

**VÝZKUMNÝ ÚSTAV  
VODOHOSPODÁŘSKÝ  
T.G. MASARYKA**

veřejná výzkumná instituce

VG20122015101

**Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení  
odnosu nezákonných látek (drog) v České republice.**

**Ing. Věra Očenášková  
a řešitelský kolektiv**



VG20122015101

# **Stanovení množství nelegálních drog a jejich metabolitů v komunálních odpadních vodách – nový nástroj pro doplnění údajů o spotřebě drog v České republice**

**Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení  
odnosu (spotřeby) nezákonných látek (drog) v České republice**

Ing. Věra Očenášková

Výstup projektu

**Název a sídlo organizace:**

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i.  
Podbabská 30, 160 00 Praha 6

**Ředitel:**

Mgr. Mark Rieder

**Zadavatel:**

Ministerstvo vnitra České republiky

**Zástupce zadavatele:**

JUDr. Petr Novák, PhD.

**Zahájení a ukončení úkolu:**

2012 - 2015

**Místo uložení zprávy:**

SVTI VÚV TGM, v.v.i.

**Náměstek ředitele pro výzkumnou a odbornou činnost:**

Ing. Petr Bouška, Ph.D.

**Vedoucí odboru:**

Ing. Eva Mlejnská

**Hlavní řešitel:**

Ing. Věra Očenášková

**Hlavní řešitel subprojektu:**

**Spoluřešitelé:**

Ing. Petr Tušil, PhD., MBA

Ing. Danica Pospíchalová

Ing. Alena Svobodová

## **Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení odnosu nezákonných látek (drog) v České republice.**

### **Obsah**

1	Úvod .....	4
1.1	Nezákonné látky v odpadních vodách .....	4
2	Aplikace epidemiologického přístupu ve světě .....	4
2.1	Situace v České republice .....	4
2.2	Možnosti a omezení metodiky .....	5
3	Cíl metodiky .....	5
4	Princip .....	6
5	Odběr vzorků: .....	7
5.1	Obecné požadavky .....	7
5.2	Výběr odběrového místa .....	7
5.3	Vlastní odběr vzorků .....	7
5.4	Uchovávání vzorků .....	7
5.5	Konzervace vzorků .....	7
5.6	Pasportizace aglomerace a ČOV .....	7
5.7	Četnost odběrů .....	7
6	Analytické zpracování vzorku .....	8
6.1	Obecné požadavky na analytickou laboratoř .....	8
6.2	Minimální požadavky na analytickou metodu .....	8
7	Zpětný výpočet spotřeby nezákonné látky .....	9
7.1	Výpočet denních odnosů (spotřeby) .....	9
7.2	Odhad dlouhodobé spotřeby jednotlivých drog ve sledované lokalitě (tabulka 4): .....	9
7.3	Odhad nejistot spotřeby drog v populaci .....	10
8	Praktický příklad využití epidemiologického přístupu .....	11
9	Závěry .....	12
10	Přílohy .....	13
10.1	Příloha č. 1 .....	13
10.2	Příloha č. 2 .....	18
11	Poděkování .....	26
12	Použitá literatura .....	26

## **1 Úvod**

### **1.1 Nezákonné látky v odpadních vodách**

Ve zvláštní zprávě Evropského monitorovacího centra pro drogy a drogové závislosti (EMCDDA) z roku 2009 byl popsán obecný princip nového přístupu k monitorování a zpřesňování odhadu prevalence a užívání drog v populaci metodou epidemiologie odpadních vod.

Pomyslnými zakladateli epidemiologie odpadních vod jsou Christian G. Daughton a Thomas A. Ternes, kteří poprvé využili výsledky sledování koncentrací nezákonných drog v komunálních odpadních vodách ke zpětnému výpočtu spotřeby drog v populaci (Daughton, Ternes, 1999, Daughton 2001). Vycházeli z toho, že drogy a jejich metabolity jsou v podstatě běžnými chemickými látkami, které lze sledovat v jakémkoliv prostředí. Moderní analytické metody, zejména kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií, která se začala na přelomu tisíciletí velmi rychle rozvíjet, umožňují stanovovat různé látky i při velmi nízkých koncentracích (nanogramových i subnanogramových množstvích) v nejrůznějších matricích, včetně odpadních vody.

## **2 Aplikace epidemiologického přístupu ve světě**

V praxi výše uvedený přístup použil poprvé Zuccato et al. (2005) v povodí řeky Pád. Použití tohoto přístupu ke sledování spotřeby drog bylo v dalších letech velmi diskutováno, např. v publikacích Zuccato et al. (2006, 2008), Castiglioni et al. (2006) a nastal rychlý rozvoj dalších postupů a výzkumu v této oblasti. Epidemiologie odpadních vod byla použita např. ve Španělsku (Huerta-Fontela 2007), v Paříži a na území Francie (Nefau et al. 2013), ve Švédsku (Östman et al. 2014), v Chorvatsku v Záhřebu (Terzic et al. 2010), v Katalánii ve Španělsku (Boleda 2009), v USA ve státě New York (Subedi 2014), v Austrálii (Irvine et al. 2011) či ve Finsku (Kankaanpää 2014). Velmi zajímavá srovnávací studie proběhla v roce 2011 v 19 evropských městech (Kevin et al. 2012) a pokračování v letech 2012 a 2013 (Ort et al. 2014). Celkem bylo do studie zapojeno 42 evropských měst z 21 zemí, včetně České republiky. Epidemiologie odpadních vod se za dobu své existence stala rozvíjejícím se multidisciplinárním oborem, na kterém se podílí analytická chemie, fyziologie, biochemie, technologie odpadních vod, environmetální inženýrství i konvenční epidemiologie.

### **2.1 Situace v České republice**

V České republice byl epidemiologický přístup poprvé aplikován v rámci projektu Stanovení množství nelegálních drog a jejich metabolitů v komunálních odpadních vodách – nový nástroj pro doplnění údajů o spotřebě drog v České republice (identifikační číslo projektu VG 20122015101) se zkráceným názvem DRAGON. Tento projekt je řešen v rámci Programu bezpečnostního výzkumu České republiky v letech 2010 -2015 (BII/2 – VS) a je financovaný formou dotace z rozpočtové kapitoly Ministerstva vnitra České republiky. Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení odnosu nezákonných látek (drog) v České republice je výstupem tohoto projektu.

V průběhu projektu bylo celkem monitorováno 25 lokalit, bylo zpracováno cca 2500 vzorků odpadních vod. Ve všech analyzovaných vzorcích byly nelegální drogy a/nebo jejich metabolity nalezeny.

## **2.2 Možnosti a omezení metodiky**

Metodiku je možno aplikovat tam, kde existuje veřejná kanalizace.

Vždy je třeba zvážit etické otázky, aby při zveřejnění výsledků bylo zabráněno nežádoucí stigmatizaci sledovaných lokalit. Je třeba posoudit, zda se jedná o sledování lokality v zájmu veřejného zdraví nebo zda na základě získaných výsledků by měla být aplikována např. určitá represivní opatření.

Přesnost odhadu spotřeby drog ve sledované lokalitě může negativně ovlivnit řada faktorů, jako např. chování drog a jejich metabolitů v kanalizačním systému, rozdílný způsob metabolizace drog v souvislosti věkem, pohlavím, zdravotním stavem, délkou užívání drog, nejistoty spojené s odběrem a analýzou vzorků odpadních vod.

Při interpretaci je třeba postupovat velmi obezřetně, je třeba uvést co nejvíce skutečností, které by mohli ovlivnit výsledky – viz příloha 1, uvádět použité přepočítávací faktory. Postup má poskytnout doplňující informace k odhadům užívání nezákoných drog získaných tradičními způsoby.

Epidemiologický přístup k monitorování spotřeby drog ve společnosti je stále předmětem výzkumu, příkladem může být vývoj přepočtového faktoru pro kokain, což je látka, ke které je v současné době největší množství informací. (EMCDDA 2008)

## **3 Cíl metodiky**

Cílem metodiky je definice postupu odběru a analýzy komunálních odpadních vod a výpočet spotřeby nezákoných drog z hodnot naměřených ve sledovaných lokalitách. Při aplikaci této metodiky by měly být výsledky sledování v rozdílných lokalitách navzájem srovnatelné i v případě, že měření nebude provádět ve všech lokalitách pouze jedna laboratoř. Metodika vychází z podobných postupů aplikovaných v rámci EU. Výsledky naměřené v České republice by díky použití této navrhované metodiky měly být srovnatelné i s výsledky získanými v podobných zahraničních studiích.

