



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

INTERAKCE A IMOBILIZACE LÉČIV V PŮDNÍCH SYSTÉMECH

INTERACTIONS AND IMOBILIZATION OF PHARMACEUTICALS IN SOIL SYSTEMS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Kateřina Šmerdová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1664/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Kateřina Šmerdová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Interakce a imobilizace léčiv v půdních systémech

Zadání diplomové práce:

1. Seznámit se s problematikou výskytu a chování léčiv v půdách.
2. Seznámit se s možnostmi studia interakcí a imobilizace léčiv v půdách.
3. Na základě poznatků získaných v předchozích bodech navrhnout a provést experimenty.
4. Zhodnotit výsledky experimentů a formulovat závěry.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Kateřina Šmerdová
studentka

prof. Ing. Martina Klučáková,
Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Většina nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID), včetně diklofenaku (DK), jsou v dnešní době považovány za kontaminanty životního prostředí. V této práci byly sledovány sorpční a desorpční mechanismy diklofenaku na půdy s rozdílným obsahem organické hmoty. Dále bylo posouzeno pH prostředí a jeho vliv na adsorpci DK prostřednictvím Brittonova – Robinsonova pufru. V neposlední řadě byla sledována samovolná degradace DK ve vodě s přístupem slunečního záření; a v závislosti na podobných studiích byl popsán produkt fotodegradace. V rámci celého experimentu byly průběžně sledovány hodnoty pH a vodivosti.

Bylo zjištěno, že velký vliv na sorpci a desorpci léčiv má obsah půdní organické hmoty. Půda s vyšším obsahem organické hmoty zaznamenala vyšší adsorpci DK, a to ve všech sledovaných koncentracích. Různé hodnoty pH měly také vliv na sorpci i desorpci DK. Z výsledků vyplývá, že neutrální a zásadité prostředí podporuje adsorpci DK ve větší míře, než je tomu v kyselém prostředí. Výsledky byly získány pomocí UV-VIS spektrofotometrie.

Fotodegradace DK ve vodě byla po 4 měsících úspěšná. Degradční produkt byl analyzován pomocí UV-VIS spektrofotometrie a FTIR spektrometrie. Produktem degradace byl pravděpodobně derivát karbazolu.

ABSTRACT

In these days, most non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), including diclofenac (DK), are considered as environmental contaminants. In this thesis, the sorption and desorption mechanisms of diclofenac in soils with different organic matter content were studied. The pH of the medium and its effect on DK adsorption by Britton – Robinson buffer were also studied. Last but not least, the spontaneous degradation of DK in water under sunshine was observed; depending on similar studies, the photodegradation product has been described. The value of pH and conductivity of all the samples were monitored continuously throughout the experiment.

It has been found that the content of soil organic matter has a colossal influence on the drug sorption and desorption. Studied soil with a higher content of organic matter recorded higher adsorption of DK in all monitored concentration of DK. Different pH values also affected the sorption and desorption of DK. By results, a neutral and alkaline environment supports the adsorption of DK more than an acidic environment. The samples were analyzed by UV-VIS spectrophotometry.

Photodegradation of DK in water was successful after 4 months. The degradation product was analyzed by UV-VIS spectrophotometry and FTIR spectrometry. The product of fotodegradation could probably be carbazole derivative.

KLÍČOVÁ SLOVA

Diklofenak, mobilita, sorpce, desorpce, degradace

KEYWORDS

Diclofenac, mobility, sorption, desorption, degradation

ŠMERDOVÁ, Kateřina. Interakce a imobilizace léčiv v půdních systémech. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139240>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Martina Klučáková.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

PODĚKOVÁNÍ

Velmi ráda bych poděkovala své vedoucí, paní prof. Ing. Martině Klučákové Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, a hlavně svůj čas, který mi věnovala. Poděkování patří také panu Ing. Vojtěchu Enevovi, Ph.D., za pomoc s experimentální částí. Dále bych chtěla moc poděkovat své rodině a přátelům za nekonečnou podporu.

