



ALS Czech Republic

Projektové oddělení

Blanka Beňová

Přírodovědecká fakulta UK
15. 10. 2024



Analýza mikropolutantů v životním prostředí v laboratořích ALS

STRUKTURA FIRMY



ALS CZECH REPUBLIC

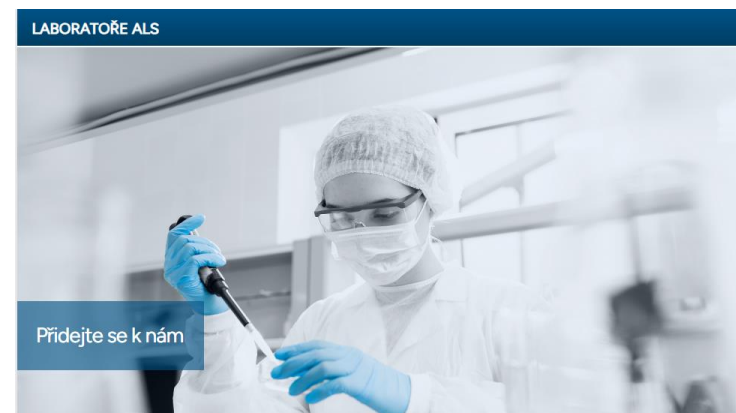
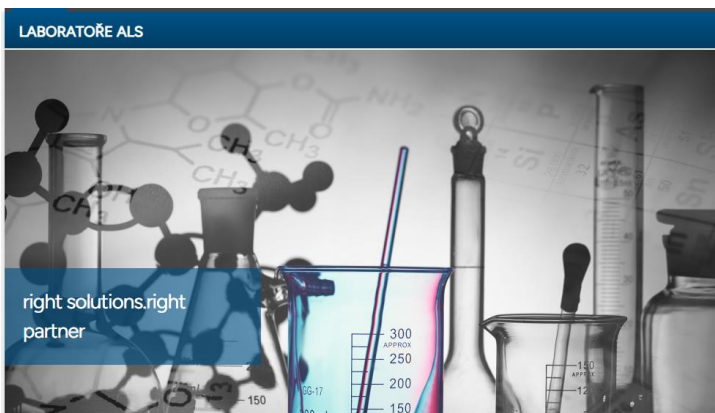
PROJEKTOVÉ
ODDĚLENÍ

ENVIRO

FOOD

PHARMA

TRIBO



LABORATOŘE ALS Praha



right solutions. right partner.



HPLC-MS analýzy na ENVIRONMENTÁLNÍ sekci

Farmaceutické látky a jejich metabolity

Pesticidy

PFAS

a celá řada dalších analytů

14 přístrojů LC-MS

- UPLC Acquity + MS/MS Xevo TQ-S/XS (Waters)
- Agilent 1290 Infinity II + 6495C Triple Quadrupole (Agilent)





INSTRUMENTACE

Waters
THE SCIENCE OF
WHAT'S POSSIBLE.®



**HPLC - UPC
KAPALINOVÝ CHROMATOGRAF**



**HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETR
MS/MS (QqQ)**

VÝVOJ LC-MS METODY - LC/MS ANALÝZA



VÝBĚR KOLONY

- typ stacionární fáze
- rozměr kolony



VÝBĚR MOBILNÍ FÁZE

- aditiva
- eluce



PARAMETRY MS DETEKCE

- tzv. ladění analytů
- podmínky MS detektoru





VÝVOJ LC-MS METODY - PŘÍPRAVA VZORKŮ

TYP MATRICE

- vody
- pevné matrice - zeminy, sedimenty, kaly
- ovzduší



ŘEDĚNÍ VZORKU A PŘÍMÝ NÁSTRĚK

- u jakých vzorků lze očekávat?



EXTRAKCE VZORKU, PŘEČIŠTĚNÍ A ZAKONCENTROVÁNÍ ANALYTŮ

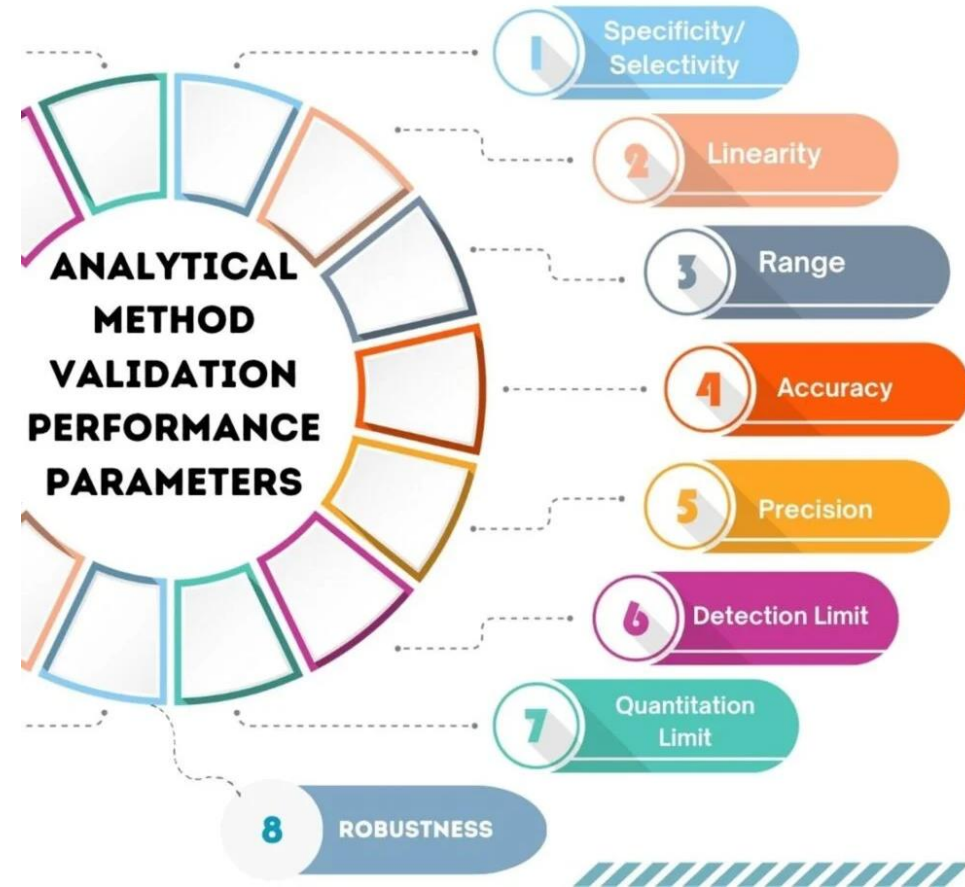
- typy extrakce
- možnosti přečištění a zakoncentrování

VÝVOJ LC-MS METODY - VALIDACE METODY



Validované parametry

- selektivita
- linearita a pracovní rozsah metody
- správnost metody
- opakovatelnost
- citlivost (LOD a LOQ)
- odhad nejistoty měření
- robustnost