Metodika může mít obecně širší využití, analýza odpadních vod může přinést nový pohled na nejrůznější aspekty veřejného zdraví (sledování spotřeby alkoholu, některých léčiv atd. Rodríguez-Álvarez, T. et al. 2015)

Metodika je určena zejména pro

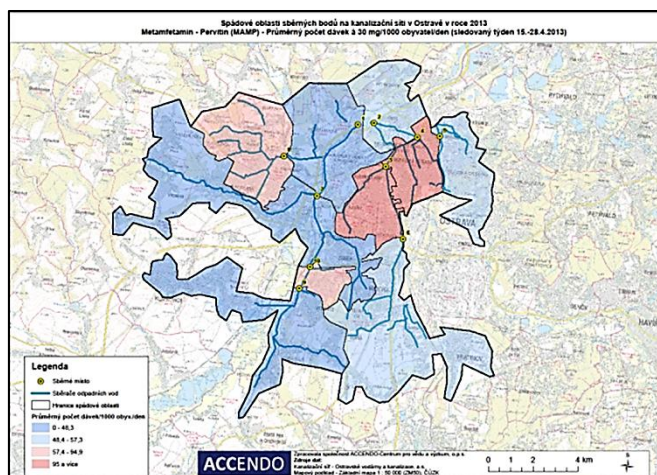
- čistírny odpadních vod,
- analytické laboratoře, které se zabývají analýzou odpadních vod

Instituce (laboratoře) pracující podle této metodiky by měly mít zavedený systém jakosti dle ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 a musí vlastnit oprávnění pro nakládání s drogami a Licenci pro nakládání s prekurzory drog dle platné legislativy.

Výsledky získané pomocí navrhované metodiky mají sloužit níže uvedeným institucím

- Národní monitorovací centrum pro drogy a drogové závislosti
- Národní protidrogová centrála a Policie ČR
- instituce zabývající se drogovou problematikou na lokální, krajské či národní úrovni

jako podpůrný a doplňující nástroj pro sledování spotřeby drog v určité lokalitě. Prostřednictvím této metody lze sledovat trendy ve spotřebě jednotlivých drog – meziroční, roční nebo týdenní a dobře identifikovat místa s jejich zvýšenou spotřebou. Na tato místa pak lze zacílit preventivní opatření, cílenou osvětu atd. Příklad zpracování získaných výsledků do mapového výstupu je na obr. 1.



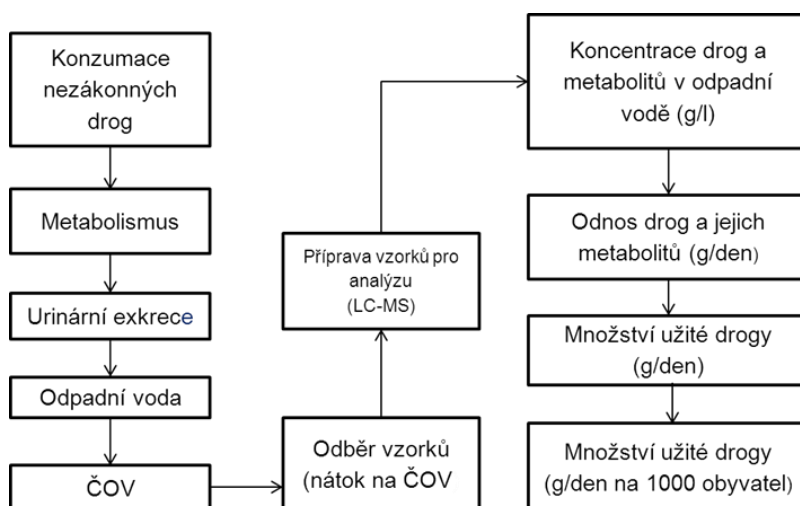
Zdroj: datové podklady VÚV TGM, v.v.i., zpracování do mapy: ACCENDO o.p.s.

**Obrázek 1: Spotřeba metamfetaminu v jednotlivých spádových oblastech v Ostravě**

#### 4 Princip

Ve vybraném odběrovém místě se odebere nejlépe pomocí automatického odběrového zařízení 24-hodinový slévaný vzorek. Alikvotní část vzorku se převede do vhodné vzorkovnice a dopraví co nejdříve po odběru do příslušné laboratoře. Vzorek se uchovává v chladu (4 °C) a temnu do vlastního stanovení, které se provede nejdéle do 72 hodin po odběru. Pokud to není možné, vzorek se zamrazí a až do zpracování se uchovává při -20 °C. Výsledek analýzy (koncentraci sledované látky) se použije ke zpětné kalkulaci, ze které se zjistí spotřeba jednotlivých látek v dané oblasti za dané období. Pro porovnání jednotlivých lokalit se výsledky vyjádří ve spotřebě látky za časové období na počet obyvatel (např. v g/den/1000 obyv.). Schematické znázornění je na obr. 2.

#### Schematický přehled epidemiologického přístupu



**Obrázek. 2: Schematické znázornění epidemiologického principu**

*Odnos drog a jejich metabolitů – údaj o množství drog (v nezměněné podobě) a jejich metabolitů (např. v gramech), které proteklo za časovou jednotku (den) sledovaným odběrovým místem.*

## **5 Odběr vzorků:**

### **5.1 Obecné požadavky**

Při odběru vzorků je nutno dodržovat principy odběru vzorků dle aktuálních norem pro odběr vzorků (ČSN EN ISO 5667). Odběry vzorků provádí vždy kvalifikovaná osoba, která je oprávněna provádět odběry komunálních odpadních vod. Veškeré pomůcky použité při odběrech musí být z materiálu, který nemůže negativně ovlivnit analýzu vzorku (např. sorpce na povrchu vzorkovnic atd.), nejčastěji sklo, nerez, případně vhodný plast (polypropylen PP). Při odběrech je nutno dodržovat pravidla BOZP.

Při odběrech ve velmi malých lokalitách (např. školy, sportovní zařízení, atd.) je nutné zvážit etické hledisko.

Při odběrech vzorků vod se postupuje podle plánu vzorkování.

### **5.2 Výběr odběrového místa**

Vzorky komunální odpadní vody se odebírají nejčastěji na přítoku na ČOV, po odstranění hrubých nečistot. Pokud je cílem sledování např. část městské aglomerace, provádí se odběry i na uzlových bodech kanalizační sítě. V odběrovém místě by mělo být možno umístit automatické odběrové zařízení a měřit průtok odpadní vody.

### **5.3 Vlastní odběr vzorků**

K odběru se používá vhodné automatické odběrové zařízení pro odběr 24-hodinového slévaného vzorku (např. přenosný přístroj pro odběr vzorků odpadních vod SC900/900Max) V místě odběru se zároveň měří průtok komunální odpadní vody. K analýze se použije alikvótní část zhomogenizovaného vzorku, která se převede do vhodné vzorkovnice (sklo, polypropylen (PP)). Velikost vzorkovnice se řídí objemem vzorku, který je potřebný k analýze.

Vzorkování je možno provádět i manuálně – např. pravidelné odběry v předem určených intervalech po dobu 24 hodin a slitím všech takto odebraných dílčích vzorků. Takto odebraný slévaný vzorek se po homogenizaci zpracovává stejným způsobem jako vzorek odebraný automatickým odběrovým zařízením.

### **5.4 Uchovávání vzorků**

Vzorky se uchovávají v chladu (4 °C) a temnu. Pokud nelze vzorek analyzovat do 72 hodin po odběru, vzorek se zmrazí a do vlastní analýzy se skladuje při -20 °C.

Odběr vzorků se zaznamená do odběrového protokolu.

### **5.5 Konzervace vzorků**

Vzorky se nekonzervují.

### **5.6 Pasportizace aglomerace a ČOV**

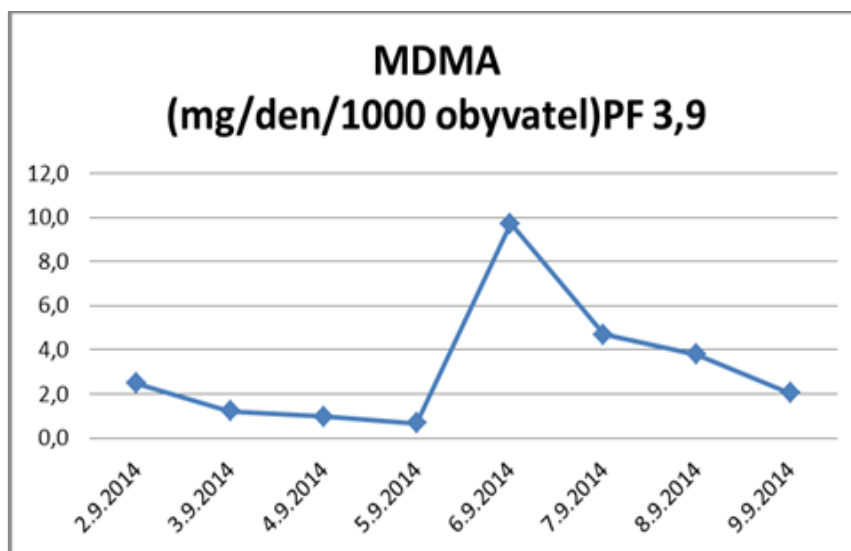
Informace o sledované aglomeraci a příslušné ČOV se zaznamenávají do formuláře Pasportizace aglomerace a ČOV, viz příloha 1. Informace uvedené ve formuláři upřesňují podmínky, za jakých byly vzorky odebírány.