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1	Imobilita diklofenaku	7
2.1.1	Sorpční vlastnosti diklofenaku v půdním systému.....	8
2.1.2	Vliv pH na adsorpci diklofenaku	10
2.2	Možnosti odstranění diklofenaku z životního prostředí	12
2.2.1	Fotodegradace	14
2.3	Metabolismus diklofenaku	16
2.3.1	Mytilus trossulus	16
2.3.2	Rostliny	17
2.4	Vybrané analytické metody	20
2.4.1	UV-VIS spektroskopie	20
2.4.2	FTIR spektroskopie	20
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
3.1	Chemikálie a přístroje	22
3.2	Studované půdy	22
3.3	Srovnání půd FB37 a FB17	23
3.3.1	Sorpce půda FB17	24
3.3.2	Desorpce půda FB17	25
3.4	Vliv pH	26
3.4.1	Brittonův – Robinsonův pufr	26
3.4.2	Sorpce a desorpce půd FB37 a FB17 s vlivem pH.....	26
3.5	Degradace diklofenaku	29
3.6	Výsledky	30
3.6.1	Srovnání sorpce a desorpce půd FB17 a FB37	30
3.6.2	Srovnání hodnot vodivosti a pH půd FB17 a FB37	34
3.6.3	Vliv pufrů na sorpce a desorpce půd FB17 a FB37	39
3.6.4	Hodnoty vodivosti a pH půd FB17 a FB37 v pufrch	44
3.6.5	Degradace diklofenaku.....	49
3.6.6	Hodnoty vodivosti a pH degračních vzorků diklofenaku.....	51
4	ZÁVĚR	54
5	ZDROJE:	55
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	60

1 ÚVOD

Nesteroidní protizánětlivá léčiva jsou nejpoužívanější léčiva užívaná běžně k léčbě akutní bolesti a snížení horečky. Existuje spousta cest, jak se tato léčiva dostávají do životního prostředí. Mezi hlavní zdroje znečištění patří průmyslové a nemocniční odpady, a čistírný odpadních vod. Většinu léčiv nedokáže čistírna odpadních vod odstranit, a i proto se dostávají čím dál ve větší míře do životního prostředí.

Mnoho léčiv, stejně jako diklofenak (DK), je schopno se akumulovat ve vodním nebo půdním prostředí. Jejich vlastnosti, interakce, mobilita, schopnost degradace a spousta dalších faktorů pevné matrice předurčují jejich osud v životním prostředí. Léčiva, jako DK, se mohou dostat do půdy, kde podléhají mikrobiální degradaci nebo adsorpci rostlinami. Rostliny pak mohou lék přenést do potravinového řetězce až na člověka, což představuje velkou hrozbu hlavně do budoucna. Před vstupem do půdy se může DK transformovat už ve vodném prostředí, např. fotodegradací pomocí slunečního záření.

Tato práce zahrnuje studium sorpčních a desorpčních vlastností DK jako zástupce nesteroidních protizánětlivých léčiv. Tyto vlastnosti byly sledovány s ohledem na některé faktory, na kterých v životním prostředí záleží. Jedná se o typ půdy a vliv pH. Proto byly experimenty prováděny na dvou půdách s odlišným obsahem organické hmoty. Dále byl použit Brittonův – Robinsonův pufr pro vytvoření odlišných pH (5, 7, 10) pro studium adsorpce a desorpce DK v obou půdách. Nakonec byla sledována fotodegradace léčiva ve vodě po dobu čtyř měsíců.

