic a imobilizaci kovových katalyzátorů do porézních adsorbentů a snižuje riziko uvolňování železa do čištěné vody.<sup>56</sup> Využívání uhlíkových materiálů v heterogenních procesech zajišťuje současnou adsorpci a katalytickou oxidaci rozpustných kontaminantů.<sup>52</sup>

Použití heterogenního Fentonova procesu místo homogenního přináší výhody, jako je operace při mírnějším pH a tvorba menšího množství kalu. Bylo však prokázáno, že takto upravená voda může být zakalená použitím suspendovaných katalyzátorových částic. Proto je výhodnější používat pevné katalyzátory a železo imobilizovat na nosné médium.<sup>52</sup>

## 4.2 Fyzikální procesy

### 4.2.1 Sorpce

Sorpce patří mezi hlavní technologické procesy odstranění antibiotik z vodního prostředí. Rozlišujeme dva základní mechanismy sorpce: absorpci a adsorpci. Absorpce se uplatňuje hlavně u plynů a záření, ve vodném prostředí se uplatňuje adsorpce.<sup>57</sup>

Principem adsorpce je hromadění rozpuštěné látky v kapalině (adsorbátu) na povrchu pevné látky (adsorbentu). Kyselá léčiva mají nízkou hodnotu záporného dekadického logaritmu disociační konstanty a příliš se na kal neadsorbují. Naopak bazická léčiva

(fluorochinolonová antibiotika) se na kal adsorbují snadno.<sup>57</sup> Právě kvůli skutečnosti, že se antibiotika i ostatní léčiva mohou snadno sorbovat na kal, bylo ve Švýcarsku zakázáno používat kal z čistíren odpadních vod k hnojení zemědělské půdy, aby se sorbované látky nedostávaly dál do potravního řetězce.<sup>47</sup>

Kromě aktivovaného kalu se používá i adsorpce na aktivní uhlí. Aktivní uhlí má pórovitou strukturu a velký povrch. Používá se buď v granulované, nebo práškové formě. Granulovaná forma aktivního uhlí se snadněji regeneruje. Prášková forma má větší dostupný specifický povrch, což vede k rychlejší kinetice adsorpce.<sup>58</sup> Adsorpce na aktivní uhlí silně závisí na vlastnostech prostředí, jako je pH, koncentrace adsorbentů, přítomnost huminových kyselin a salinita. Hlavním problémem u použití aktivního uhlí je jeho tepelná regenerace, která je velice nákladná.<sup>52</sup>

#### 4.2.2 Membránové procesy

Membránové procesy patří k novějším, ale rychle se rozvíjejícím metodám. K jejich hlavním výhodám patří vyšší spolehlivost, nižší energetická náročnost a ohleduplnost k životnímu prostředí (nepřidávají se žádná další chemická činidla).<sup>59</sup>

Separovaná látka více nebo méně prochází membránou, kterou tvoří tenké vrstvy nebo fólie.<sup>59</sup> Neexistuje jedna univerzální membrána použitelná pro všechny technologie. Záleží na selektivitě membrány, na propustnosti, která má vliv i na rychlost procesu, a na její životnosti.<sup>60</sup>

Zpracovávaný roztok (nástřík) je na membránu přiváděn buď kolmo (dead-end filtration) a filtrát, který je ochuzen o látky, které membrána zachytí, prochází membránou. Toto uspořádání je výhodné pro vodu, ve které je malá koncentrace částic (farmaceutický průmysl). Druhým typem uspořádání je příčný tok (cross-flow filtration), kdy směs proudí rovnoběžně s povrchem membrány a filtrát odchází ve směru kolmém k povrchu. Zbylé látky zůstávají v koncentrátu (retentát), kde se zvyšuje jejich koncentrace. Tuto metodu je vhodnější použít pro větší koncentrace částic.<sup>60</sup>

Podle velikosti použitého tlakového rozdílu, velikosti pórů membrán a tím také separovaných částic dělíme membránové technologie na mikrofiltraci, ultrafiltraci, nanofiltraci a reverzní osmózu.<sup>60</sup> Pro odstraňování léčiv je nejvhodnější reverzní osmóza a nanofiltrace.<sup>47</sup>

Při reverzní osmóze prochází čištěná kapalina pod velkým tlakem membránou, která zachycuje téměř všechny nežádoucí látky. Póry v membráně mají velikost 0,001 – 0,0001  $\mu\text{m}$ , projdou jí tedy jen molekuly vody. Aby bylo dosaženo co nejvyšší účinnosti, měla by se

teplota vody pohybovat v rozmezí 15 – 25 °C, pH vody 2 – 11 a dostatečný tlak v rozmezí 200 – 600 kPa. Reverzní osmóza dnes patří k nejlepším filtračním technologiím. Je vysoce účinná, ekonomická, efektivní a využitelná v průmyslu i zdravotnictví k čištění vod.<sup>61</sup>

Nanofiltrace patří mezi membránové separace pro odstraňování molekul s molekulovou hmotností vyšší než 200 Da, využívá membrány s velikostí pórů 0,01 – 0,001  $\mu\text{m}$ . Při této technologii se uplatňuje síťový efekt – molekuly větší než póry membrány nemohou membránou procházet. Před samotnou nanofiltrací je vhodné provést koagulaci, aby se odstranily vysokomolekulární sloučeniny, které zbytečně ucpávají membránu. Oproti reverzní osmóze má výhodu v použití menšího provozního tlaku (0,5 – 1,5 MPa) a zvýšení toku permeátu.<sup>62</sup> Nanofiltraci lze použít při oddělování léčiv a metabolitů z moči pacientů a také ke změkčování vody, protože u nanofiltrace dochází k výraznému zachycování dvoumocných iontů.<sup>47</sup>

## 4.3 Biologické procesy

### 4.3.1 Biodegradace

Biodegradace představuje buď úplné rozložení léčiva, nebo jejich částečný rozklad na degradační produkty díky mikrobiální aktivitě.<sup>47</sup> Míra biologické degradace závisí na teplotě, pH a redoxních podmínkách.<sup>63</sup>