### **5.7 Četnost odběrů**

Četnost odběru se řídí účelem, pro který se monitoring komunálních vod provádí. Pokud je cílem zjistit krátkodobou spotřebu nezákoných látek ve sledované lokalitě (denní, týdenní), vzorky se



odebírají po celou dobu sledování. V případě dlouhodobého sledování spotřeby drog a odhadu spotřeby ve sledované lokalitě, je třeba zorganizovat několik odběrových kampaní. Např. pro odhad spotřeby drog za jeden rok, je vhodné realizovat alespoň čtyři kampaně rovnoměrně pokrývající celé sledované období. Monitorovací kampaň by měla být týdenní, začátek odběrů úterý nebo středa. Některé z drog jsou aplikovány rekreačně, tj. zejména o víkendech, proto je vhodné, aby celý víkend (odběry v sobotu, neděli a pondělí) byl součástí jedné odběrové kampaně. (Příklad viz obr. 3)



Zdroj: data VÚV TGM, v.v.i.

Obrázek 3: Graf spotřeby MDMA (extáze) ve sledované lokalitě v průběhu týdenní monitorovací kampaně

Pokud se jedná o monitorování dlouhodobé (např. půl roku nebo rok), mohou se odběry provádět také jeden víkendový den a jeden pracovní den (např. neděle a čtvrtek) po celé sledované období.

## 6 Analytické zpracování vzorku

### 6.1 Obecné požadavky na analytickou laboratoř

Laboratoř, ve které jsou prováděny rozborů vody pro stanovení nelegálních drog, musí mít dostatečné zkušenosti s analýzou odpadních vod, musí být nositelem oprávnění pro nakládání s drogami a licence pro nakládání s prekurzory drog podle platné legislativy (Zákon č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů v aktuálním znění a zákon č. 272/2013 Sb. o prekurzorech drog v aktuálním znění) a musí mít zavedený vhodný laboratorní systém (např. LabSys), který zajišťuje identifikaci jednotlivých vzorků a minimalizuje možnost jejich záměny.

### 6.2 Minimální požadavky na analytickou metodu

K analýze vzorku se použije zvalidovaná analytická metoda, která umožňuje stanovení sledovaných látek v nanogramovém množství až subnanogramovém množství. (jednotky až desetiny nanogramů) s dostatečnou přesností a správností. Nejčastěji se jedná o kapalinovou chromatografii ve spojení s hmotnostní detekcí. Příklad vhodné analytické metody je uveden v příloze 2.

## 7 Zpětný výpočet spotřeby nezákoné látky

### 7.1 Výpočet denních odnosů (spotřeby)

Ke zpětnému výpočtu se použije následující vzorec

$$\text{Spotřeba (g/den)} = M \text{ (ng/l)} \times \text{průtok (l/den)} \times PF \times 10^{-9} \quad (1)$$

kde:

**spotřeba** = denní spotřeba zvolené drogy;

**M** = koncentrace látky (metabolitu dané drogy, případně drogy nezměněné), ze které výpočet vychází; stanovené v odebraném vzorku (např. na nátoku na ČOV)

**průtok** = průtok odpadní vody v odběrovém místě (např. na nátoku na ČOV) za den;

**PF** = přepočítávací faktor (někdy též korekční faktor KF), který se stanoví jako poměr molekulárních hmotností zvolené drogy a specifické látky (metabolitu nebo nezměněné drogy) násobený průměrnou procentuální metabolizací drogy na zvolený metabolit, příp. nemetabolizaci - prochází-li droga tělem částečně nezměněna.

Příklady přepočítávacích (korekčních) faktorů jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Přepočítávací (korekční) faktory

Sloučenina	Přepočítávací faktor	Zdroj
MDMA (extáze)	1,5	Postigo, C. et al. (2010):Environment International 36, 75–84
	3.9	Van Nuits, A.L.N. et al (2011) Environment International 37, 612–621
AMP (amfetamin)	3,3	Postigo, C. et al. (2010):Environment International 36, 75–84
MAMP (methamfetamin)	2,3	Postigo, C. et al. (2010):Environment International 36, 75–84
benzoylgonin	2,77	Reid, J. M. et al. (2011): Norsk Epidemiologi 21 (1): 15-23
	2.3	Van Nuits, A.L.N. et al (2011) Environment International 37, 612–621

Přepočítávací faktory se mohou lišit podle jednotlivých literárních zdrojů. Aby bylo možno výsledky získané tímto postupem (metodikou) porovnávat, je třeba **vždy** uvést hodnotu použitého faktoru.

### 7.2 Odhad dlouhodobé spotřeby jednotlivých drog ve sledované lokalitě (tabulka 4):

Pro odhad spotřeby za delší období se použije následující vzorec.

$$\text{Roční spotřeba (g)} = \text{spotřeba}_p \text{ (g/den)} \times \text{počet pracovních dní} + \text{spotřeba}_v \text{ (g/den)} \times \text{počet víkendových dní}$$

(2)

kde:

**spotřeba<sub>p</sub>** = průměrná spotřeba sledované drogy v pracovních dnech (pondělí až čtvrtek)

**spotřeba<sub>v</sub>** = průměrná spotřeba sledované drogy o víkendových dnech (pátek až neděle)

### 7.3 Odhad nejistot spotřeby drog v populaci

Problematiku nejistot při odhadu spotřeby drog ve sledované populaci řeší řada autorů, např. Thomann 2008, Orth et al. 2010a, 2010b, Lai et al. 2011, O'Brien et al. 2014. Hlavními zdroji nejistot při výše uvedeném výpočtu jsou: Nejistota odběru vzorku, nejistota počtu připojených obyvatel, nejistota analytického měření a nejistota měření průtoku odpadní vody. Pro odhad celkové nejistoty se použije vzorec (Ort et al. 2014)

$$U_{celk} = \sqrt{\left(\frac{U_{vz}}{\sqrt{n}}\right)^2 + U_c^2 + U_{pr}^2 + U_{po}^2}$$

(3)

Kde:

$U_{celk}$	celková nejistota
$U_{vz}$	nejistota vzorkování
$U_c$	nejistota chemické analýzy
$U_{pr}$	nejistota měření průtoku
$U_{po}$	nejistota počtu připojených obyvatel
$n$	počet vzorkovacích dnů

## 8 Praktický příklad využití epidemiologického přístupu.

### Týdenní sledování spotřeby extáze v lokalitě A.

V lokalitě A proběhla týdenní monitorovací kampaň. Každý den byl odebrán slévaný 24-hodinový vzorek, jehož část byla použita ke stanovení sledovaných látek (nezákoných drog). V odběrovém místě byl měřen průtok komunální odpadní vody. Vzorek byl analyticky zpracován (filtrace, přidavek vnitřních standardů, on-line SPE-LC-MS/MS) a výsledky byly zaznamenány (příklad výsledků je uveden v tabulce A.

**Tabulka A: Záznam výsledků měření a výpočtu denní spotřeby sledované látky**

Lokalita	Datum odb. (zahájení)	Počet obyvatel	Průtok m <sup>3</sup> /den	MDMA (ng/l)	MDMA (mg/den)	MDMA * 3,9(PF) (mg MDMA/den)
A	2.9.2014	58737	35795	1,04	37,23	145,2
A	3.9.2014	58737	20530	0,89	18,31	71,4
A	4.9.2014	58737	13230	1,10	14,55	56,8
A	5.9.2014	58737	12035	0,83	9,99	39,0
A	6.9.2014	58737	10835	13,50	146,27	570,5
A	7.9.2014	58737	10475	6,74	70,60	275,3
A	8.9.2014	58737	9880	5,76	56,91	221,9
A	9.9.2014	58737	10225	2,98	30,47	118,8

Zdroj: data VÚV TGM, v.v.i.

Naměřené hodnoty byly použity ke zpětnému výpočtu spotřeby drog podle vzorce (1)

Prostým součtem denních spotřeb ve sledované lokalitě se získá údaj o spotřebě nezákoných drog za sledované období. Pro odhad spotřeby za delší období se použije následující postup (tabulka B):

- Výpočet průměrné spotřeby o pracovních dnech - odběry úterý až pátek (*spotřeba<sub>p</sub>*)
- Výpočet průměrné spotřeby o víkendech - odběry sobota až pondělí (*spotřeba<sub>v</sub>*)

**Tabulka B: Spotřeba monitorované látky za sledované období a výpočty pro následné odhady roční spotřeby.**

<b>Celkem za sledované období (mg)</b>	<b>1499</b>
průměrná spotřeba o víkendových dnech (mg)	356
průměrná spotřeba v pracovních dnech (mg)	86

Výpočty v tabulce vycházejí z údajů v tab. A.

**Odhad roční spotřeby ve sledované lokalitě (tabulka C):**

K výpočtu odhadu spotřeby monitorované látky ve sledované lokalitě byl použit vzorec (2).