Je důležité neustále monitorovat léčiva v životním prostředí. Některá léčiva mohou být toxická pro řadu vodních živočichů, rostlin i mikroorganismů. K zamezení šíření těchto kontaminantů je potřeba zavést efektivní metody čištění odpadních vod nebo přímou degradaci sloučenin bez sekundárního znečištění.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Imobilita diklofenaku

Diklofenak (DK) je široce využívané léčivo patřící do skupiny léčiv nesteroidních protizánětlivých (NSAID), kam se řadí i další léčiva jako aspirin, ibuprofen nebo naproxen. Obecně NSAID zmírňují bolest a horečku, a mají protizánětlivé účinky. Jedná se o celosvětově nejpoužívanější léčiva [1], a i proto vzbuzují jako kontaminanty životního prostředí stále více obav. Ke stále se zvyšující koncentraci léčiv v životním prostředí (ŽP) přispívá několik faktorů, jako je obecné zvyšování spotřeby léčiv, vypouštění neupravené i upravené odpadní vody do ŽP a nedostatečná účinnost čistíren odpadních vod (ČOV). Může k tomu přispívat i zpětná transformace metabolitů do původního léčiva. DK, stejně jako ostatní NSAID, přetrvává ve vodním prostředí, odkud se dále dostává do půdního systému. Detekovaná přítomnost DK v povrchových vodách může vést k měřitelným hladinám v pitné vodě i za ošetřených podmínek. Nedávné studie také zjistily, že se DK hromadí v ovoci a zelenině, což by mohlo přímo ovlivňovat lidské zdraví [2].

Mobilita léčiv v půdním systému závisí především adsorpci léčiv na půdu a na míře vyluhování léčiva do půdního roztoku. Potenciální vyluhování závisí na rovnováze existující na rozhraní půda-roztok. Potom záleží na síle vazby léčiva k půdě a na okolních podmínkách. Mobilita se dá chápat jako míra a pravidelnost vyluhování daného léčiva, ale záleží na mnoha dalších faktorech jako je pH, obsah organické hmoty, vlhkost a textura půdy. Naopak imobilita je míra přetrvání léčiva například v půdě. S mobilitou také silně souvisí přítomnost mikroorganismů v půdě, které ovlivňují biotransformaci léčiv a jejich retenci v půdě [3].

Rostliny, mimo jiné, fungují jako vynikající indikátory globálního znečištění, protože jsou přítomny téměř ve všech oblastech planety a hromadí chemické sloučeniny přítomné v atmosféře, ve vodě, a hlavně v půdě. Jedním z výzkumů [4], který se přímo zaměřoval na detekci léčiv a produktů osobní péče v různých typech rostlin, ukázal poměrně variabilní koncentrace léčiv v rozmezí od nulové detekce až po $487 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$. Stejně jako další léčiva, DK svou přítomností zapříčinil hlavně zpomalení růstu rostliny a omezení přísunu živin [4, 5].

Předpovědět a popsat chování kontaminantu v rostlinách je velmi složité. Existuje asi 20 000 druhů rostlin, které jsou lidmi využívány a 30 000 organických kontaminantů dostupných v Evropě. Počet možných kombinací rostlinných druhů, kontaminantů a podmínek prostředí je tedy téměř nekonečný. V současné době již existují obecné modely, podle kterých lze kontaminanty zařadit a určit jejich toxicitu [6]. Kontaminanty se z prostředí do zeleniny a ovoce mohou dostat různými cestami – absorpcí vodou z půdních pórů pomocí kořenů, difúzí z půdy nebo vzduchu, a přichycením půdních částic následované difúzí do rostlinné tkáně. Perzistentní, polární a netěkavé kontaminanty, kam můžeme zařadit DK, mají nejvyšší potenciál pro akumulaci z půdy [4, 6].

2.1.1 Sorpční vlastnosti diklofenaku v půdním systému

Sorpce je jedna ze základních mechanismů odstranění kontaminantů v ČOV. Některá léčiva, jako také DK, nejsou dokonale odstraněna v ČOV, a i proto se dostávají do ŽP, kde se mohou hromadit. Důležitý je výběr vhodného adsorbentu v ČOV pro konkrétní léčivo nebo skupinu léčiv. Při výběru sorbentu záleží na mnoha faktorech, jako jsou hydrofilita nebo hydrofobicita léčiva, náboj a chemická struktura léčiva, a také pH prostředí [3].

