

SOUHRN

Znalost koncentrace léčiv v životním prostředí je velice důležitá. Hlavním důvodem je to, že jsou to látky s účinkem na živý organismus a jejich fyzikálně- chemické vlastnosti jsou často podobné škodlivým xenobiotikům.

Antibiotika patří mezi nejčastěji předepisovaná léčiva. Fluorochinolonová antibiotika jsou používána k terapii i k profylaxi lidských i zvířecích onemocnění. Především k léčbě širokého spektra respiračních a enterických infekcí a infekcí močových cest. Kromě toho jsou také v subterapeutických dávkách užívány ke stimulaci růstu hospodářských zvířat.

Podstatou účinku fluorochinolonů je inhibice DNA-gyrazy. Jsou účinné proti gram-negativním i gram-pozitivním bakteriím.

Účinek fluorochinolonů je závislý na jejich chemické struktuře, nezbytná je přítomnost volné karboxylové skupiny v poloze 3 a oxoskupiny v poloze 4. Prostřednictvím těchto skupin dochází k vazbě na DNA-gyrázu. Karboxylová skupina a amino skupina určují jejich acidobazické vlastnosti. Jejich aktivita je tedy také významně závislá na pH prostředí.

25-75% podaných antibiotik je z organismu vyloučeno v nezměněné formě.

Metabolismem vznikají sloučeniny, které mohou být méně nebo více účinné než původní látka.

Část těchto sloučenin je odstraněno v čistírnách odpadních vod. Určitý podíl ale ve vodě zůstává. Tak se fluorochinolony přítomné v odpadních vodách z nemocnic, domácností a vznikajících vlivem zemědělství, včetně prasečích farem, mohou odtokem dostat do povrchových vod.

Flurochinolony jsou poměrně odolné mikrobiální degradaci a díky sorpci pak mohou setrávat v životním prostředí, především ve splaškovém kalu, v hnojivu a v půdě.

Rozsah sorpce a degradace je určen především fyzikálně chemickými vlastnostmi sloučenin jako jsou tvar a velikost molekuly, rozpustnost a lipofilita. Záleží také na kvalitě výroby, geografické poloze a klimatických podmínkách.

Tyto rezidua pak mohou negativně ovlivnit živé organismy a to na každé úrovni tzn. buňky, orgánu, organismu, populace, ekosystemu i celé ekosféry.

Nebezpečí vyplývá z jejich přímé toxicity na mikroorganismy, které jsou nezbytné pro proces čištění vody, ale také pro uzavření potravního řetězce a vzniku organických látek.

Antibiotika také mohou vyvolat u lidí alergické reakce.

Užívání těchto antibiotik je ale také spojeno s rozvojem rezistence u bakterií. Chov vepřů je považován za významný zdroj rozvoje antibakteriální rezistence a proto byly v posledních letech přijata různá kontrolní opatření pro používání antibiotik v chovu dobytka.

Cílem této práce bylo dopracovat a validovat přesnou a citlivou metodu pro stanovení fluorochinolonů v odpadních a povrchových vodách v oblasti intenzivního chovu vepřů v Portugalsku.

Ke stanovení norfloxacinu (NOR), ciprofloxacinu (CIP) a enrofloxacinu (ENRO) byla použita úspěšně vyvinutá LC-FD metoda (4) založená na použití monolitické kolony (Chromolith Performance RP-18e (100 x 4.6 mm)). Fluorochinolony byly izokraticky eluovány mobilní fází tvořenou 0,025M roztokem kyseliny fosforečné o pH 3 (dosaženo tertabutylamoniem) a methanolem (90:10 v/v). Objemový průtok byl 2,2 ml/min, hodnota excitační vlnové délky byla 278nm, emisní vlnová délka byla 450nm.

Vzorky byly odebrány z odpadních a povrchových vod v oblasti intenzivního chovu vepřů. Do použití byly uchovávány v temnu v teplotě do 4°C.

Nejprve byly zjištěny retenční časy pro standardy. Pro NOR 4,91min, CIP 5,62 min, ENRO 8,00 min.

Úprava vzorků byla provedena metodou SPE (extrakce pevným sorbentem). SPE kolony byly nejprve promyty 5ml methanolu a 5ml kyseliny citronové. Poté se nechalo perkolovat 50ml vzorku o pH 4, do kterého bylo přidáno 200mg didraselné soli EDTA. Poté se kolonka promyla 5ml kyseliny citronové a 5ml Milli-Q vody o pH 4.2. Eluce byla provedena 4ml methanolu. Tento eluát se nechal odpařit ve vodní

lázni pod slabým proudem dusíku a znovu rozpustil v 0,5 ml mobilní fáze.

Následovala závěrečná filtrace.

Pomocí roztoků standardů o koncentraci 0,1- 1 µg/ml byly sestaveny kalibrační křivky závislosti plochy píku na koncentraci. Hodnota lineárního korelačního koeficientu (R) byla ve všech třech případech vyšší než 0,998.

Mez stanovitelnosti byla 25ng/L. Výtěžek (recovery) metody je v rozmezí 66,4- 114%. Hodnota správnosti a přesnosti měření (vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka) byla nižší než 17%.

Nor byl zjištěn ve 4 vzorcích v koncentraci 0,28 µg/ml- 13,6 µg/ml, Enro ve 3 vzorcích v koncentraci 0,92 µg/ml- 2,33 µg/ml, Cip ve 2 vzorcích v koncentraci 1,8 µg/ml- 15,2 µg/ml. Přítomnost Cip je vysvětlována N-dealkylací Enro.