Přítomnost karboxylových, hydroxylových a karbonylových skupin v molekule může zvýšit rychlost biodegradace, zatímco přítomnost etherů, halogenů, alifatických etherů a methylové skupiny tento proces zpomaluje.<sup>63</sup> Během biodegradace mohou být farmaceutické sloučeniny transformovány na více hydrofobní nebo hydrofilní deriváty. Závisí na jejich chemických vlastnostech, přítomnosti primárních, sekundárních, terciárních nebo kvartérních uhlíkových atomů.<sup>64</sup>

Biodegradace se využívá hlavně při čištění odpadních vod, provozují ji téměř všechny čistírny odpadních vod. Biodegradace je velice účinná a významná metoda na rozklad neznámějšího antibiotika penicilinu. Penicilin se vyskytuje v odpadních vodách v koncentracích až  $200 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ , ale díky mikrobiální degradaci je na ČOV odstraněn z 99%. Proto je velmi nepravděpodobné, že by se mohl dostat do pité vody ve vysokých koncentracích.<sup>65</sup> Rozklad léčiv pomocí mikroorganismů se zvyšuje prodloužením doby setrvání odpadní vody v aktivační nádrži.<sup>57</sup>



### 4.3.2 Fytoremediace

Jedná se o technologii, která využívá rostliny k přeměně nebo zadržení toxických látek nacházejících se v půdě, povrchové a podzemní vodě. Systémy na bázi vodních rostlin, jako jsou umělé mokřady, mají několik výhod: jsou nízkonákladové, mají jednoduchý provoz i údržbu a jsou šetrné k životnímu prostředí. Bylo prokázáno, že mokřady jsou udržitelnou technologií a alternativou ke konvenčním čistírnám odpadních vod pro účinné odstranění dusíku, fosforu, těžkých kovů, mikrobiálních kontaminantů a některých xenobiotik. V těchto systémech mohou probíhat složité fyzikální, chemické a biologické procesy, včetně vypařování, sorpce, sedimentace a akumulace v rostlinách.<sup>64</sup>

Organické znečišťující látky, které jsou rostlinami přijaty, mohou podléhat částečné nebo úplné degradaci, mohou být metabolizovány nebo přeměněny na méně toxické sloučeniny a vázány v rostlinných tkáních v nedostupných formách. V procesech metabolické degradace nebo transformace mohou rostlinné enzymy působit na sloučeniny a mineralizovat je buď zcela na anorganické sloučeniny ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cl}_2$ ) nebo stabilní meziproducty.<sup>66</sup>

Kvantitativní hodnocení schopnosti rostlin asimilovat a translokovat léčiva je omezeno pouze na několik farmaceutických sloučenin a druhů rostlin. V buněčných membránách rostlin neexistují žádné specifické transportéry pro syntetické organické sloučeniny, jako jsou léčiva, a proto předpokládáme, že příjem těchto látek do rostliny je poháněn difúzí, která je do značné míry závislá na chemických vlastnostech sloučenin, především hydrofobicitě.<sup>67</sup>

Přímá absorpce léčiv rostlinami je účinným mechanismem odstraňování sloučenin s  $\log K_{ow} = 0,5 - 3$ . Takové sloučeniny jsou dostatečně lipofilní, aby se mohly pohybovat přes lipidovou dvojvrstvu membrán, a také jsou dostatečně rozpustné ve vodě, aby se mohly dostat do buněčných tekutin.<sup>64</sup>

Schopnost kumulovat xenobiotika mají například rostliny: zelené řasy, okřehek, kukuřice a některé druhy vrb.<sup>68</sup>

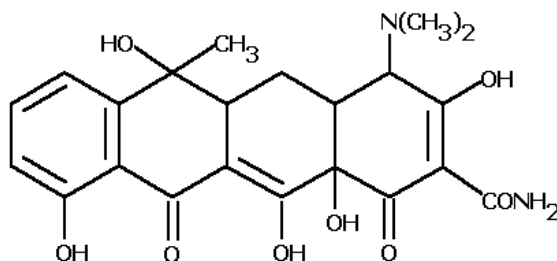
## 5 Konkrétní příklady studií odstraňování antibiotik

### 5.1 Tetracyklinová antibiotika

Tetracykliny (obrázek 6) patří mezi širokospektrá bakteriostatická antibiotika. Mají velice široké antimikrobiální spektrum. Působí na gramnegativní i na grampozitivní bakterie, mykoplasmata, spirochety, chlamydie, a protozoa. Jejich mechanismus účinku spočívá v inhibici proteosyntézy – brání připojení aminoacyl-tRNA na místo ribosomálního akceptoru.<sup>69</sup>

Průnik tetracyklinů tekutinami a do tkání je velice dobrý. Pronikají placentou (vysoké riziko poškození plodu), šíří se do kostí, zubů a CNS. Koncentrují se v játrech, vylučují se žlučí, stolicí a ledvinami.<sup>69</sup>

Tetracyklinová antibiotika mají komplexotvorné vlastnosti. Snadno tvoří komplexy s dvoumocnými ionty, zvláště vápenatými a hořečnatými. Patří k nejčastěji detekovaným antibiotikům v odpadních vodách, kde byly naměřeny v koncentracích až  $2,37 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Zbytky těchto antibiotik podporují vznik rezistentních mikroorganismů, které negativně působí na lidské organismy, pokud se dostanou do pitné vody.<sup>70</sup>



Obrázek 6 – Chemická struktura tetracyklinu<sup>7</sup>

Yihan Zhang a kol. (2018) se ve své práci věnovali výzkumu heterogenního Fentonova procesu na rozklad tetracyklinu. Jako katalyzátor použili černý turmalín  $[\text{NaFe}_3\text{Al}_6(\text{BO}_3)_3\text{Si}_6\text{O}_{18}(\text{OH})_4]$  kvůli vysoké účinnosti, šetrnosti k životnímu prostředí a snadné obnově. Před použitím jej třikrát promyli ultračistou vodou, vysušili při  $40^\circ\text{C}$  a uskladnili v suchém obalu. K samotnému experimentu připravili 100 ml roztoku