MIKROPOLUTANTY

- **látky antropogenního původu**
- výskyt v nízkých koncentracích \cong mikropolutanty
- persistentní v prostředí
- mohou mít negativní dopad na všechny složky ŽP
- nejsou doposud jasně legislativně definovány

NEJČASTĚJŠÍ MIKROPOLUTANTY

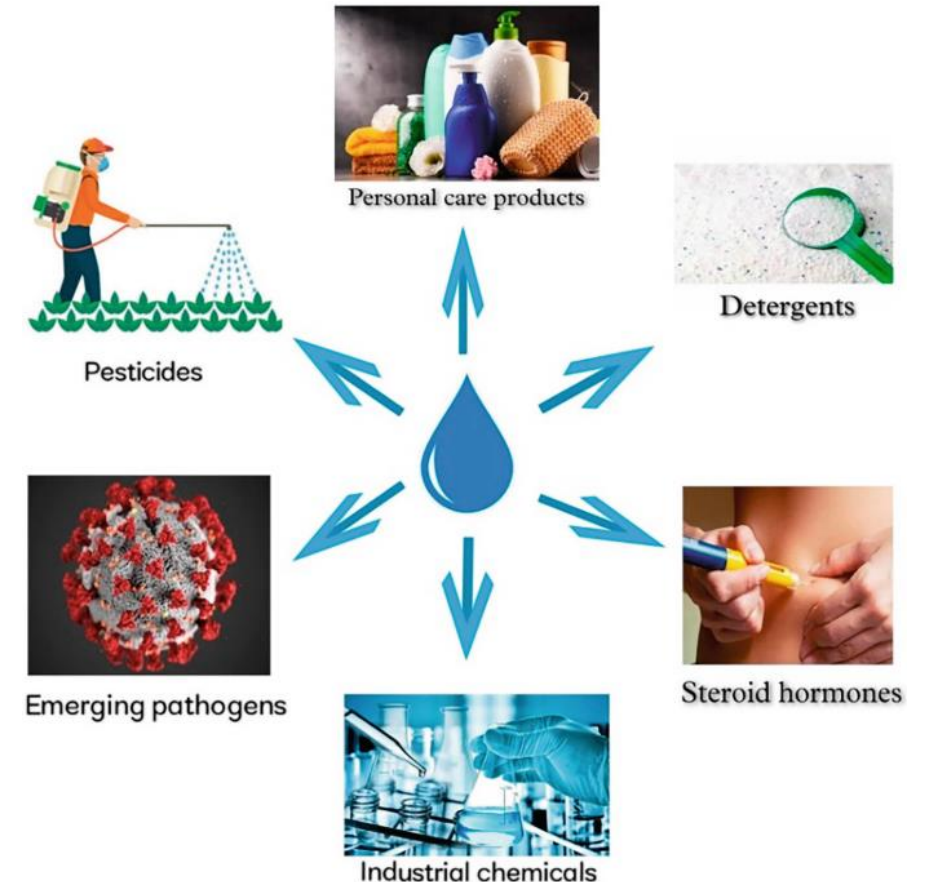
- pesticidy
- farmaka (+ drogy) a jejich metabolity
- produkty osobní péče
- per- a polyfluoroalkylované sloučeniny (PFAS)
- mikroplasty
- endokrinní disruptory (např. hormony)



MIKROPOLUTANTY V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

- představují závažný problém pro ŽP
- látky s potenciálně škodlivými dopady na ekosystém i lidské zdraví
- látky pocházející z různých zdrojů
- i přes nízké koncentrace je jejich vliv značný
- vliv zejména na vodní ekosystém (vodní organismy)
- některé mikropolutanty mohou mít vliv na kvalitu pitné vody
- přináší riziko (alergie, zdravotní obtíže, rozvoj onemocnění)

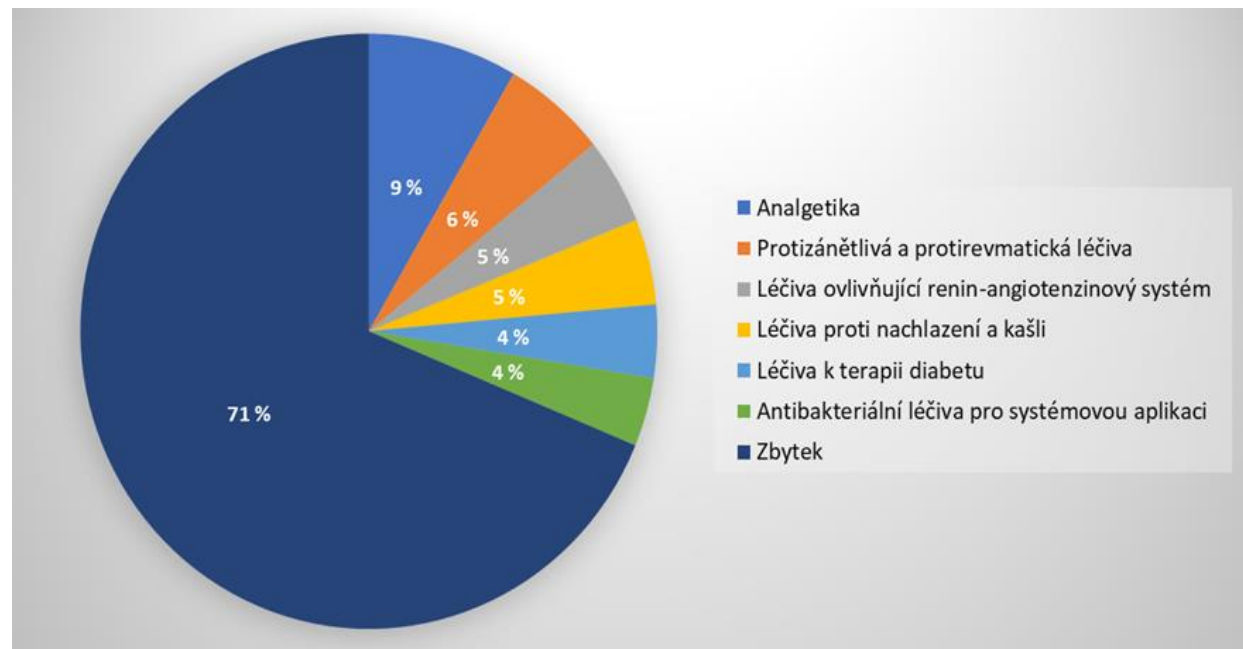
- z odpadních vod se dostávají do povrchových a podzemních vod
- snaha o implementaci nových čistírenských technologií



LÉČIVA



- syntetické chemické látky
- běžná součást života
- rezistentní vůči přirozenému rozkladu
- akumulace v životním prostředí



ZDROJ: SUKL, 2022

- spotřeba léčiv v roce 2022 (SÚKL)
- 270 mil. balení léčivých přípravků
- 2 balení na osobu/měsíc