**Tabulka C: Odhad roční spotřeby monitorované látky ve sledované lokalitě**

<b>Odhad roční spotřeby</b>	
odhad spotřeby o víkendových dnech (mg)	55 523
odhad spotřeby v pracovních dnech (mg)	18 022
celkem za rok (mg)	73 545
<b>celkem za rok (g)</b>	<b>74</b>

Výpočty v tabulce vycházejí z údajů v tab. A a B.

Pro porovnání spotřeby drog v různých lokalitách je vhodné výsledek vyjadřovat jako spotřebu sledované látky např. na 1000 obyvatel, na 1000 obyvatel určité věkové skupiny apod.

## 9 Závěry

Předložená metodika neřeší legislativní opatření. Sledované látky nepatří mezi kontrolované ukazatele přípustného znečištění odpadních vod (Např. Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, Nařízení vlády č. 143/2012 Sb., o postupu pro určování znečištění odpadních vod, provádění odečtů množství znečištění a měření objemu vypouštěných odpadních vod do povrchových vod, Zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích) a řadě souvisejících prováděcích vyhlášek.) a je teprve otázkou dalšího vývoje zda budou spolu s dalšími látkami prokazatelně se vyskytujícími v odpadních vodách a majících dopad na životní prostředí mezi sledované ukazatele zařazeny.

## 10 Přílohy

### 10.1 Příloha č. 1

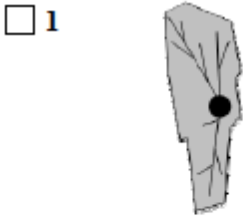
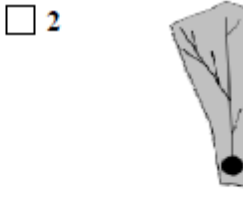
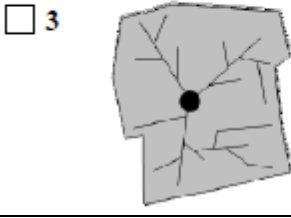
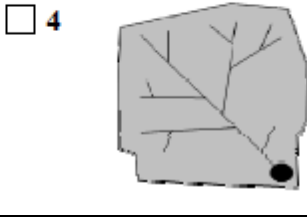
#### Pasportizace aglomerace a ČOV – formulář dotazníku

Při tvorbě formuláře (dotazníku) jsme vycházeli z literárních podkladů (Ort, CH. et al., 2014). Byl konzultován s pracovníky ČOV a upraven na podmínky v ČR.

Vysvětlivky	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Pro vyhodnocení ČOV a příslušného kanalizačního systému jsou všechny požadované informace využitelné. Nejsou požadovány žádné informace, které by dále nebyly používány při vyhodnocení výsledků sledování.</li> <li>Důležitost požadovaných informací má následující stupně priority: <ul style="list-style-type: none"> <li>**** odpovědi je nutné vyplnit pro zajištění základního hodnocení;</li> <li>*** odpovědi jsou velmi důležité pro vyhodnocení;</li> <li>** odpovědi jsou důležité pro následné modelování situace a kontrolu;</li> <li>* odpovědi jsou doplňkové a slouží pro kompletní analýzu.</li> </ul> </li> <li>Číslování jednotlivých otázek a informací umožňuje další hromadné zpracování dat ve formátu excel souboru.</li> </ul>	

1. Všeobecné informace	
<b>Lokalita a název</b>	****
1.1. Stát	
1.2. Město	
1.3. Název ČOV	
<b>Email adresa na osobu, která zpracovala dotazník</b>	****
1.4.	
<b>Datum vyplnění dotazníku</b>	****
1.5.	
<b>Kontaktní informace - ČOV</b>	*
1.6. Jméno kontaktní osoby	
1.7. Telefon	
1.8. email	

2. Informace o spádové oblasti ČOV	
<b>Odhadovaný počet napojených obyvatel na ČOV</b>	****
2.1. Současný počet napojených obyvatel na ČOV (odhad)	
2.2. K jakému roku byl odhad proveden	
2.3. Projektovaná kapacita ČOV (EO)	
2.4. Současná provozovaná kapacita ČOV (EO)	
2.5. Průměrný denní průtok (m <sup>3</sup> /den)	

2.6. Podíl průmyslových odpadních vod na celkovém množství odpadních vod (% objemu odpadních vod)	
<b>Lze zaznamenat významný rozdíl mezi pracovními dny a víkendovým režimem?</b>	<b>***</b>
2.7. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
Jestliže vyplníte „ANO“ můžete kvantifikovat (odhad) nárůst (+) nebo pokles (-) počtu napojených obyvatel v pracovních dnech v porovnání s víkendovými dny:	
2.8. <input type="checkbox"/> nárůst (+) <input type="checkbox"/> pokles (-)	
<b>Jaký tvar má povodí kanalizační sítě napojené na městskou ČOV (vyberte z následujících příkladů)</b>	<b>*</b>
2.10. Příklad tvaru povodí kanalizační sítě (černá tečka je centrální ČOV)	
<input type="checkbox"/> 1  <input type="checkbox"/> 2  <input type="checkbox"/> 3  <input type="checkbox"/> 4 	
2.11. Digitální mapa kanalizační sítě ve formátu GIS je poskytnuta jako samostatná příloha. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	<b>**</b>
Nemocniční zařízení s lůžkovou částí připojené na kanalizační síť	<b>**</b>
2.12. Počet nemocnic napojených na kanalizační síť	
2.13. Celkový počet lůžek napojených nemocničních zařízení	

<b>3. Kanalizační síť</b>	
<b>Typ kanalizační sítě</b>	<b>*</b>
Oddílná kanalizace <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
3.1. Podíl gravitační (% celkové délky sítě)	
3.2. Podíl tlaková (% celkové délky sítě)	
Jednotná kanalizace <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
3.3. Podíl gravitační (% celkové délky sítě)	
3.4. Podíl tlaková (% celkové délky sítě)	
<b>Počet čerpacích stanic v kanalizační síti</b>	<b>****</b>
3.5.	
<b>Přítomnost a množství balastních vod v kanalizační síti</b>	<b>****</b>
3.6. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
3.7. Jestliže ano, pak uveďte odhad (% celkového objemu odpadních vod)	

<b>Délka kanalizační sítě</b>	<b>**</b>
3.8. Nejkratší kanalizační sběrač (km)	
3.8a. Průměrná dotoková doba (hodiny)	
3.9. Nejdelší kanalizační sběrač (km)	
3.9a. Průměrná dotoková doba (hodiny)	
<b>Ostatní zařízení v kanalizační síti (např. čerpací stanice, retenční nádrže apod.)</b>	<b>***</b>
3.11. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
3.12. Pokud ano, uveďte druh a počet zařízení.	
3.13. Je možné, že doba zdržení mimo kanalizační síť např. v retenčních nádržích je větší než 24 hodin? <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	

<b>4. Přítok na ČOV během vzorkovací kampaně</b>	
<b>Charakteristika způsobu měření průtoku na přítoku na ČOV.</b>	<b>***</b>
4.1. Stručný popis typu a způsobu měření průtoku na přítoku na ČOV.	
<b>Odpadní voda je čerpána na přítoku do ČOV?</b>	<b>***</b>
4.2. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
Jestliže uvedete „Ano“, v jakém režimu je čerpání provozováno?	<b>**</b>
4.3. Nepřetržitě <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
4.4. Přerušovaně <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
4.5. Kapacita nádrže/nádrží, ze které/ kterých je odpadní voda čerpána (m <sup>3</sup> )	
<b>Je možné přiložit soubor s měsíčním záznamem průtoku na přítoku do ČOV.</b>	<b>***</b>
4.6. Data s podrobným časovým rozlišením průtoku (interval 1-5 minut) jsou přiložena jako samostatná příloha dotazníku. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
4.7. Časový interval sběru dat na přítoku (minuty)	
V případě, že není přiložen soubor s podrobnými údaji, uveďte následující informace pro průměrný denní režim v bezsrážkovém období:	<b>****</b>
4.8. Celkový objem odpadních vod (m <sup>3</sup> /den)	
4.9. Minimální průtok (l/s)	
4.10. Maximální průtok (l/s)	
4.11. Maximální průtok během případných srážkových událostí (l/s)	<b>**</b>
<b>Jaký je měřen průtok na přítoku na ČOV (lze vyplnit i více odpovědí)</b>	<b>***</b>
4.12. <input type="checkbox"/> v otevřeném kanálu	
4.13. <input type="checkbox"/> v potrubí	



4.14. <input type="checkbox"/> v Parshallově nebo Venturiho žlabu	
4.15. <input type="checkbox"/> měření výšky hladiny ultrazvukovým snímačem	
4.16. <input type="checkbox"/> měření výšky hladiny a rychlosti průtoku	
4.17. <input type="checkbox"/> jiný způsob měření průtoku, uveďte stručný popis:	
<b>Kalibrace průtokoměru</b>	
4.18. Interval kalibrace měření průtoku (měsíce)	****
4.19. Kalibrační metoda (specifikujte)	****
4.20. Přesnost měření udávaná výrobcem průtokoměru (nejistota měření v %)	**
4.21. Přesnost měření v reálných podmínkách provozu (nejistota měření v %)	****
4.22. Je přiložen protokol z poslední kalibrace průtokoměru? <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	***