<sup>7</sup> Převzato z: Chopra, I. Marylin, R. *Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance*. Microbiology and molecular biology reviews. 2001, [cit 2018-05-21].

tetracyklinu. Katalyzátor a peroxid vodíku přidali do kuželové baňky s tetracyklinem o objemu 250 ml, aby se zahájila reakce. Vzorke odebírali v různých časových intervalech. Pro analýzu meziproduktů přidali roztok siřičitanu sodného pro zastavení reakce. Reakční suspenze extrahovali za použití SPE. Výsledky rozkladu tetracyklinu srovnávali ve třech různých systémech: použití samotného katalyzátoru, samotného H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a černý turmalín/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Při použití samotného katalyzátoru, černého turmalínu, byla míra degradace tetracyklinu pouze 8,3 %, kvůli adsorpci na minerální povrch. Přímá molekulární reakce mezi tetracyklinem a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mohla proběhnout bez katalyzátoru, ale v tomto případě pozorovali degradaci 40,8 %. Systém katalyzátor/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosáhl účinnosti 95,2 % degradace tetracyklinu. Během experimentu bylo identifikováno šest meziproduktů, které měly podobnou strukturu jako tetracyklin. Oxidační rychlost se snížila až při pátém opakování experimentu, pravděpodobně kvůli mírnému snížení obsahu Fe na povrchu katalyzátoru.<sup>71</sup>

Účinek ozonizace na degradaci oxytetracyklinu ve vodě, při různých hodnotách pH (pH = 3, 7, 11) zkoumali Kuixiao Li a kol. (2008). Vzorke byly upraveny hydroxidem sodným a kyselinou chlorovodíkovou. Obecně vzrůstala rychlost rozkladu se zvyšujícím se pH roztoku, protože hydroxylové ionty katalyzují rozklad ozonu za vzniku hydroxylových radikálů. Ozon byl při pokusu generován ze sušeného vzduchu ozonovým generátorem. Ozonizace se prováděla ve válcovém skleněném reaktoru probubláváním směsi ozonu a vzduchu skleněným filtrem. Vzorke byly analyzovány za použití kapalinové chromatografie. V testech byla využita inhibice bioluminiscence fotobakterií *Vibrio fischeri* jako indikátoru akutní toxicity. Test bioluminiscence byl aplikován na vzorke (100 mg a 200 mg oxytetracyklinu) před a po ošetření ozonem v různých časových intervalech. Inhibiční účinek se v prvních 15 – 60 minutách zvyšoval z 68 % až na 99,5 %. Skokové snížení toxicity z 99,5 % na 32 % nastalo po 120 minutách. To potvrzuje předpoklad, že pouze částečná oxidační úprava vodných roztoků oxytetracyklinů vede k toxickým meziproduktům se škodlivými účinky na organismy. Ozonizace je vhodná technika pro zvýšení biologické rozložitelnosti těchto odpadních látek z farmaceutického průmyslu, pokud je zvolena vhodná ozonizační doba.<sup>72</sup>

Ismail Koyuncu a kol. (2008) zkoumali odstranění tetracyklinů a sulfonamidů nanofiltrací. Pokusy prováděli při teplotě 20 °C za použití nanofiltrační membrány NF200. Antibiotika byla nejdříve z vodných vzorků extrahována, poté byly pro pokusy připraveny vodné roztoky smícháním vzorku s chloridem sodným, chloridem vápenatým a huminovou kyselinou. Adsorpce antibiotik na povrchu membrány byla hodnocena bez použití transmembránového tlaku. Tetracykliny vykazovaly vyšší rychlost adsorpce než sulfonamidy.

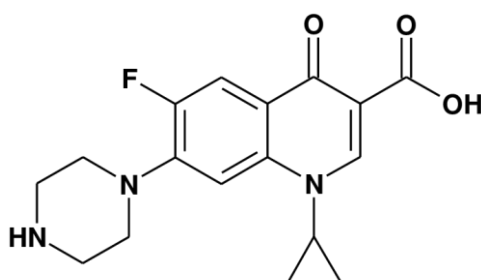
80 % chlortetracyklinu, bylo adsorbováno na povrchu membrány za míchání po 90 minutách, a téměř 70 % z nich se adsorbovalo již po 30 minutách. Sulfonamidy vykazovaly pomalou kinetiku adsorpce i malou hmotnostní adsorpci, která vzrostla po 90 minutách jen na 20 %. To může být způsobeno tím, že mají menší molekulové hmotnosti, nemají ve struktuře hydroxylové skupiny a pokusy byly prováděny při pH 7, kde jsou sulfonamidy z velké části nenabitě. Z výsledků studie plyne, že účinnost odstranění antibiotik nanofiltrací vzrůstá s molekulovou hmotností. Účinnost byla vyšší než 95 % pro molekulové hmotnosti 300 Da. Tetracykliny s molekulovou hmotností vyšší než 450 Da, byly kompletně odstraněny. Při použití jiné membrány než NF200 lze dosáhnout lepších výsledků.<sup>73</sup>

## 5.2 Chinolonová antibiotika

Chinolony, primárně baktericidní látky, se řadí do skupiny chemoterapeutik. Chemicky jsou buď nefluorované, nebo fluorované. Tyto látky zabraňují syntéze DNA bakterií v průběhu buněčného cyklu. Mají účinné antimikrobiální vlastnosti proti grampozitivním kokům, anaerobům a enterobakteriím. Užívají se při léčbě infekcí močových cest, dýchacího ústrojí, kloubů a kůže.<sup>69</sup>

Fluorochinolony jsou chinolony substituované atomem fluoru. Dobře se vstřebávají do tkání, žluči, kostí, chrupavky. Jsou vylučovány hlavně močí, kde jsou v koncentracích až o dva řády vyšší než v krvi. U mláďat a dětí do 18. roku života způsobují inhibici růstu kloubní chrupavky.<sup>69</sup>

Z fluorochinolonových antibiotik jsou detekovány nejvyšší koncentrace ciprofloxacinu (obrázek 7), který je nejběžněji předepisovaným chemoterapeutikem. Jeho koncentrace v nemocničních odpadních vodách dosahují až  $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .<sup>74</sup>



Obrázek 7 – Chemická struktura ciprofloxacinu<sup>8</sup>

<sup>8</sup> Převzato z: Girardi, C. Greve, J. Lamshoft, M. Fetzer, I. *Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities*. Journal of Hazardous Materials. 2011, [cit 2018-05-21].