ANALÝZA LÉČIV

PŘÍPRAVA VZORKU

- ředění vzorku je klíčové
- přidání aditiv nezbytných pro správnou analýzu
- filtrace do vialky



ANALYTICKÁ KONCOVKA

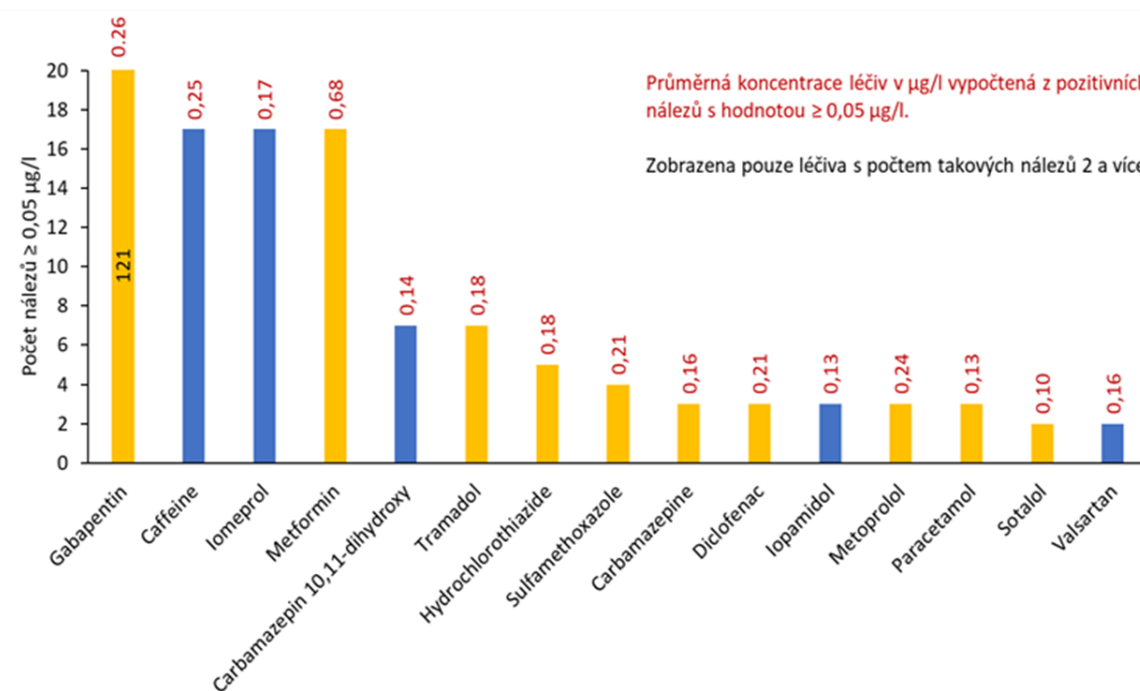
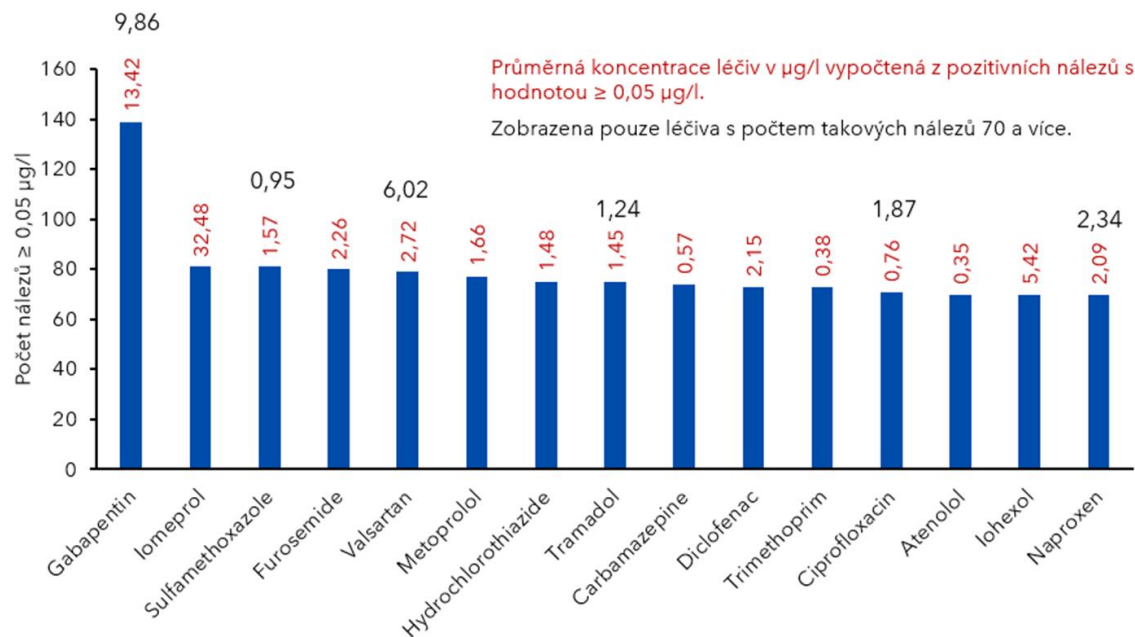
- UHPLC-MS/MS



VÝSLEDKY ANALÝZY LÉČIV



- odpadní vody a povrchové vody analyzované v letech 2020 - 2022



Žlutou barvou jsou vyznačena léčiva z indikativního seznamu pro snížení farmaceutického znečištění vodních toků, který v roce 2021 zveřejnil SFŽP ČR v rámci dotační výzvy z Norských fondů.