<b>5. Odběry vzorků surové odpadní vody na přítoku do ČOV</b>	
<b>Lokalizace místa odběru vzorků na přítoku na ČOV</b>	
Specifikace místa odběru vzorků na přítoku na ČOV. 5.1. <input type="checkbox"/> odběr vzorků za jemnými česlemi 5.2. <input type="checkbox"/> odběr vzorků za lapákem písku a šterku 5.3. <input type="checkbox"/> jiné místo odběru vzorků, prosím specifikujte:	****
5.4. Součástí příloh formuláře je schéma technologie ČOV (samostatný soubor) <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	*
<b>Vzorkovací zařízení</b>	
5.5. Výrobce vzorkovacího zařízení	*
5.6. Typ vzorkovacího zařízení	*
5.7. Je zajištěno chlazení odběrné nádoby <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	****
5.8. Počet odběrných nádob (vzorkovnic) používaných při vzorkování	**
5.9. Celková kapacita vzorkovacího zařízení (litry)	**
5.10. Doba odebíraných slévaných vzorků (nejčastěji 24 hod.)	****
5.11. Materiál vzorkovacích nádob	***
<b>Typ odebíraných vzorků</b>	
5.12. <input type="checkbox"/> Slévaný vzorek časově proporcionální	
5.13. <input type="checkbox"/> Slévaný vzorek objemově proporcionální	
5.14. <input type="checkbox"/> Slévaný vzorek průtokově proporcionální	
5.15. <input type="checkbox"/> Manuálně odebírané vzorky (počet vzorků za den)	
5.16. Jiný způsob odběru vzorků, stručně popište:	

<b>Časový interval odběru vzorků</b>	<b>****</b>
5.17. Časově nebo průtokově proporcionální vzorek (minuty)	
5.18. Objemově proporcionální vzorek (m <sup>3</sup> )	

<b>6. Vzorkovací kampaň</b>	
Čas výměny vzorkovnic pro 24-hod. odběry vzorků	<b>****</b>
6.1. Čas (např. každý den v 6:00)	
Časový interval měření průtoku v době vzorkovací kampaně	<b>****</b>
6.2. <input type="checkbox"/> 24 hod. interval přesně odpovídající době odběru vzorků	
6.3. <input type="checkbox"/> od půlnoci do půlnoci před vzorkovací kampaní	
6.4. <input type="checkbox"/> od půlnoci do půlnoci v den odběru vzorků v rámci kampaně	
Došlo k nějaké výrazné změně během vzorkovací kampaně na kanalizační síti? (Jedná se zejména o případy, kdy jsou některé odpadní vody z různých důvodů a v různých časových obdobích během roku odvedeny mimo kanalizační síť).	<b>****</b>
6.5. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
6.6. Pokud odpovíte „Ano“, uveďte stručný popis situace:	
Došlo během vzorkovací kampaně k nějakým mimořádným událostem (např. období školních prázdnin, festivaly, mimořádné hromadné společenské nebo kulturní akce apod.)	<b>****</b>
6.7. <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
6.8. Pokud odpovíte „Ano“, uveďte stručný popis situace, včetně doby konání akce:	
Informace a záznamy o průtoku během vzorkovací kampaně	<b>****</b>
6.9. Celkový průtok během vzorkovací kampaně (m <sup>3</sup> /den)	
6.10. Časový interval odečítání průtoků (minuty)	
6.11. Je přiložen soubor s podrobnými daty o průtoku na přítoku na ČOV během vzorkovací kampaně? <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
Manipulace se vzorky a zpracování vzorků odpadních vod (vyplní příslušná laboratoř)	<b>****</b>
6.12. Doba skladování vzorků před analýzou (hodiny, dny)	
6.13. Teplota skladování vzorků v ledničce (°C)	
6.14. Filtrace na místě před transportem vzorků do laboratoře <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
6.15. Filtrace v laboratoři <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
6.16. Velikost pórů filtru (µm)	
6.17. Materiál a typ filtru	
6.18. Konzervace vzorku v místě odběru <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	
6.19. Konzervace vzorku před skladováním v laboratoři <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Ne	

## 10.2 Příloha č. 2

### Příklad vhodné analytické metody

#### Stanovení vybraných nezákoných drog a/nebo jejich metabolitů v odpadních vodách metodou on-line-SPE-LC-MS/MS

##### Předmět postupu

Postup popisuje stanovení vybraných nezákoných drog a/nebo jejich metabolitů v odpadních vodách. Podkladem pro postup byla metoda prezentovaná Postigo et al. 2008.

##### Oblast použití

Metoda je vhodná pro stanovení vybraných nezákoných drog a/nebo jejich metabolitů a dalších látek v odpadních vodách: amfetamin (AMP), metamfetamin (MAMP), extáze (MDMA), heroin (HER), hydrolyzovaný produkt heroinu 6-acetylmorfin (6ACM), morfin (MOR), LSD, metabolit LSD 2-oxo-3-hydroxy-LSD (OH-LSD), kokain (CO) a jeho dva metabolity: kokaethylen (COE) a benzoylecgonin (BE), metabolit tetrahydrocannabinolu (THC) 11-nor-9-karboxy-delta-9-THC (nor-THC), buprenorfin (BUP), metadon (MET) a jeho metabolit EDDP, efedrin-hydrochlorid (EPH), pseudoefedrin (PS-EPH) a tramadol (TRAM).

Vlastní analytické stanovení lze použít i pro další typy vod, např. povrchové.

##### Rušivé vlivy

Při zpracování odpadních vod se může výrazně projevit matriční efekt.

##### Charakteristiky postupu

*Pracovní rozsah:* LOQ – 500 ng/l (pro výše uvedené látky kromě nor-THC)

LOQ – 300 ng/l (pro nor-THC)

*Linearita:* metoda je v celém pracovním rozsahu lineární

*Mez detekce (LOD):* v odpadních vodách se meze detekce (LOD) pohybují od 0,3 ng/l do 2,1 ng/l podle dané látky. V UHQ (ultra high quality – ultra čistá) vodě se meze detekce (LOD) pohybují od 0,01 ng/l do 0,09 ng/l podle dané látky.

*Meze stanovitelnosti (LOQ):* v odpadních vodách se meze stanovitelnosti (LOQ) pohybují od 0,9 ng/l do 6,2 ng/l pro jednotlivé látky. V UHQ vodě se meze stanovitelnosti (LOQ) pohybují od 0,04 ng/l do 0,3 ng/l pro jednotlivé látky.

Meze detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ) byly experimentálně stanoveny z on-line analýzy spikované vody jako koncentrace analytu, pro kterou je poměr signál/šum rovný 3 resp. 10. Opakovatelnost metody byla vypočítána jako relativní směrodatná odchylka (RSD) šesti opakování analýzy vody s přidavkem směsi standardů o výsledné koncentraci 50 ng/l.

Výše uvedené parametry včetně relativní směrodatné odchylky (RSD) pro jednotlivé látky jsou uvedeny v tabulce 1 (UHQ voda) a tabulce 2 (odpadní vody)

*Nejistota měření:* 30 %

Tabulka 1: UHQ voda - kontrolní parametry analytické metody: LOD, LOQ a RSD (n=6, 50ng/l)

Analyt	LOD	LOQ	RSD
	[ng/l]	[ng/l]	%
CO	0,01	0,04	2,3
BE	0,02	0,06	3,8
COE	0,02	0,05	2,3
AMP	0,09	0,30	4,0
MAMP	0,04	0,09	1,2
MDMA	0,03	0,09	1,1
HER	0,06	0,20	3,6
MOR	0,05	0,20	1,2
LSD	0,01	0,02	4,6
PH	0,04	0,15	1,0
MET	0,05	0,16	1,4
EDDP	0,08	0,25	1,6
6ACM	0,06	0,19	5,4
BUP	0,07	0,22	3,7
OH-LSD	0,08	0,25	2,4
TRAM	0,09	0,30	5,9
nor-THC	0,07	0,2	6,6

Tabulka 2: Odpadní voda - kontrolní parametry analytické metody: LOD, LOQ a RSD (n=6, 50ng/l)

Analyt	LOD	LOQ	RSD
	[ng/l]	[ng/l]	%
CO	0,8	2,5	4,5
BE	1,8	5,3	6,0
COE	0,3	0,9	4,6
AMP	0,4	1,1	10,5
MAMP	0,3	0,9	5,6
MDMA	1,0	3,0	8,0
HER	0,8	2,3	10,2
MOR	2,1	6,2	6,3
LSD	0,3	0,9	7,2
EPH	0,8	2,4	2,5
MET	0,9	2,6	3,7
EDDP	1,0	3,1	4,9
6ACM	1,8	5,5	5,4
BUP	0,9	2,9	5,1
OH-LSD	0,9	2,7	6,0
TRAM	1,2	3,5	9,5
nor-THC	0,5	1,3	7,8

### Podstata zkoušky

Odebraný vzorek se přefiltruje přes vhodný filtr a po přidavku interních (vnitřních) standardů se analyzuje metodou on-line SPE- LC-MS/MS. Jednotlivé látky se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů a shodnosti poměru intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v kalibračním roztoku. Kvantifikace se provádí na základě hodnot vypočtených pomocí kalibračních křivek metodou kalibrace s interními standardy (deuterované standardy sledovaných látek).