Sorpční vlastnosti léčiv hrají důležitou roli i po vstupu do ŽP, kde se mohou uchytit na půdu. Hlavními faktory pro adsorpci jsou hydrofobní interakce, vodíkové vazby a elektrostatické interakce; tudíž je klíčové získat informace o chemické struktuře léčiv a jejich sorpčním mechanismu. Stále jsou ale tyto mechanismy z velké části neznámé. Tyto znalosti by pomohly předpovědět osud a mobilitu léčiv v ŽP a mohly by vést k lepšímu pochopení a vylepšení procesů čištění probíhajících v ČOV [3, 7].

Sorpce hydrofobních neiontových molekul je ovlivněna hlavně hydrofobními interakcemi, včetně slabých van der Waalsových sil. Pro hydrofobní molekuly je důležitým interakčním mechanismem vodíková vazba s hydroxylovými skupinami na povrchu. Pro hydrofilní iontové sloučeniny jsou důležité silné elektrostatické interakce s nabitými povrchy, jako například výměna kationtů a tvorba komplexů [7].

K vyhodnocení adsorpce léčiv lze využít Freundlichův a Langmuirův model. Freundlichův model poskytuje dobrý popis sorpční rovnováhy na heterogenních površích, jako jsou půdy. Pro popis adsorpce léčiv je však vhodnější Langmuirova izoterma. Ta je používaná pro monovrstvy a homogenní adsorpce. Langmuirův model je využíván díky relativně nízkým reálným koncentracím léčiv v ŽP ve srovnání s množstvím adsorpčních míst na půdách [3][7].

Langmuirova izoterma vyjadřuje maximální monomolekulární pokrytí povrchu adsorbentu (půdy). Maximální adsorpční kapacita určuje počet míst na adsorbentu, kam je daná organická sloučenina schopna se vázat. Bylo zjištěno, že množství půdní organické hmoty a huminových kyselin [8] je rozhodujícím faktorem pro adsorpční kapacitu. Větší obsah organické hmoty znamená vyšší počet adsorpčních míst [6]. Míra sorpce léčiva se liší v závislosti na složení půdy, typu půdy a na schopnosti tvorby komplexů s léčivy. Všechny tyto parametry mění mobilitu kontaminantů půdním profilem [8, 9, 10, 11].

Typ půdy spolu s obsahem jílu souvisí s imobilitou sloučenin v půdě. Čím vyšší je obsah jílu, tím více jsou sloučeniny v půdě zadržovány. Byly provedeny sloupcové experimenty s pěti odlišnými typy půdy v městské části v Brazílii. Kontaminanty obecně vykazovaly větší mobilitu v kvartérních půdách. Studovaná léčiva (atrazin, simazin, tebutiuron a DK) v této půdě dosahovaly hloubky až 25 cm. Tato kvartérní půda pochází ze směsi sedimentů složených převážně z dobře vytríděných porézniých písčítých sedimentů s jílovými minerály, jako je kaolinit, které podporují transport kontaminantů [11].

Při studiu adsorpce organických kontaminantů na půdu je důležité brát v úvahu jejich rozdělovací koeficient v pevné a vodné fázi. Interakce léčiv s rozpuštěnou půdní organickou hmotou nebo afinita k pevné fázi také ovlivňuje jejich mobilitu. Vzhledem k tomu, že je DK slabá kyselina, může být adsorpce na půdu zprostředkována výměnou kationtů, přemostěním kationtů a vodíkovými vazbami [9].

Celkově tedy akumulace léčiv v půdě závisí na koncentraci léčiva ve vodné fázi, vlastnostech dané sloučeniny a celkovém obsahu organického uhlíku v půdě [8]. Specifické podmínky vody

a půdy, jako je pH a fyzikálně-chemické vlastnosti, určují osud ionizovatelných léčiv, jejich perzistenci, biologickou dostupnost a ekotoxicitu [9, 10].