Marjan Salari a kol. (2018) zkoumali účinnost homogenní Fentonovy oxidace při odstraňování vysokých koncentrací ciprofloxacinu v odpadních vodách. Jako katalyzátor použili  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  a ve druhém pokusu  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Výběr lepšího katalyzátoru vedl ke snížení množství kalu z oxidu železa. Standartní zásobní roztok ciprofloxacinu připravili rozpuštěním žádaného množství ( $500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) v destilované vodě s vhodným ředěním 37 % HCl. Procesy degradace ciprofloxacinu vyhodnocovali pomocí HPLC (mobilní fáze: směs kyseliny octové a acetonitrilu). Analýzu meziproductů prováděli pomocí HPLC spojenou s MS (mobilní fáze voda s kyselinou mravenčí). Srovnávací experimenty mezi dvěma katalyzátory, ukázaly, že odstranění ciprofloxacinu bylo větší a produkce kalu železa nižší u katalyzátoru  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Optimální reakční doba byla 25 minut. Odstranilo se 93 % ciprofloxacinu. Výsledky dále prokázaly, že homogenní Fentonův proces je schopen zlepšit biodegradabilitu odpadní vody z nuly na hodnotu 0,42. Biologická rozložitelnost odpadní vody byla stanovena z hlediska poměru  $\text{BSK}_5/\text{CHSK}$ .<sup>75</sup>

Chia-Chang Lin a kol. (2014) zkoumali degradaci ciprofloxacinu ve vodných roztocích procesem  $\text{UV}/\text{S}_2\text{O}_8$  bez úpravy pH ve fotoreaktoru. V tomto procesu je každý persíranový ion aktivován UV zářením za vzniku silného radikálu  $\text{SO}_4^-$ . Ciprofloxacin byl degradován procesem  $\text{UV}/\text{S}_2\text{O}_8$  ve 4,5 litrovém fotoreaktoru s vnitřním průměrem 14 cm a výšce 30 cm. Dvě křemenné trubice byly vertikálně umístěny uvnitř reaktoru a každá trubice obsahovala jako zdroj záření UV lampu. Do reaktoru byl ze dna přiváděn dusík, aby se zajistilo, že proces neovlivní kyslík. K zajištění homogenity roztoku bylo použito míchadlo. Teplota vodného ciprofloxacinu byla  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a jeho počáteční koncentrace  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Původní hodnota pH vodného roztoku 6,8 až 7,1. Po přidání  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  se pH nezměnilo. Množství ciprofloxacinu v každém vzorku bylo měřeno spektrofotometrem při maximální absorpční vlnové délce 273 nm. Ve 30. minutě byla účinnost odbourávání 15 % a časem se zvyšovala. Po 60 minutách dosáhla 95 %. Dále zkoumali vliv koncentrace  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  na účinnost degradace antibiotika. Se zvyšující se koncentrací se zvyšovala i účinnost odbourání, ovšem jen do koncentrace  $3,84 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ , protože potom už koncentrace vznikajících radikálů  $\text{SO}_4^-$  dosáhla nasycení a další zvyšování koncentrace degradaci inhibovalo. Nebyl pozorován žádný vznik nových znečišťujících látek.<sup>76</sup>

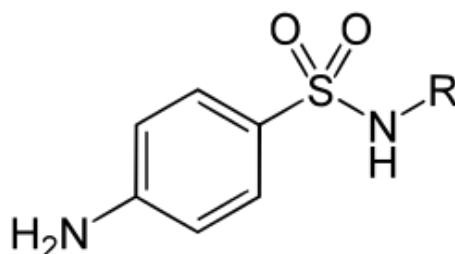
### 5.3 Sulfonamidová antibiotika

Sulfonamidy (obrázek 8) jsou účinné proti streptokokům, hemofilům, neiseriím. Kompetitivně inhibují syntézu kyseliny listové, která je hlavním růstovým faktorem bakterií.

Po podání jsou metabolizovány v játrech a vylučovány ledvinami. Kyselá moč může způsobit jejich krystalizaci v močových cestách.<sup>69</sup>

Sulfamethoxazol patří mezi nejčastěji předepisované antibiotikum. V kombinaci s trimethoprimem vzniká kotrimoxazol, který se používá k léčbě infekce dýchacích cest, močových cest, kapavce a k léčbě tyfu. Obě tyto látky nejsou úplně metabolizovány a jsou vylučovány převážně v nezměněné formě.<sup>69</sup>

Sulfonamidy jsou látky polární, dobře rozpustné ve vodě a v závislosti na pH prostředí schopné ionizace. Díky tomu, že jsou hojně využívány ve veterinární medicíně, dostávají se do vod přímo, uvolňováním v akvakulturách, nebo nepřímo aplikací hnoje na zemědělskou půdu a následným vyplavováním. Sorpce sulfonamidů v hnoji je nízká, protože hnůj obsahuje velké množství amoniaku, díky kterému vzrůstá hodnota pH.<sup>77</sup>



**Obrázek 8** - Základní chemická struktura sulfonamidů<sup>9</sup>

Degradaci sulfamethazinu a sulfadiazinu pomocí Fentonovy oxidace zkoumali Katherine Neafsey a kol. (2010). Obě tato antibiotika ze skupiny sulfonamidů mají velké využití ve veterinářství, protože zlepšují příjem živin v gastrointestinálním traktu. Velké množství nezmetabolizovaných antibiotik vstupuje do půdy v důsledku aplikace zemědělského hnojiva, velmi slabě se adsorbují do půdních částic a mají potenciál proniknout do podzemních vod. Tato práce se věnuje využití anodické membrány spolu s Fentonovou oxidací k odstranění sulfamethazinu a sulfadiazinu z odpadních vod. Elektrický odpor anoxové membrány v 1 M roztoku NaCl při 25 °C byl 8 ohm·cm<sup>-2</sup>. Počáteční pH upravili 1 M roztokem HCl. Zařízení na degradaci se skládalo ze skleněného anodického polo-článku o objemu 600 ml, obsahujícího 400 ml sulfamethazinu nebo sulfadiazinu, spojeného