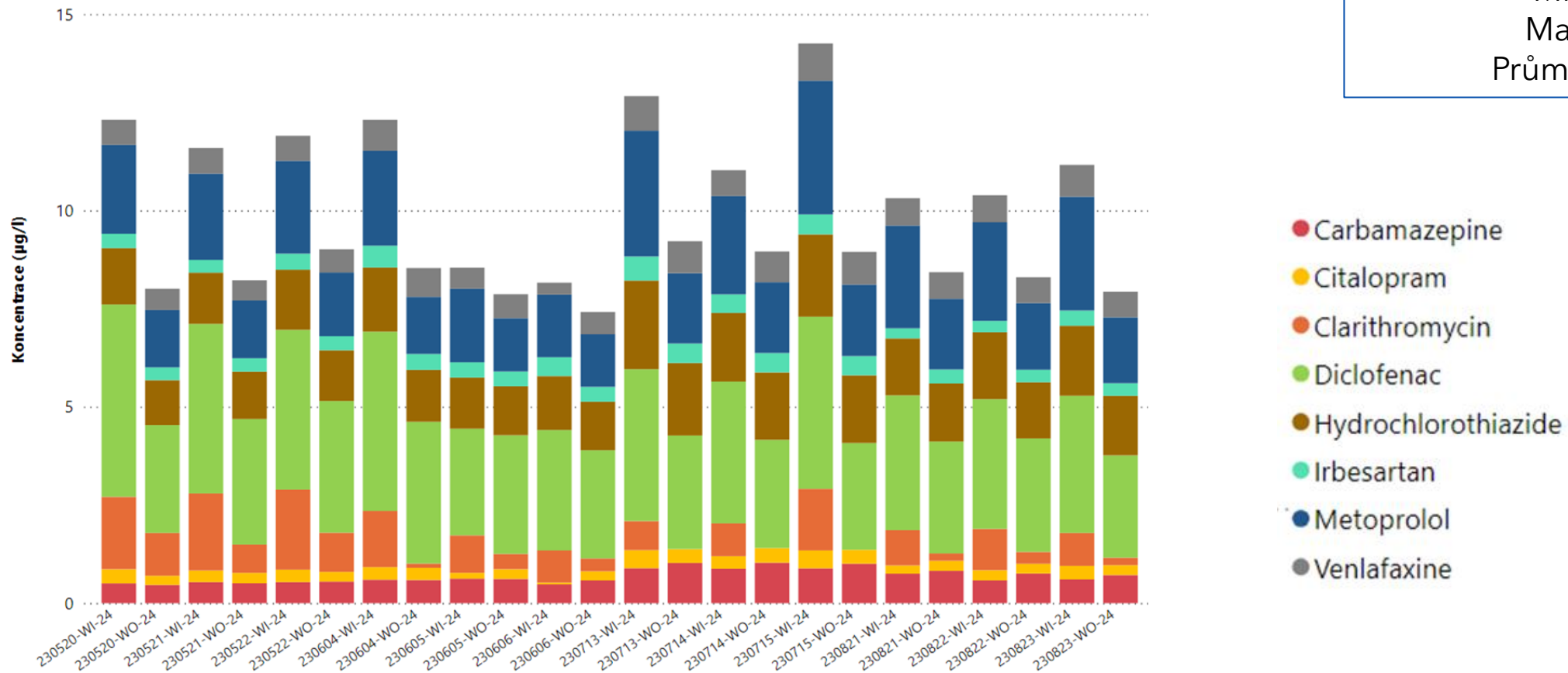
ODSTRANĚNÍ LÉČIV NA ČOV MECHANICKO-BIOLOGICKÉ ČIŠTĚNÍ

Míra odstranění

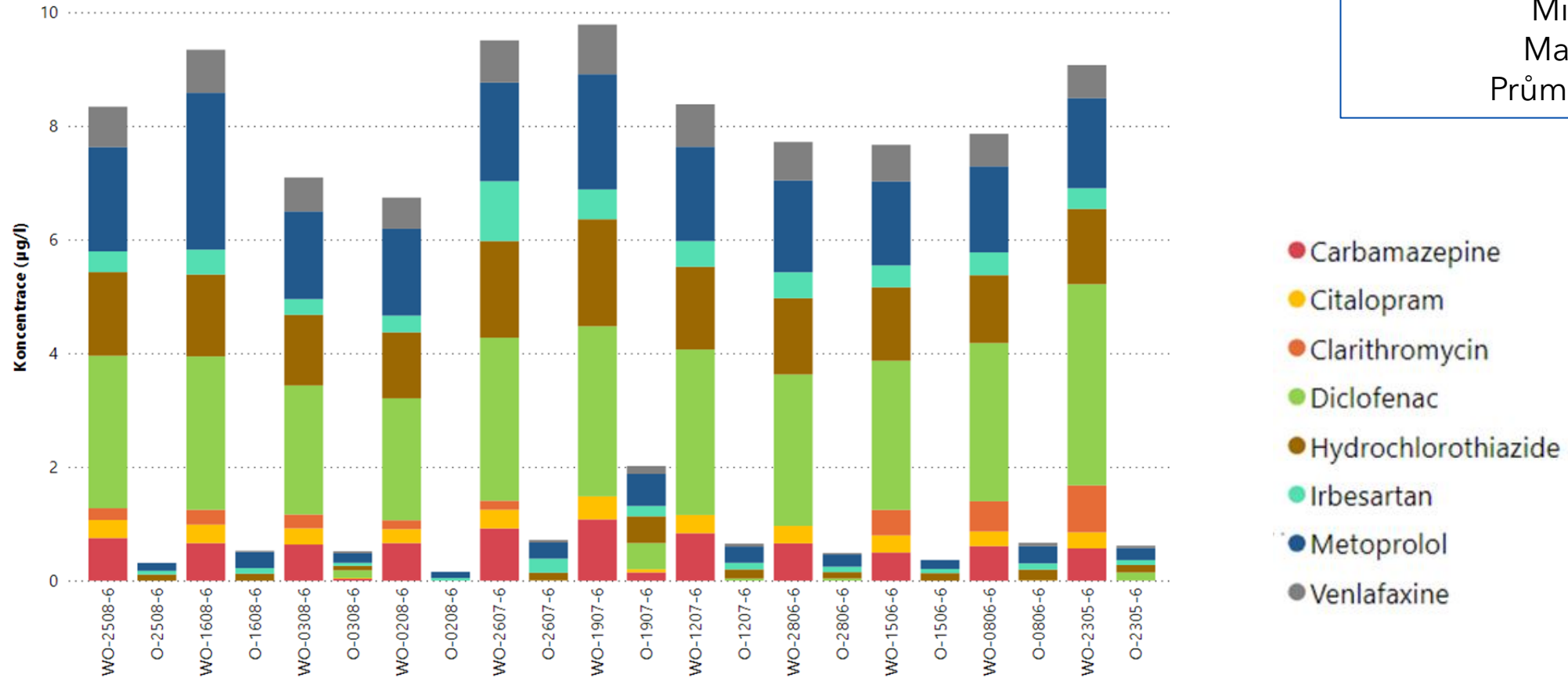
Min.: 7 %

Max.: 35 %

Průměr: 21 %



ODSTRANĚNÍ LÉČIV NA ČOV OZONIZACE

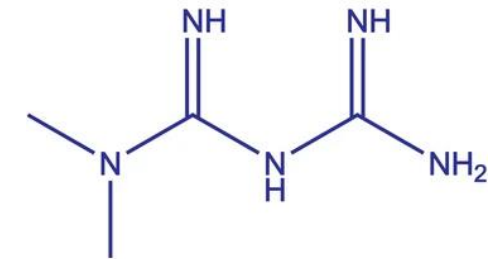


NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

METFORMIN

- léčba diabetu 2. typu
 - zejména u pacientů s nadváhou (podporuje tzv. váhovou neutralitu)
 - anti-aterosklerotické účinky
 - kardioprotektivní účinky
 - lze kombinovat i s ostatními léky i inzulínem
- obsah v odpadních vodách se pohybuje až v řádu stovek $\mu\text{g/l}$
- nalézán v povrchových vodách