### Chemikálie

K analýzám byly použity roztoky standardů a deuterovaných vnitřních standardů od firmy Cerilliant Corporation (USA), jejich přehled je uveden v tabulce 3.

**Tabulka 3: Přehled standardů a deuterovaných standardů (Základní roztoky)**

Analyt	CAS	Základní	Rozpouštědlo
kokain (CO)	50-36-2	1 mg/ml	ACN
benzoylecgonin (BE)	519-09-5	1 mg/ml	MeOH
kokaethylen (COE)	529-38-4	1 mg/ml	ACN
amfetamin (AMP)	300-62-9	1 mg/ml	MeOH
metamfetamin (MAMP)	4846-07-5	1 mg/ml	MeOH
3,4-methylen-dioxy-metamfetamin (MDMA)	42542-10-9	1 mg/ml	MeOH
heroin (HER)	561-27-3	1 mg/ml	ACN
morfin (MOR)	57-27-2	1 mg/ml	MeOH
diethylamid kyseliny lysergové (LSD)	50-37-3	1 mg/ml	ACN
metadon (MET)	76-99-3	1 mg/ml	MeOH
buprenorfin (BUP)	52485-79-7	1 mg/ml	MeOH
pseudoefedrin (PS-EPH)	321-97-1	1 mg/ml	MeOH
efedrin-hydrochlorid (EPH)	24221-86-1	1 mg/ml	MeOH
2-ethyliden-1,5-dimethyl-3,3-difenylypyrolidin (EDDP)	66729-78-0	1 mg/ml	MeOH
morfin-3beta-D-glukuronid (M3G)	20290-09-9	100 µg/ml	MeOH/H <sub>2</sub> O
morfin 6beta-D-glukuronid (M6G)	20290-10-2	100 µg/ml	MeOH/H <sub>2</sub> O
diethylamid kys. 2-oxo-3-hydroxy-lysergové (OH-LSD)	111295-09-1	100 µg/ml	ACN
6-acetylmorfin (6ACM)	2784-73-8	1 mg/ml	ACN
cis-Tramadol (TRAM)	22204-88-2	1 mg/ml	MeOH
11-nor-9-karboxy-delta-9-THC (nor-THC)	56354-06-4	1 mg/ml	MeOH
kokain-D3 (CO-D3)	65266-73-1	1 mg/ml	ACN
kokaethylen-D3 (COE-D3)	136765-30-5	100 µg/ml	ACN
LSD-D3	136765-38-3	25 µg/ml	ACN
amfetamin-D5 (AMP-D5)	300-62-9	1 mg/ml	MeOH
metamfetamin-D14 (MAMP-D14)	362044-12-0	1 mg/ml	MeOH
MDMA-D5	136765-43-0	1 mg/ml	MeOH
heroin-D9 (HER-D9)	1338713-49-	1 mg/ml	ACN
morfin-D3 (MOR-D3)	67293-88-3	1 mg/ml	MeOH
benzoylecgonin-D8 (BE-D8)	205446-21-5	1 mg/ml	MeOH
buprenorfin-D4	136781-89-0	1 mg/ml	MeOH
efedrin-D3	285979-73-9	1 mg/ml	MeOH

metadon-D3	60263-63-0	1 mg/ml	MeOH
EDDP-D3	136765-23-6	1 mg/ml	MeOH
11-nor-9-karboxy-delta-9-THC-D9 (nor-THC-D9)	136765-52-1	1 mg/ml	MeOH
morfin-3beta-D-glukuronid-D3 (M3G-D3)	136765-44-1	100 µg/ml	MeOH/H <sub>2</sub> O

ACN – acetonitril, MeOH - methanol

Pracovní roztoky jednotlivých analytů se připraví naředěním v tabulce 3 uvedených základních roztoků odpovídajícím rozpouštědlem tak, aby výsledná koncentrace byla 10 µg/ml.

Směsný pracovní roztok (v ACN) pro přípravu kalibračních roztoků se připraví z pracovních roztoků jednotlivých analytů tak, aby výsledná koncentrace každého analytu v směsném roztoku byla 500 ng/ml. Ředěním směsného pracovního roztoku se připraví pracovní kalibrační roztoky (v ACN) drog, které se používají pro kalibraci a průběžnou kontrolu účinnosti chromatografické separace.

Pracovní kalibrační roztoky se připravují vždy čerstvé.

Obdobně se připraví z deuterovaných analytů směsný pracovní roztok vnitřních standardů (ISTD) o koncentraci 1 ng/µl, který se přidává ke každému vzorku před analýzou.

Všechny roztoky standardů se uchovávají v temnu při teplotě -20°C.

K přípravě roztoků sledovaných látek, modelových vzorků a mobilní fáze se použije ultračistá voda (UHQ), připravená přístrojem Milli Q® Gradient A10 (Millipore) v kvalitě pro LC-MS (ultra high quality - UHQ), acetonitril a methanol pro LC-MS, kyselina mravenčí (Suprapur), ledová kyselina octová (Suprapur) a octan amonný p.a. (vše od firmy Merck) a mravenčan amonný p.a. (Fluka).

### Přístroje a zařízení

Kapalinový chromatograf Agilent 1200 RR s binárním čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplrem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems–Sciex 4000 Q Trap s trojitým kvadrupólem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem.

Autosampler GX-271 Aspec (Gilson)

SPE kolona: Hypersil Gold 20 x 2,1 mm, 12 µm (Thermo Scientific)

Předkolona: Security guard cartridge AQC18 4 x 20 mm (Phenomenex)

Analytická kolona: Synergi Hydro – RP80A (150 x 2,00 mm, 4 µm) (Phenomenex)

Další běžné vybavení laboratoře: laboratorní sklo, analytické váhy a předvážky, filtrační zařízení

### Odběr a příprava vzorků k analýze

Vzorky se odebírají do čistých vzorkovnic z vhodného materiálu (sklo, polypropylen (PP)) K analýze se použije alikvotní část vzorku.

*Konzervace vzorku:* bez konzervace

*Uchovávání vzorku:* Po odběru se vzorky uchovávají v chladu a temnu při teplotě do 4 °C. Pokud nelze vzorek analyzovat do 72 hodin po odběru, vzorek se zmrazí a do vlastní analýzy se skladuje při -20 °C.

*Filtrace:* Před vlastním stanovením se odstraní ze vzorku pevné částice filtrací přes nylonové membránové filtry o porozitě 0,45 µm. Po přidavku směsného roztoku vnitřních standardů je vzorek připraven k LS-MS/MS analýze s on-line SPE prekoncentrací.

### Provedení zkoušky

LC/MS/MS analýza se provádí na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 RR s binárním čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplerem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems–Sciex 4000 Q Trap s trojitým kvadrupólem a elektrosprejem jako iontovým zdrojem. Většina výše uvedených analytů se stanovuje v pozitivním modu (ESI+), pouze 11-nor-9-karboxy-delta-9-THC (nor-THC) v negativním modu (ESI-).

### On-line SPE prekoncentrace

On-line prekoncentrace vzorků se provádí na koloně Hypersil Gold 20 x 2,1 mm, 12 µm (Thermo Scientific), na kterou se pomocí autosampleru GX-271 Aspec (Gilson) vloží 5 ml vzorku průtokem 0,5 ml/min. Po vložení vzorku se kolonka promyje 1 ml UHQ vody pro dokončení transferu vzorku na kolonu a odstranění interferencí. Eluce analytů na chromatografickou kolonu se provádí mobilní fází používanou k chromatografické separaci jejím průtokem koncentrační kolonkou v protisměru (vzhledem k nanášení vzorku).

### Chromatografická separace v ESI + modu

Ke stanovení se použije kapalinová chromatografie na koloně Synergi Hydro – RP80A (150 x 2,00 mm, 4 µm). Průtok mobilní fáze je 300 µl/min a objem nástřiku na on-line SPE 5 ml.

K chromatografické separaci látek detekovaných v pozitivním modu (ESI+) se použije mobilní fáze voda s 5 mM NH<sub>4</sub>COOH (A)/acetonitril s 0,1 % CH<sub>3</sub>COOH (B) v gradientové eluci:

Čas	Mobilní fáze A	Mobilní fáze B
0	98	2
1	98	2
11	2	98
13	2	98
17	98	2
35	98	2

### Hmotnostní detekce elektrosprejem v pozitivním modu (ESI+)

Použité přechody k hmotnostní detekci v MRM (multiple reaction monitoring) modu uvádí tabulka 4.