<sup>9</sup> Převzato z: Neafsey, K. Zeng, X. Lemley, A. *Degradation of Sulfonamides in Aqueous Solution by Membrane Anodic Fenton Treatment*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2010, [cit 2018-05-29].

iontoměničovou membránou. Katodický polo-článek obsahoval 400 ml 0,08 M NaCl. Současně byl přidán do anodické poloviny roztok peroxidu vodíku. Oxid železnatý (železná deska) byl oxidován na železnatý ion. Vzhledem k tomu, že poměr rychlosti dodávky peroxidu vodíku k rychlosti dodávky železnatého iontu může ovlivnit rychlost degradace a účinnost, byly všechny pokusy provedeny při poměrech  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 1:1; 10:1; 20:1$ . Za účelem ověření, zda toto uspořádání Fentonovy oxidace s anodovou membránou odstranilo bakteriostatické vlastnosti sulfamethazinu a sulfadiazinu, byly provedeny testy toxicity s použitím vodní rostliny okřehku hrbatého (*Lemna gibba*). Sulfamethazin byl úplně degradován ve vodném roztoku s poměrem  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} 10:1$  během 6 minut, sulfadiazin během 8 minut. Výsledky testů toxicity potvrdily, že tento proces odstraňuje bakteriostatické vlastnosti obou antibiotik během degradace. Nevýhoda tohoto procesu byla v jeho nákladnosti (cena reagensů).<sup>78</sup>

Yuan Zhang a kol. (2012) zkoumali účinnost přirozené degradace na sulfamethoxazol ve vodě a sedimentu. Mechanismus degradace byl zkoumán pomocí srovnávacích experimentů s použitím sterilizovaného a nesterilního systému, s nebo bez světla, aerobně nebo anaerobně. Degradace sulfamethoxazolu byla studována v koncentraci  $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  každé sloučeniny v jezerní vodě v inkubátoru při podmínkách přirozené světlo/tma. Čerstvé vzorky vody byly z jezera odebrány ve skleněných lahvích o objemu 3 litry. Jedna lahev byla sterilizována přidáním  $\text{NaN}_3$ . Obě lahve pokryté zátkou z bavlny byly inkubovány při teplotě  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a provzdušňovány probubláváním vzduchu rychlostí  $1,2 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ . Experiment byl proveden třikrát. Aerobní degradací byl sulfamethoxazol odstraněn z více než 92 % během 55 dnů po aplikaci. Za sterilizovaných podmínek došlo k degradaci pouze 51,6 – 66,5 %. V přirozeném světle byla degradace mnohem rychlejší než v tmavých podmínkách. Výsledky degradace antibiotika ve vodě a v sedimentech ukázaly, že rychleji degradují ve vodě. To může být hlavně způsobeno tím, že absorpce světla sedimentem oslabila abiotickou degradaci (fotolýzu).<sup>79</sup>

## 6 Diskuze k možnostem odstraňování antibiotik

Kvůli nadužívání antibiotik, neúplné metabolizaci v lidském nebo zvířecím těle a nedostatečnému zpracování odpadních farmaceutických vod jsou antibiotika často detekována ve vodním prostředí. Jejich přítomnost snadno vede k vývoji patogenů, které jsou proti nim odolné, což způsobuje velké ohrožení lidského zdraví a ekologické rovnováhy. Stále se zkoumají nové metody, jak tyto látky co nejefektivněji z odpadních vod odstranit, aby se nemohly dostávat až do pitné vody a tím zpětně ke spotřebiteli. V této práci byly některé biologické, fyzikální a chemické metody popsány.

Fotolýza neboli přirozený rozklad antibiotika ve vodě působením slunečního záření, je proces, který neovlivňujeme, nepřidáváme žádné reagenty do vody. Má nevýhodu, že špatně probíhá v zakalené vodě a je značně závislý na přírodních podmínkách, jako je sluneční záření, roční období, teplota. Z popsaných antibiotik byl v laboratorních podmínkách rozkládán sulfamethoxazol s účinností větší než 92 %, ovšem tuto hodnotu nelze pokládat za přesnou, protože nikdy v laboratoři nevystihneme přirozené podmínky.

Fotokatalýza je obdoba přirozené fotolýzy, ale probíhá už za definovaných podmínek UV záření, které aktivuje katalyzátor za vzniku silného radikálu, který může antibiotikum úspěšně oxidovat. Touto metodou byl rozkládán ciprofloxacin s vysokou účinností a navíc nevznikaly žádné další znečišťující látky.

Ozonizace je metoda dobře známá a často už i využívaná na většině ČOV. Ozon je velice účinné oxidovadlo. Nevýhodou této metody je jednak cena a dále pak, že musí být dobře zvolena ozonizační doba, protože po krátkém působení vznikají z antibiotik nejdříve jejich meziprodukty, které jsou ještě více toxické než původní sloučenina. Touto technikou byl výše popsán rozklad tetracyklinu.

K nejvíce účinným a nejčastěji popisovaným metodám patří Fentonova oxidace. Reakcí peroxidu vodíku s železnatým iontem v kyselém prostředí vznikají vysoce reaktivní hydroxylové radikály. Problémem je uvolňování železa a produkce velkého množství železnatého kalu. Proto se stále zkoumají a vyvíjejí nové typy katalyzátorů, které by pracovaly v širším rozmezí pH a minimalizovaly železnaté kaly. Tetracykliny byly rozkládány Fentonovou oxidací za použití černého turmalínu jako katalyzátoru, který ve své struktuře obsahuje železnatý ion, ale je snadno regenerovatelný a pokles  $\text{Fe}^{2+}$  v jeho struktuře byl zaznamenán až při pátém opakování pokusu. Pro ciprofloxacin se jevil jako výhodnější katalyzátor  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , u kterého byla produkce železnatého kalu také omezena. Pro sulfonamidová antibiotika byla zkoumána využitelnost Fentonova procesu



ve spojení s anoxickou membránou. Toto spojení bylo velice účinné, ale ekonomicky nevýhodné.