Metformin ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_5$)



NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

PARACETAMOL

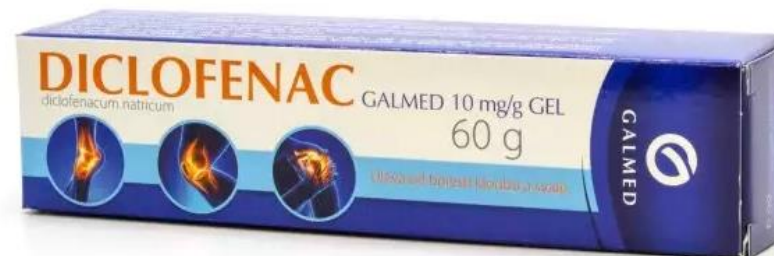
- analgetikum a antipyretikum
- schválen a běžně používán
- dostupný bez receptu např. jako:
 - Paralen, Panadol, Coldrex, Valetol, a další
- nevhodná kombinace s alkoholem
 - způsobí vznik toxinů v játrech



NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

DICLOFENAC

- nesteroidní protizánětlivé léčivo
 - léčba bolestivých poúrazových stavů s projevy otoku nebo zánětu
 - užívá se při artritidě
 - při degenerativním onemocnění kloubů a páteře
-
- gel ulevuje od bolesti, zmírňuje otok a působí protizánětlivě
 - při bolesti kloubů, vazů a svalů
 - při vymknutí či pohmoždění



NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

GABAPENTIN

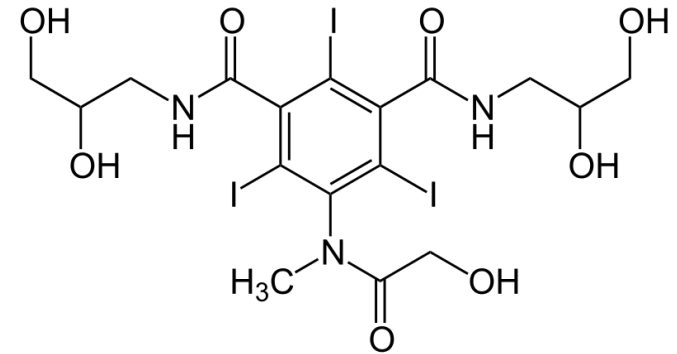
- léčba epilepsie
- léčba neuropatické bolesti
 - chronická bolest způsobená poškozením nervů
 - trvalá nebo kolísavá, pálivá bolest
 - při mírné formě se projevuje mravenčením či brněním
- tato bolest může doprovázet různá onemocnění
 - diabetes, pásový opar



NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

IOMEPROL

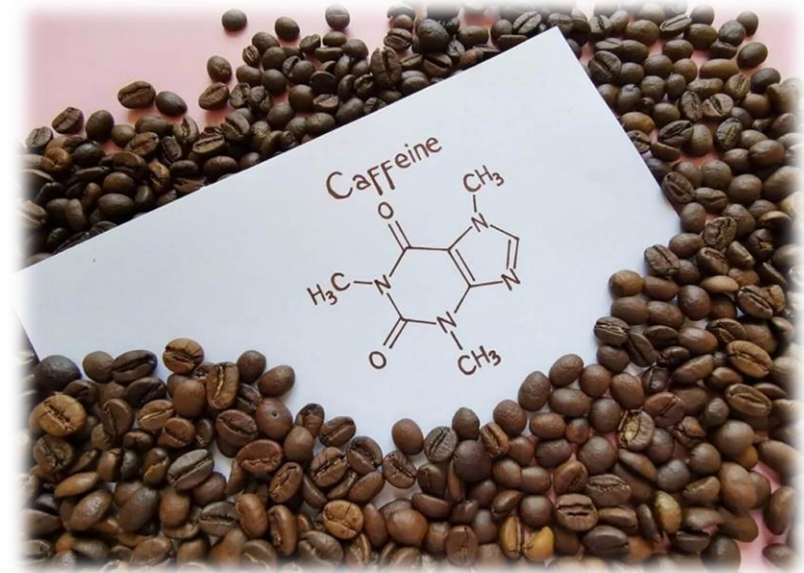
- radiokontrastní činidlo při rentgenovém zobrazování
- registrován ve více než 40 zemích po celém světě
- poskytuje dobré zobrazovací výsledky
- možné nežádoucí účinky
 - lokalizovaná bolest, pocity tepla, poruchy chuti
 - alergické reakce (zvracení, závratě, kožní reakce)
- podobné látky: **iopamidol, iohexol, iopromid**



NEJČASTĚJI ZASTOUPENÁ LÉČIVA VE VODĚ

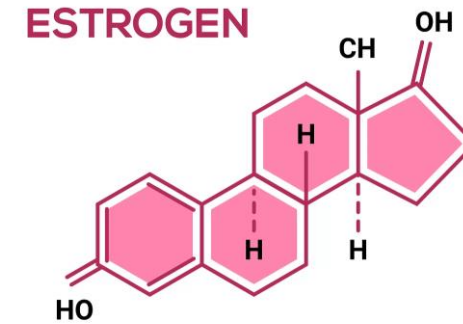
KOFEIN

- nejpoužívanější přírodní stimulant na světě
 - alkaloid povzbuzující CNS a kardiovaskulární systém
 - dočasně potlačuje únavu a probouzí bdělost
 - legální a bezpečná látka
 - schválená celosvětově
-
- časté nálezy napříč matricemi
 - až stovky µg/l