### Chromatografická separace v ESI - modu

Ke stanovení se použije kapalinová chromatografie na koloně Synergi Hydro – RP80A (150 x 2,00 mm, 4 µm). Průtok mobilní fáze je 300 µl/min a objem nástřiku na on-line SPE 5ml.

K chromatografické separaci látek detekovaných v negativním modu (ESI-), tj. 11-nor-9-karboxy-delta-9-THC (nor-THC) se použije mobilní fáze voda s 0,1 % HCOOH (A)/methanol s 0,1 % H<sub>3</sub>COOH (B) v gradientové eluci:

Čas	Mobilní fáze A	Mobilní fáze B
0	98	2
3	10	90
9	0	100
12	0	100
14	98	2
16	98	2

### Hmotnostní detekce elektrospřejem v negativním modu (ESI-)

Použité přechody k hmotnostní detekci uvádí tabulka 4.

**Tabulka 4: Vybrané diagnostické ionty používané při stanovení**

Analyt	MRM přechody (m/z)		DP (V)	EP (V)	CE (V)	CX (V)
	Q1	Q3				
AMP-D5	141,2	123,9	41	10	13	8
AMP	136,2	91,1	41	10	21	6
	136,2	119,1	41	10	13	8
CO-D3	307,3	185,1	66	10	27	14
Kokain CO	304,3	182,2	71	10	27	14
	304,3	77,0	71	10	75	4
BE - D8	298,3	171,0	66	10	29	12
BE	290,3	168,2	66	10	29	12
	290,3	77,2	66	10	81	4
MAMP-D14	164,3	98,0	46	10	27	6
MAMP	150,2	91,1	46	10	25	6
	150,2	119,0	46	10	15	8
COE - D3	321,3	199,2	66	10	29	14
COE	318,3	196,2	71	10	29	14
	318,3	77,2	71	10	83	4
LSD-D3	327,3	226,1	66	10	33	16
LSD	324,3	208,1	66	10	41	14
	324,3	223,1	66	10	33	16
HER-D9	379,4	272,1	106	10	39	20
HER	370,3	268,3	101	10	43	20
	370,3	165,0	101	10	63	10
MDMA -D5	199,2	135,0	51	10	29	10
MDMA	194,2	163,1	51	10	17	12
	194,2	105,1	51	10	33	6
MOR -D3	289,2	152,0	81	10	87	6
MOR	286,2	152,1	91	10	77	10
	286,2	128,1	91	10	81	8
6ACM	328,3	165,1	81	10	51	12
	328,3	211,1	81	10	37	12
BUP – D4	472,4	400,4	121	10	55	28
BUP	468,4	396,1	96	10	57	28
	468,4	414,5	96	10	49	32
EDDP - D	281,4	234,2	86	10	33	18
EDDP	278,3	234,2	86	10	43	16
	278,3	249,1	86	10	33	18
EPH – D3	169,2	151,2	36	10	17	10
EPH	166,2	148,2	36	10	17	10
	166,2	117,0	36	10	27	8
MET –D3	313,4	268,2	56	10	21	20



MET	310,4	265,2	46	10	21	20
	310,4	105,1	46	10	39	6
OH - LSD	356,3	237,0	76	10	35	16
	356,3	222,1	76	10	49	16
PS-EPH	166,2	148,2	36	10	17	10
	166,2	117,0	36	10	27	8
TRAM	264,4	58,1	56	10	45	8
	264,4	246,2	56	10	15	20
M3G	462,3	286,2	96	10	43	20
	462,3	201,2	96	10	59	14
M3G – D3	465,3	289,1	91	10	45	14
M6G	462,3	286,2	91	10	47	20
	462,3	201,3	91	10	63	14
nor-THC – D9	352,3	308,4	-90	-10	-30	-7
nor-THC	345,4	299,3	-85	-10	-28	-7
	345,4	193,1	-85	-10	-40	-13

Q1.....prekurzor

Q3.....produktový ion

DP.....deklastrační potenciál

EP.....vstupní potenciál

CE.....kolizní energie

CX.....výstupní potenciál na kolizní cele

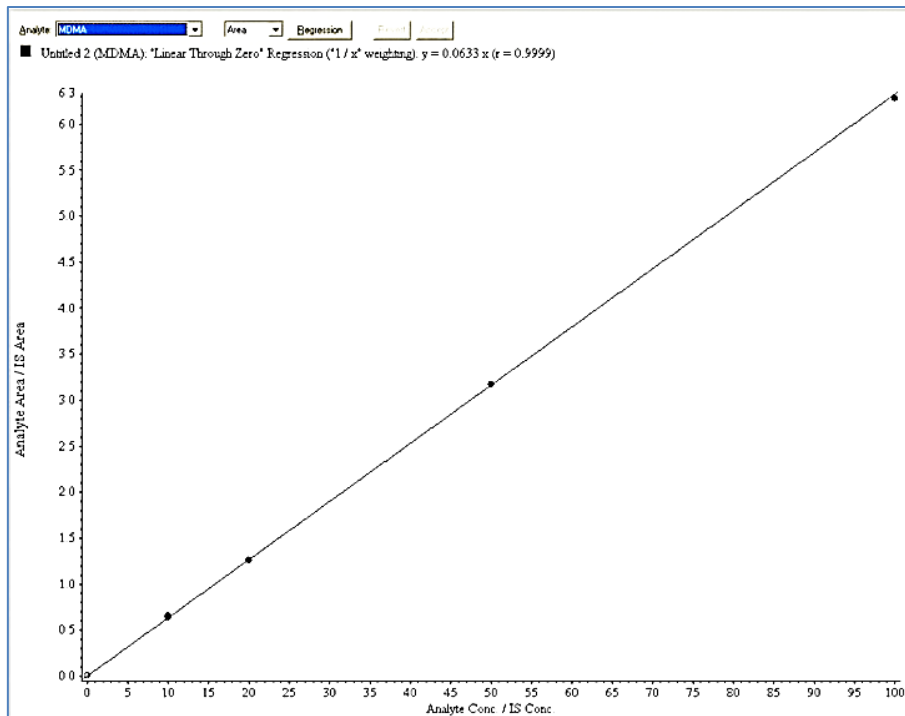
### Identifikace a kvantifikace

Identifikace a kvantifikace se provádí za pomoci vyhodnocovacího systému Analyst® Software.

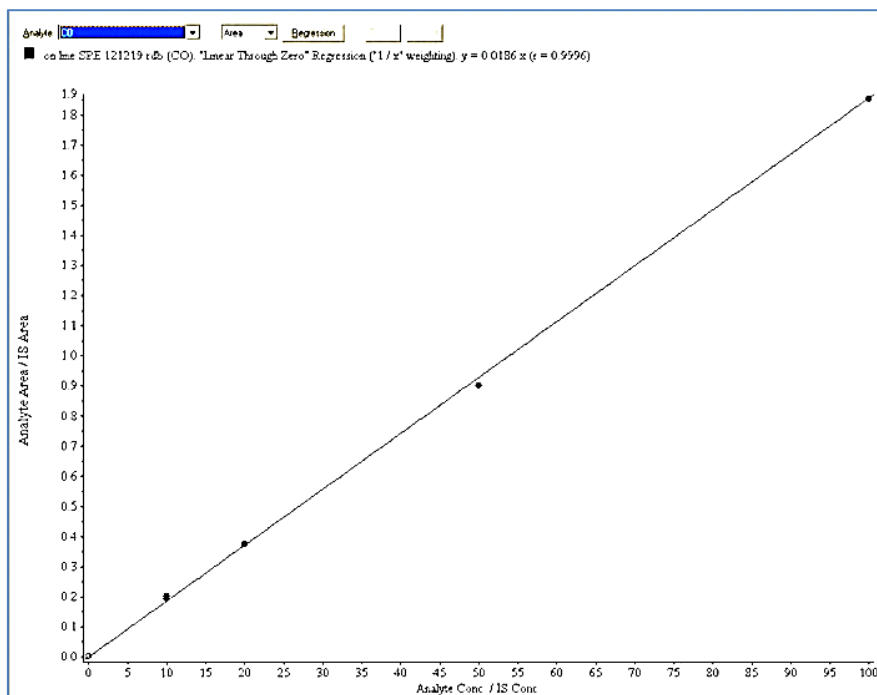
Jednotlivé látky se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů a shodnosti poměru intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v kalibračním roztoku.

Kvantifikace se provádí na základě hodnot vypočtených pomocí kalibračních křivek metodou kalibrace s vnitřními standardy (deuterované standardy sledovaných látek).

Příklady naměřených kalibračních křivek pro stanovení MDMA (extáze) a CO (kokainu) v rozsahu 0,1 – 100 ng/l vody jsou na obr. 1 a 2.



Obrázek 1: Kalibrační graf pro stanovení MDMA (extáze)



Obrázek 2: Kalibrační graf pro stanovení CO (kokain)

### Vyjadřování výsledků

Hmotnostní koncentrace jednotlivých látek se udává v nanogramech na litr zkoušené vody s přesností na 2 desetinná místa.