Membránové metody jsou výhodné z hlediska ekonomiky a vlivu na životní prostředí, protože nevnášíme do ošetřované vody žádné další chemikálie. Jejich nevýhoda je v tom, že antibiotikum pouze z vody odstraníme, ale nezbavíme se ho. Proto je nutné vyřešit otázku, jak se bude dále nakládat s koncentrovanými látkami. Při porovnání účinnosti degradace tetracyklinu a sulfonamidu je zřejmé, že velký význam má typ zvolené membrány.

Z biologických metod je v této práci popsána biodegradace a fytoremediace. Biodegradace je využívána na všech čistírnách odpadních vod v aktivačních nádržích. Zde je důležitá doba zdržení, která může být někdy i příliš dlouhá, a proto není většina antibiotik pouze biodegradací odstraněna. Fytoremediace, neboli odstraňování kořenovým systémem rostlin se provádí v tzv. kořenových čistírnách vod. Tyto procesy jsou popsány zatím jen pro malé množství látek. Biologické metody jsou vhodné především k dočišťování odpadních vod.

Všechny popsané metody vykazují účinnost větší než 95 %. Žádná metoda neodstraní antibiotikum z vody na 100 %. Stále se vyvíjejí nové metody a technologie, ale vždy je třeba se dívat, jak budou využitelné a aplikovatelné v praxi. Velký význam by měl například sběr moči u pacientů v nemocnicích a vybudování vlastních čistírenských jednotek vody pro nemocnice a farmaceutický průmysl. Velkou efektivitu při čištění odpadních vod přináší kombinace několika metod najednou.

## 7 Závěr

Bakalářská práce je zaměřena na výskyt antibiotik v životním prostředí s důrazem na vodní prostředí. V literární rešerši byla nejdříve antibiotika rozdělena podle původu, biologického účinku, chemické struktury, intenzity účinku a mechanismu účinku. Byly popsány jejich negativní účinky na živé organismy a vysvětlen pojem antibiotická rezistence, která představuje největší riziko pro člověka při vstupu těchto látek do složek životního prostředí.

Další kapitola byla věnována analytickému stanovení antibiotik ve vodní matrici pomocí několika využitelných metod. Byl popsán princip fungování vysokoúčinné kapalinové chromatografie, dále pak ultra účinné kapalinové chromatografie, plynové chromatografie a využití spojení chromatografie s hmotnostní detekcí.

Mezi popsané metody odstranění antibiotik z odpadních vod patří chemické metody (fotodegradace, oxidace), které jsou účinné, ale nebyvají příliš šetrné k životnímu prostředí, protože do vody dávkujeme další činidla. Fyzikální metody (sorpce, membránové procesy) patří k novějším a rozvíjejícím se metodám, zvláště nanofiltrace. Do vody nedávkujeme žádné další reagenty, jde o jednoduché a ekonomicky přijatelné řešení. Problém ovšem představují vzniklé kaly. Uvedené biologické metody, biodegradace a fytořemediace, slouží především dočišťování odpadních vod od antibiotik.

Na závěr práce byly vybrány tři skupiny nejčastěji předepisovaných antibiotik, které se ve vodním prostředí vyskytují ve vysokých koncentracích (tetracykliny, chinolony, sulfonamidy), a popsány konkrétní studie jejich odstranění. Všechny metody odstraňování antibiotik byly v závěru práce diskutovány.

## 8 Literatura

- (1) Schneitler, S.: Antibiotika helfen nicht immer – akute Atemwegsinfektionen im Fadenkreuz. *Der Pneumologe* **2018**, 15.2: 90-102.
- (2) Hejzlar, M.: *Antibiotika v praxi*; Makropulos: Praha, **1995**.
- (3) Qiao, M.; Ying, G.-G.; Singer, A. C.; Zhu, Y.-G.: Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environment International* **2017**.
- (4) Kümmerer, K.: Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* **2009**, 75, 417-434.
- (5) Lochman, O.: *Nežádoucí účinky antiinfekčních léčiv*; Triton: Praha, **2008**.
- (6) O'Grady, F.; Lambert, H. P.; Finch, R. G.; Greenwood, D.: *Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective Agents and Their Use in Therapy*. **1998**.
- (7) Matthew, L.: *Antibiotics*. **2003** [online]. [cit 2017-08-11]. Dostupné na: <<https://web.archive.org/web/20061231163140/http://www.merck.com/mmhe/sec17/ch192/ch192a.html>>
- (8) Blair, J. M. A.; Webber, M. A.; Baylay, A. J.; Ogbolu, D. O.; Piddock, L. J. V.: Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* **2014**, 13, 42.
- (9) Hecke, O. V.; Butler, C.: It's false to believe that antibiotic resistance is only a problem in hospitals – GP surgeries are seeing it too. *The Conversation* **2017**.
- (10) Acar, J.; Davies, J.; Buckley, M.: Antibiotic Resistance: An Ecological Perspective on an Old Problem. *American Society for Microbiology* **2009**.
- (11) Hynie, S.: *Farmakologie v kostce*; Triton: Praha, **2001**.
- (12) Votava, M.: *Lékařská mikrobiologie obecná*; Neptun: Brno, **2005**.
- (13) Urbášková, P.; Hrabák, J.; Žemličková, H.: Antibiotická rezistence bakterií – hrozba selhání léčby infekcí neustále sílí. *Medical Tribune* **2012**, 2.
- (14) Thorsten, C.; Schneider, R.; Farber, H.: Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. **2003**, 31.1: 36-44.
- (15) Prokeš, M.; kolektiv: Spotřeby a náklady na ATB používaná v humánní medicíně v ČR 2008-2016 a jejich základní vyhodnocení podle metodiky ECDC. Purkyně, Č. I. s. J. E., Ed.: Praha, **2016**.
- (16) Hoza, J.: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně. **2007**.
- (17) Jørgensen, S. E.; Halling-Sørensen, B.: Drugs in the environment. *Chemosphere* **2000**, 40, 691-699.