HORMONY

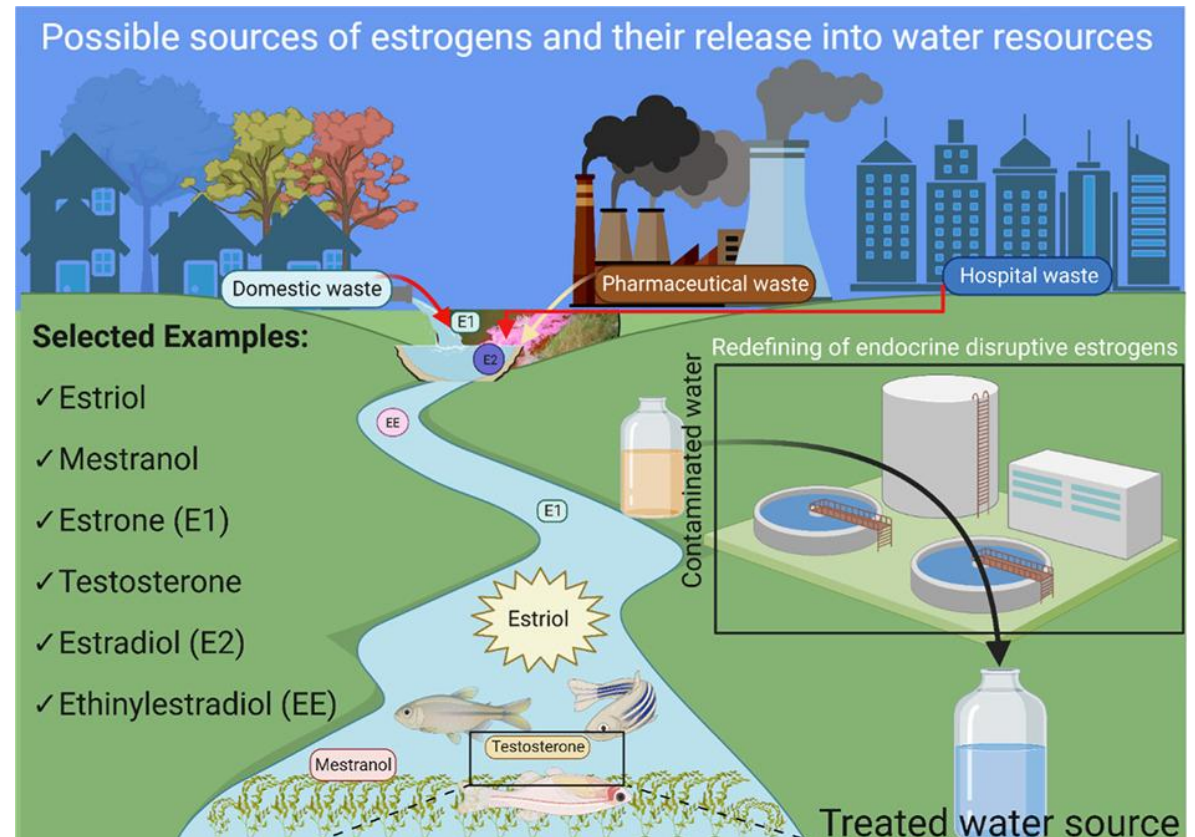
- produkty žláz s vnitřní sekrecí
- látky, které řídí činnost různých orgánů a účastní se metabolismu
- vliv na funkci mnoha tkání, především na reprodukční systém
- největší povědomí panuje o **steroidních hormonech**
- přírodní vs. syntetické



OSUD STEROIDNÍCH HORMONŮ V PROSTŘEDÍ

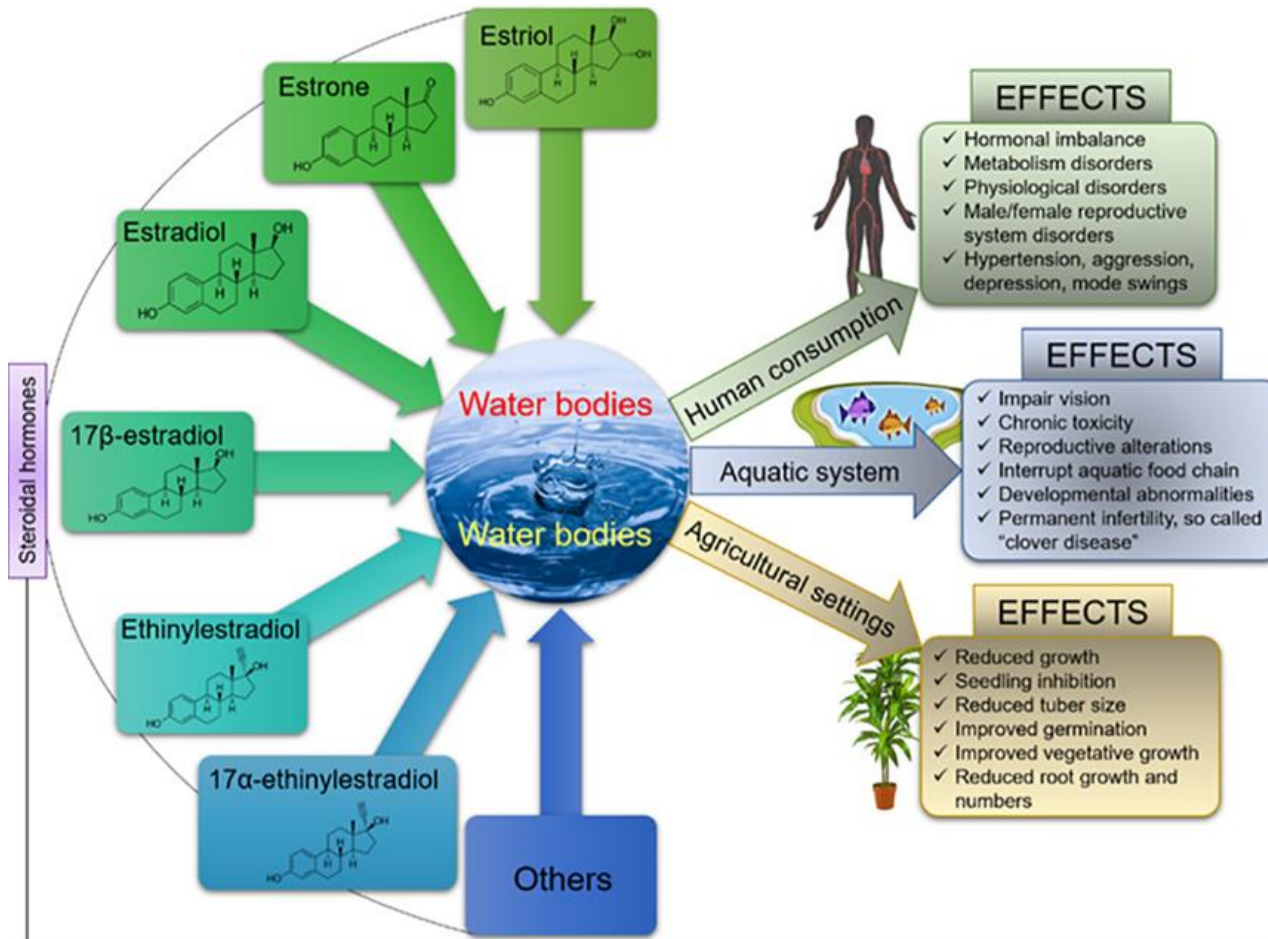


- při metabolismu v játrech vznikají rozpustné deriváty, které se vyloučí močí
- aktivní volné formy estrogenů nemusí být čistírnami odpadních vod dostatečně zachycovány a mohou se dostat do povrchových vod
- následná kontaminace podzemní vody a zdrojů pitných vod, usazování v říčních sedimentech
- zapojení do potravního řetězce
- neblahé působení na zdraví



ZDROJ: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149635>

ÚČINKY STEROIDNÍCH HORMONŮ



- hormonální nerovnováha
- metabolické a fyziologické poruchy
- problémy s rozmnožováním
- hypertenze
- poruchy nálad, agrese, deprese

- chronická toxicita
- vývoj abnormalit
- reprodukční změny
- neplodnost
- narušení vodního potravního řetězce