## 11 Poděkování

Tento projekt je řešen v rámci Programu bezpečnostního výzkumu České republiky v letech 2010 - 2015 (BII/2 – VS) a je financovaný formou dotace z rozpočtové kapitoly Ministerstva vnitra České republiky. Metodika aplikace epidemiologie odpadních vod pro stanovení odnosu nezákoných látek (drog) v České republice je výstupem tohoto projektu.

Projekt by nebylo možno realizovat bez úzké spolupráce s následujícími klíčovými institucemi a subjekty v oblasti vodovodů a kanalizací: Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Vodárna Plzeň, Ostravské vodárny a kanalizace, a.s., Severočeské vodovody a kanalizace, a.s., Brněnské vodárny a kanalizace, a.s., VEOLIA Voda Česká republika, a.s., Severomoravské vodovody a kanalizace, a.s., CHEVAK Cheb, a.s., Moravská vodárenská, a.s., Severočeská vodárenská společnost, a.s., Vodárny a kanalizace Karlovy Vary, a.s., ČEVAK, a.s.

## 12 Použitá literatura.

BOLEDA, M Rosa, Teresa GALCERAN a Francesco VENTURA. 2009. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Research*. **43**(4): 1126-1136. DOI: 10.1016/j.watres.2008.11.056. ISSN 00431354.

CASTIGLIONI, Sara, Ettore ZUCCATO, Elisabetta CRISCI, Chiara CHIABRANDO, Roberto FANELLI a Renzo BAGNATI. 2006. Identification and Measurement of Illicit Drugs and Their Metabolites in Urban Wastewater by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. **78**(24): 8421-8429. DOI: 10.1021/ac061095b. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac061095b>

DAUGHTON, C. D., T. A. TERNES. 1999. Pharmaceutical and personal care products in the environment: Agent of subtle Change? *Environ. Health perspect.* (107): 907-938.

DAUGHTON, C. D. 2001. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev.Environ. contam. toxicology.* (210): 59 -110.

DAUGHTON, Christian G. 2002. Cradle-to-Cradle Stewardship of Drugs for Minimizing Their Environmental Disposition While Promoting Human Health. I. Rationale for and Avenues toward a Green Pharmacy. *Environmental Health Perspectives*. **111**(5): 757-774. DOI: 10.1289/ehp.5947. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <http://www.ehponline.org/ambra-doi-resolver/10.1289/ehp.5947>

*EMCDDA INSIGHTS: Assesing illicit drugs in wastevater. potential and limitations of a new monitoring approach.* Luxembourg: European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2008. ISBN 978-92-9168-317-8.

HUERTA-FONTELA, Maria, Maria Teresa GALCERAN, Jordi MARTIN-ALONSO a Francesco VENTURA. 2008. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Science of The Total Environment*. **397**(1-3): 31-40. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.02.057. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969708002428>

HUMMEL, D., D. LOEFFLER, G. FINK, T. A. TERNES. 2006. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **40**: 7321-7328.

IRVINE, Rodney J., Chris KOSTAKIS, Peter D. FELGATE, Emily J. JAEHNE, Chang CHEN a Jason M. WHITE. 2011. Population drug use in Australia: A wastewater analysis. *Forensic Science International*.

**210**(1-3): 69-73. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.01.037. ISSN 03790738. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073811000521>

KANKAANPÄÄ, Aino, Kari ARINIEMI, Mari HEINONEN, Kimmo KUOPPASALMI a Teemu GUNNAR. 2014. Use of illicit stimulant drugs in Finland: A wastewater study in ten major cities. *Science of The Total Environment*. **487**: 696-702. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.095. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713013788>

KHAN, Usman, Alexander L.N. VAN NUIJS, Jing LI, Walid MAHO, Peng DU, Kaiyang LI, Linlin HOU, Jiying ZHANG, Xiangzhou MENG, et al. 2014. Application of a sewage-based approach to assess the use of ten illicit drugs in four Chinese megacities. *Science of The Total Environment*. **487**: 710-721. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.043. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714000527>

NEFAU, Thomas, Sara KAROLAK, Luis CASTILLO, Véronique BOIREAU a Yves LEVI. 2013. Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France. *Science of The Total Environment*. **461-462**: 712-722. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.05.038. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713005810>

O'BRIEN, Jake W., Phong K. THAI, Geoff EAGLESHAM, Christoph ORT, Andreas SCHEIDEGGER, Steve CARTER, Foon Yin LAI a Jochen F. MUELLER. 2014. A Model to Estimate the Population Contributing to the Wastewater Using Samples Collected on Census Day. *Environmental Science & Technology* [online]., **48**(1), 517-525 [cit. 2016-01-13]. DOI: 10.1021/es403251g. ISSN 0013-936x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es403251g>

ORT, Christoph, Michael G. LAWRENCE, Julien REUNGOAT a Jochen F. MUELLER. 2010a, Sampling for PPCPs in Wastewater Systems: Comparison of Different Sampling Modes and Optimization Strategies. *Environmental Science & Technology* [online]. **44**(16), 6289-6296 DOI: 10.1021/es100778d. ISSN 0013-936x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es100778d>

ORT, Christoph, Michael G. LAWRENCE, Jörg RIECKERMANN a Adriano JOSS. 2010b. Sampling for Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) and Illicit Drugs in Wastewater Systems: Are Your Conclusions Valid? A Critical Review. *Environmental Science*., **44**(16), 6024-6035. DOI: 10.1021/es100779n. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es100779n>

ORT, Christoph, Alexander L. N. VAN NUIJS, Jean-Daniel BERSET, et al. 2014. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction*., **109**(8), 1338-1352. DOI: 10.1111/add.12570. ISSN 09652140. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/add.12570>

ÖSTMAN, Marcus, Jerker FICK, Elin NÄSSTRÖM a Richard H. LINDBERG. 2014. A snapshot of illicit drug use in Sweden acquired through sewage water analysis. *Science of The Total Environment*. **472**: 862-871. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.081. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713013648>

POSTIGO, Cristina, Maria J. LOPEZ DE ALDA a Damià BARCELÓ. Fully Automated Determination in the Low Nanogram per Liter Level of Different Classes of Drugs of Abuse in Sewage Water by On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical*

*Chemistry* [online]. 2008, **80**(9): 3123-3134 [cit. 2016-01-05]. DOI: 10.1021/ac702060j. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac702060j>

RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, Tania, Inés RACAMONDE, Iria GONZÁLEZ-MARIÑO, Andrea BORSOTTI, Rosario RODIL, Isaac RODRÍGUEZ, Ettore ZUCCATO, José Benito QUINTANA a Sara CASTIGLIONI. *Alcohol and cocaine co-consumption in two European cities assessed by wastewater analysis*. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.016. ISBN 10.1016/j.scitotenv.2015.07.016.

SUBEDI, Bikram a Kurunthachalam KANNAN. 2014. Mass Loading and Removal of Select Illicit Drugs in Two Wastewater Treatment Plants in New York State and Estimation of Illicit Drug Usage in Communities through Wastewater Analysis. *Environmental Science*. **48**(12): 6661-6670. DOI: 10.1021/es501709a. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es501709a>

TERZIC, Senka, Ivan SENTA a Marijan AHEL. 2010. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia) – Estimation of drug abuse in a transition country. *Environmental Pollution*. **158**(8): 2686-2693. DOI: 10.1016/j.envpol.2010.04.020. ISSN 02697491. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749110001727>

THOMANN, M. 2008. Quality evaluation methods for wastewater treatment plant data. *Water Science and Technology*, **57**, 1601-9. DOI: 10.2166/wst.2008.151.

ZUCCATO, Ettore, Sara CASTIGLIONI, Roberto FANELLI, Giuseppe REITANO, Renzo BAGNATI, Chiara CHIABRANDO, Francesco POMATI, Carlo ROSSETTI a Davide CALAMARI. 2006. Pharmaceuticals in the Environment in Italy: Causes, Occurrence, Effects and Control. *Environmental Science and Pollution Research - International*. **13**(1): 15-21. DOI: 10.1065/espr2006.01.004. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://www.springerlink.com/index/10.1065/espr2006.01.004>

ZUCCATO, Ettore, Chiara CHIABRANDO, Sara CASTIGLIONI, Davide CALAMARI, Renzo BAGNATI, Silvia SCHIAREA a Roberto FANELLI. 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor. *Environmental Health: A Global Access Science Source*. **4**(1): 14-. DOI: 10.1186/1476-069X-4-14. ISSN 1476069x. Dostupné také z: <http://www.ehjournal.net/content/4/1/14>

ZUCCATO, Ettore, Chiara CHIABRANDO, Sara CASTIGLIONI, Renzo BAGNATI a Roberto FANELLI. 2008-5-1. Estimating Community Drug Abuse by Wastewater Analysis. *Environmental Health Perspectives*. **116**(8): 1027-1032. DOI: 10.1289/ehp.11022. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <http://ehp.niehs.nih.gov/11022>