- (18) Cars, O.; Molstad, S.; Melander, A.: Variation in antibiotic use in the European Union. *The Lancet* **2001**, 357.9271: 1851-1853..
- (19) Hofmanová, G.: *Trendy ve spotřebě antibiotik v ČR 2004 - 2008*; Vysoká škola ekonomická v Praze **2010**.
- (20) Hirsch, R.; Ternes, T.; Haberer, K.; Kratz, K.-L.: Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of The Total Environment* **1999**, 225, 109-118.
- (21) Watkinson, A. J.; Murby, E. J.; Kolpin, D. W.; Costanzo, S. D.: The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Science of The Total Environment* **2009**, 407, 2711-2723.
- (22) Li, B.; Zhang, T.; Xu, Z.; Fang, H. H. P.: Rapid analysis of 21 antibiotics of multiple classes in municipal wastewater using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **2009**, 645, 64-72.
- (23) Xiao, Y.; Chang, H.; Jia, A.; Hu, J.: Trace analysis of quinolone and fluoroquinolone antibiotics from wastewaters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2008**, 1214, 100-108.
- (24) Zuccato, E.; Calamari, D.; Natangelo, M.; Fanelli, R.: Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet* **2000**, 355.9217: 1789-1790.
- (25) Stoob, K.; Singer, H. P.; Stettler, S.; Hartmann, N.; Mueller, S. R.; Stamm, C. H.: Exhaustive extraction of sulfonamide antibiotics from aged agricultural soils using pressurized liquid extraction. *Journal of Chromatography A* **2006**, 1128, 1-9.
- (26) Lu, H.-T.; Jiang, Y.: Simultaneous determination of oxytetracycline, doxycycline, tetracycline and chlortetracycline in tetracycline antibiotics by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Chromatographia* **2004**, 60.5-6: 259-264.
- (27) Ye, Z.; Weinberg, H. S.; Meyer, M.: Occurrence of antibiotics in drinking water. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 387.4, 1365-1377.
- (28) Kumar, K.: Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *Journal of Environmental Quality* **2005**, 34.6: 2082-2085.
- (29) Dolliver, H.; Kuman, K.: Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *Journal of Environmental Quality* **2007**, 36.4: 1224-1230.
- (30) Boxall, B. A. A.; Johnson, P.; J.Smith, E.: Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**.
- (31) Serrano, P. H.: *Responsible use of antibiotics in aquaculture.*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, **2005**.

- (32) Ternes, T.; Bonerz; Schmidt: Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2001**, 938. 1-2: 175-185.
- (33) Dí'az-Cruz, S.; Alda, M. a. J. L. p. d.; Barcelo, D.: Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends in Analytical Chemistry* **2003**, 22.6: 340-351.
- (34) Jacobsen, A. M.; Halling-Sørensen, B.; Ingerslev, F.; Hansen, S. H.: Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2004**, 1038. 1-2: 157-170.
- (35) Ternes, T. A.; Hirsch, R.; Mueller, J.; Haberer, K.: Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and  $\beta$ 2-sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. *Journal of Analytical Chemistry* **1998**, 362.
- (36) Klimeš, J.; kolektiv: *Kontrola léčiv I.*: Praha, **2008**.
- (37) Štulík, K.; kolektiv: *Analytické separační metody ANO*; Karolinum: Praha, **2004**.
- (38) Dohnal, V.; Kadlečková, I.: *Analýza látek pomocí HPLC. Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem* **2013**.
- (39) Douša, M.; Nováková, L.; kolektiv: *Moderní HPLC separace v teorii a praxi I.*: Praha, **2013**.
- (40) Olšovská, J.; Jurková, M.: *Nové trendy v kapalinové chromatografii a jejich využití v analýze piva a pivovarských surovin.* **2012**.
- (41) Babic, S.; Ašperger, D.; Mutavdžić, D.: Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in wastewater. *Talanta* **2006**, 70,4: 732-738.
- (42) Štulík, K.; kolektiv: *Analytické separační metody*; Karolinum: Praha, **2004**.
- (43) Klouda, P.: *Moderní analytické metody*: Ostrava, **2003**.
- (44) Chilton, A.: *LC/MS/MS. Trade Journals* **2001**.
- (45) Tekel', J.; Mikuš, P.: *Vybrané kapitoly z analytickej chémie: analýza látok v biologických systémoch*; Univerzita Komenského v Bratislavě: Bratislava, **2005**.
- (46) Pokorná, D.; Cuřínová, P.; Šnajdaufová, H.; Křenek, T.; Pola, M.; Novák, L.; Janeček, V.; Pola, J.: Fentonova degradace antibiotik a jiných léčiv v odpadních vodách - vliv železnatých spinelů. *WASTE* **2016**, p. 154.

- (47) Kotyza, J.; Soudek, P.; Kafka, Z.; Vaněk, T.: Léčiva - "Nový" environmentální polutant. *Chemické listy* **2009**, 103: 540-547.
- (48) Píram, A.; Salvador, A.; Verne, C.; Herbreteau, B.; Faure, R.: Photolysis of  $\beta$ -blockers in environmental waters. *Chemosphere* **2008**, 73,8: 1265-1271.
- (49) Challis, J.; Hanson, M.; Friesen, K.; Wong, C.: A critical assessment of the photodegradation of pharmaceuticals in aquatic environments: defining our current understanding and identifying knowledge gaps. *Environmental Science: Processes Impacts* **2014**, 16.4: 672-696.
- (50) Dušek, L.: Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály. *Chemické listy* **2010**, 104, 846-854.
- (51) Drozdová, M.; Jablonka, R.; Kučerová, R.; Kašáková, H.: Application of ozonation to intensify nitrification and denitrification processes. *GeoScience Engineering* **2014**, 60.3: 37-45.
- (52) Mirzaei, A.; Chen, Z.; Haghghat, F.; Yerushalmi, L.: Removal of pharmaceuticals from water by homo/heterogeneous Fenton-type processes. *Chemosphere* **2017**, 174: 665-688.
- (53) Arzate-Salgado, S.-Y.; Morales-Pérez, A.-A.; Solís-López, M.; Ramírez-Zamora, P.-M.: Evaluation of metallurgical slag as a Fenton-type photocatalyst for the degradation of an emerging pollutant: Diclofenac. *Catalysis Today* **2016**, 266: 126-135.
- (54) Pouran, S. R.; Aziz, A.; Daud, W. M. A. W.: Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2015**, 21: 53-69.
- (55) Hermosilla, D.; Cortijo, M.; Huang, C. P.: Optimizing the treatment of landfill leachate by conventional Fenton and photo Fenton processes. *Science of The Total Environment* **2009**, 407. 11: 3473-3481.
- (56) Jafari, A. J.; Kakavandi, B.; Jaafarzadeh, N.; Kalantary, R. R.; Ahmadi, M.; Babaei, A. A.: Fenton-like catalytic oxidation of tetracycline by AC@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> as a heterogeneous persulfate activator: Adsorption and degradation studies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2017**, 45: 323-333.
- (57) Šídllová, P.; Podlipná, R.; Vaněk, T.: Cytostatická léčiva v životním prostředí. *Chemické listy* **2011**, 105: 8-14.