- zpomalení růstu
- inhibice vysemenění
- omezení růstu kořenového systému

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.025>

OPTIMALIZACE PODMÍNEK ANALÝZY LC-MS/MS



Chromatografické podmínky

Kolona: Poroshell 120 SB-AQ (150 × 3 mm; velikost částic 2,7 μm)
Mobilní fáze: 1 mM fluorid amonný a acetonitril
Průtok MF: 0.3 ml/min v gradientové eluci
Objem vzorku: testováno 10 až 50 μl
Teplota separace: 30 °C

MS podmínky

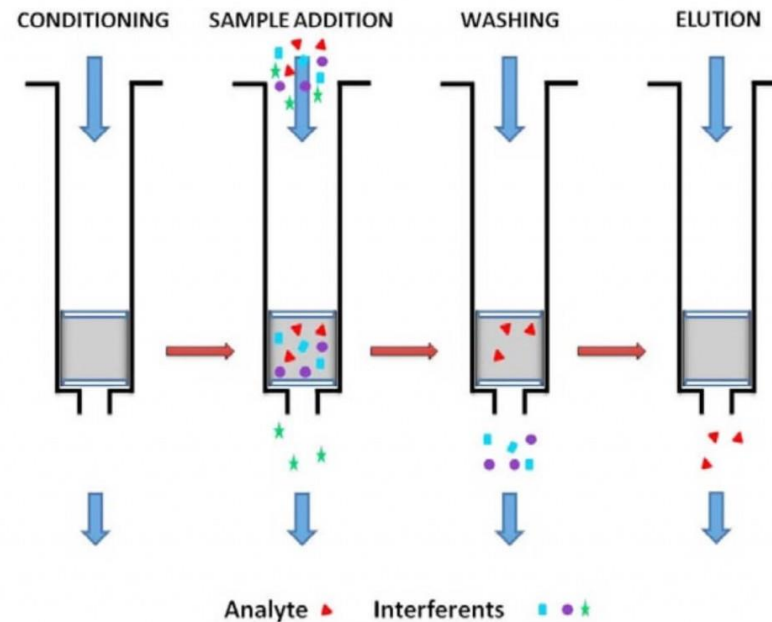
Ionizace ESI -
Gas Temperature 250 °C
Gas Flow 20 l/min.
Nebulizer 45 psi
Sheat Gas Temp 350 °C
Sheat Gas Flow 11 l/min.
Capillary Voltage - 3500 V
Nozzle Voltage 0 V neg



PŘÍPRAVA VZORKU



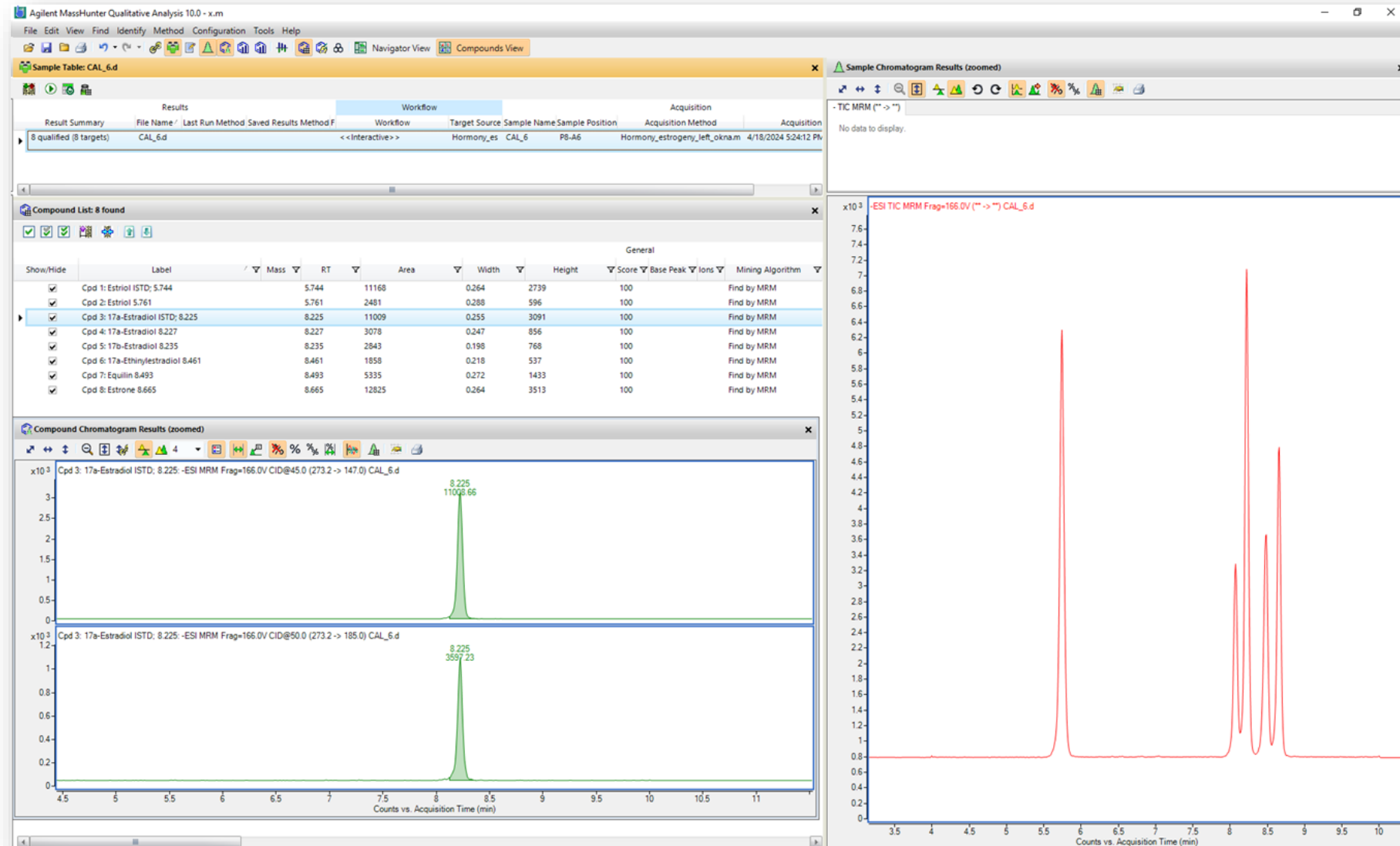
- příprava vzorku vychází z legislativně požadovaných nízkých limitů
- Solid Phase Extraction (SPE)



Schematic representation of SPE
clean-up procedure



OPTIMALIZACE PODMÍNEK ANALÝZY LC-MS/MS



CO UMÍME?



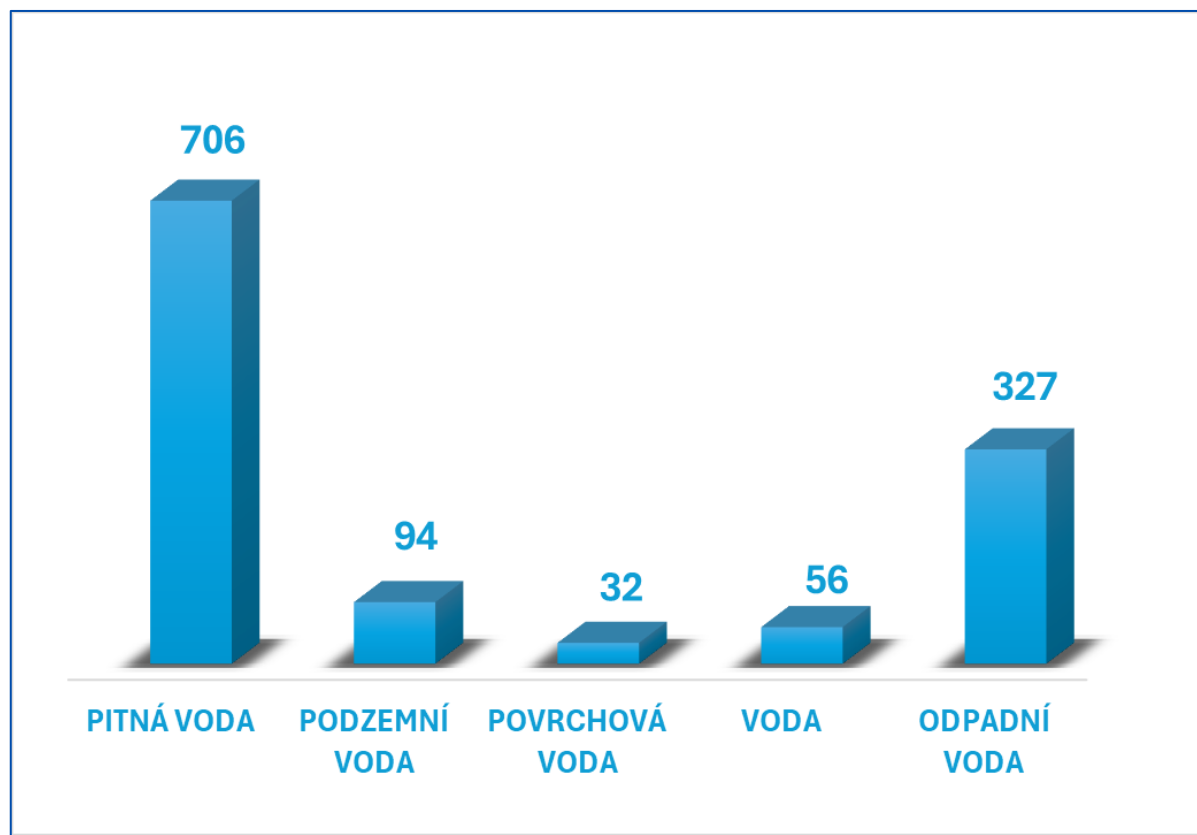
- metoda zavedena v rutinním provozu
- validované matrice
 - pitná voda, kohoutková voda, balená voda a povrchová voda
 - **limit 1 ng/l** dle aktualizace vyhlášky č. 252/2004 Sb.
- pro analýzu potřebujeme **500 ml vody ve skleněné láhvi**
- nyní se zaměřujeme na odpadní vodu



KONKRÉTNÍ ČÍSLA



- od zavedení metody (leden 2024) – dosud: **1 215 vzorků** vody



Pozitivní nálezy v **odpadní vodě**:

17 α -ESTRADIOL 10 – 20 ng/l

17 β -ESTRADIOL 15 – 140 ng/l

ESTRON 48 – 190 ng/l

ESTRIOL 275 – 550 ng/l

PFAS

- tzv. **věčné chemikálie**
- průmyslově vyráběné per- a polyfluoralkylované látky
- vysoce stabilní látky s unikátními vlastnostmi
- perzistence a bioakumulace
- nalézány napříč všemi složkami ŽP
- hromadí se v organismu a mohou vést k celé řadě onemocnění

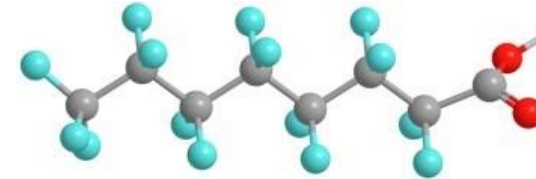
Legislativa

- od 1. 1. 2022 platí *Směrnice evropského parlamentu a rady o jakosti vody určené k lidské spotřebě* (č. 2020/2184)
- do ledna 2026 musí členské státy EU přijmou nezbytná opatření k zajištění toho, aby u vod určených k lidské spotřebě byly dodrženy hodnoty ukazatelů „PFAS celkové“ a „suma PFAS“
- „suma PFAS“ 0,1 µg/l
- „PFAS celkové“ 0,5 µg/l

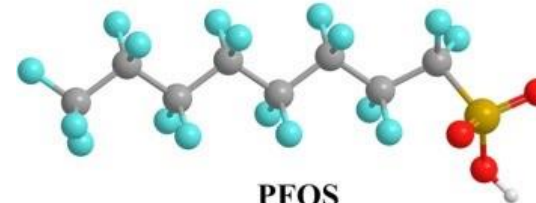


PFAS - NEJVÝZNAMĚJŠÍ ZÁSTUPCI

- PFOA perfluoroktanová kyselina
- PFOS perfluoroktansulfonát
- ostatních derivátů je popsáno cca 5000
- např. perfluoroalkylkarboxylové kyseliny
perfluoroalkylsulfonové kyseliny
perfluorované sulfonamidy



PFOA



PFOS



ANALÝZA PFAS

- přesná analýza začíná už správným odběrem vzorků
- kritickým bodem je již odběr reprezentativního vzorku
- nevhodný materiál vzorkovnice může ovlivnit výsledek stanovení / zkontaminovat vzorek
- nesmí se používat sklo
- pro analýzu vody je potřeba 250 ml vzorku
- pro analýzu půdy 50 g
- po odběru vzorek uchovat v chladu a transportovat do laboratoře



PŘÍRAVA A ANALÝZA VZORKŮ VODY

- potřebné množství vzorku se nejprve promíchá a přefiltruje
- přidá se ISTD
- následuje SPE (možnost provést i on-line verzi)
 - optimalizace toho kroku zahrnuje:
 - určení vhodného objemu vzorku, rychlost průtoku vzorku kolonkou, eluční objem
- analýza extraktu pomocí HPLC-MS
 - chromatografická kolona (po optimalizaci vybrán mixed mode)
 - mobilní fáze: 25 mM octan amonný + acetonitril
 - gradientová eluce
 - MS analýza v ESI - módu





DĚKUJI ZA POZORNOST A PTEJTE SE! 😊



Norway
grants

Projekt 3213200012

Validační testování pokročilých oxidačních procesů za účelem odstranění léčiv z odtoku ČOV