- (58) Karelid, V.; Larsson, G.; Bjorlenius, B.: Pilot-scale removal of pharmaceuticals in municipal wastewater: Comparison of granular and powdered activated carbon treatment at three wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Management* **2017**, 193: 491-502.
- (59) Palatý, Z.: Membránové procesy. *Chemické listy*, **2012**, 106: 1086-1088.
- (60) Woldemariam, D.; Kullab, A.; Fortkamp, U.; Magner, J.; Royen, H.; Martin, A.: Membrane distillation pilot plant trials with pharmaceutical residues and energy demand analysis. *Chemical Engineering Journal* **2016**, 306: 471-483.
- (61) Shanmuganathan, S.; Vigneswaran, S.; Nguyen, T. V.; Loganathan, P.; Kandasamy, J.: Use of nanofiltration and reverse osmosis in reclaiming micro-filtered biologically treated sewage effluent for irrigation. *Desalination* **2015**, 364: 119-125.
- (62) Honzajková, Z.; Kubal, M.; Podhola, M.; Patočka, T.; Šír, M.; Kocurek, P.: Membránové technologie a jejich použití při čištění podzemních vod a skládkových výluhů. *Chemické listy*, **2011**, 105: 245-250.
- (63) Muter, O.; Perkons, I.; Selga, T.; Berzins, A.; Gudra, D.; Radovica-Spalvina, I.; Fridmanis, D.; Bartkevics, V.: Removal of pharmaceuticals from municipal wastewaters at laboratory scale by treatment with activated sludge and biostimulation. *Science of The Total Environment* **2017**, 584: 402-413.
- (64) Zhang, D.; Gersberg, R. M.; Ng, W. J.; Tan, S. K.: Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems. *Environmental Pollution* **2014**, 184: 620-639.
- (65) Michael, I.; Rizzo, L.; McArdell, C.; Manaia, C.; Merlin, C.; Schwartz, T.; Dagot, C.; Fatta-Kassinos, D.: Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Research* **2013**, 47, 957-995.
- (66) Matamoros, V.; Caselles-Osorio, A.; García, J.; Bayona, J.: Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment. *Science of The Total Environment* **2008**, 394, 171-176.
- (67) Stottmeister, U.; Wiebner, A.; Kuschik, P.; Kappelmeyer, U.; Kastner, M.; Bederski, O.; Muller, R.: Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnology Advances* **2003**, 22, 93-117.

- (68) Brain, R.; Wilson, C.; Johnson, D.; Sanderson, H.; Bestari, K.; Hanson, M.; Sibley, P.; Solomon, K.: Effects of a mixture of tetracyclines to *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum* evaluated in aquatic microcosms. *Environmental Pollution* **2005**, 138, 425-442.
- (69) Lincová, D.; Farghali, H.: *Základní a aplikovaná farmakologie* Galén: Praha, **2007**.
- (70) Chopra, I.; Roberts, M.: Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and molecular biology reviews* **2001**, 65.2: 232-260.
- (71) Zhang, Y.; Shi, J.; Xu, Z.; Chen, Y.; Song, D.: Degradation of tetracycline in a schorl/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system: Proposed mechanism and intermediates. *Chemosphere* **2018**, 202, 661-668.
- (72) Li, K.; Yediler, A.; Yang, M.; Schulte-Hostede, S.; Wong, M. H.: Ozonation of oxytetracycline and toxicological assessment of its oxidation by products. *Chemosphere* **2008**, 72, 473-478.
- (73) Koyuncu, I.; Arıkan, O.; Wiesner, M.; Rice, C.: Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science* **2008**, 309, 94-101.
- (74) Girardi, C.; Greve, J.; Lamshoft, M.; Fetzer, I.; Miltner, A.; Schaffer, A.; Kastner, M.: Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials* **2011**, 198, 22-30.
- (75) Salari, M.; Rakhshandehroo, C.; Nikoo, M.: Degradation of ciprofloxacin antibiotic by Homogeneous Fenton oxidation: Hybrid AHP-PROMETHEE method, optimization, biodegradability improvement and identification of oxidized byproducts. *Chemosphere* **2018**, 206.
- (76) Lin, C.-C.; Wu, M.-S.: Degradation of ciprofloxacin by UV/S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>–process in a large photoreactor. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2014**, 285: 1-6.
- (77) Jjemba, P.: *Pharma-ecology : the occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in the environment*; Hoboken: John Wiley & Sons, **2008**.
- (78) Neafsey, K.; Zeng, X.; Lemley, A.: Degradation of Sulfonamides in Aqueous Solution by Membrane Anodic Fenton Treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2010**, 58.2: 1068-1076.
- (79) Zhang, Y.; Xu, J.; Zhong, Z.; Guo, C.; Li, L.; Fan, W.; Chen, Y.: Degradation of sulfonamides antibiotics in lake water and sediment. *Environmental Science and Pollution Research* **2013**, 20.4: 2372-2380.