Důležitou součástí sorpčního mechanismu a následné retence léčiv v půdě je, mimo jiné, mikrobiální aktivita. Díky mikroorganismům přítomným v půdě může řada léčiv degradovat. K degradaci dochází u většiny kontaminantů rychleji za aerobních podmínek. Pro příklad, léčivo nadolol bylo degradováno z 90 % v aerobních podmínkách v půdě pouze po 4 dnech. Zatímco v nepřítomnosti kyslíku bylo degradováno pouze 18-24 % po 1 měsíci [10]. Velmi záleží na typu léčiva a jeho struktuře, například ibuprofen a DK se jeví jako rychle degradující látky. Naopak karbamazepin je považován za vysoce stabilní sloučeninu, a proto odolává mikrobiální degradaci [10, 12].

U léčiv jako je DK se očekává, že budou mít nejnižší sorpční potenciál do půdy, protože jsou přítomna jako anionty za podmínek pH relevantních pro životní prostředí. Tento záporný náboj způsobuje elektrostatické odpuzování mezi DK a záporně nabitými povrchy částic půdy. U DK ale k sorpci často dochází [7, 8, 9, 10]. Díky složitosti sorpčních procesů nemůžeme dojít k jasnému vysvětlení, záleží totiž na typu půdy, obsahu organického uhlíku a na konkrétních vlastnostech matrice. Další sloučeniny se záporným nábojem jsou sulfonamidy, které se chovají podobně jako DK. Bylo zjištěno, že DK a karbamazepin jsou pomalu se pohybující sloučeniny ve vrstvách půdy bohatých na organickou hmotu. V půdách chudých na organickou hmotu se mobilita těchto sloučenin výrazně zvyšuje [10, 12].

Dalším způsobem, jak se léčiva sorpčně dostávají do ŽP, je skrz zavlažování čištěnou odpadní vodou [12, 13]. Celkem 44 ze 78 studovaných léčiv byly nalezeny v odtoku odpadních vod z ČOV [13]. Více než polovina detekovaných sloučenin měla průměrně špatnou účinnost odstraňování a pouze 5 z nich bylo účinně eliminováno. Téměř žádné odstranění však nebylo pozorováno u DK a karbamazepinu. Používání odpadní vody na zavlažování zemědělských polí má pak za následek hromadění kontaminantů v půdě. Navíc bylo zjištěno, že vyšší koncentrace léčiv převládaly v chladnějších měsících. Léčiva jsou tedy více perzistentní v půdě při nižších teplotách půdy a bez intenzivního přístupu slunečního záření [13, 14].

2.1.2 Vliv pH na adsorpci diklofenaku

Adsorpce látek do půd je hlavním procesem ovlivňujícím jejich mobilitu a konečný osud v ŽP. Hodnota pH hraje velmi důležitou roli při adsorpci. Jak naznačují studie [15, 16, 17], při různých podmínkách pH bylo pozorováno různé chování DK. Hodnota pH totiž modifikuje hustotu náboje léčiva, a tím určuje jeho formu v roztoku. Sorpční vlastnosti proto závisí na disociační konstantě DK a kyselosti prostředí [15, 16]. Důležité hodnoty DK jsou popsány v následující tabulce.

Tabulka 1: Rozpustnost DK ve vodě při 25 °C, disociační konstanta a rozdělovací koeficient [18]

Rozpustnost	2.37 (mg/l)
Disociační konstanta (pKa)	4,2 (-)
Rozdělovací koeficient (LogP)	4,51 (-)

Velmi často je využíván minerál goethit, oxid železa v půdách, jako modelový adsorbent pro zkoumání adsorpce léčiv [15, 19]. Výsledky studie ukázaly, že adsorpce DK na goethit silně závisí na pH roztoku. Bylo pracováno s hodnotami pH – 5,3; 7,4 a 10. Množství adsorbovaného DK klesalo se zvyšujícím se pH. Ve studovaném rozsahu pH existoval DK převážně ve své aniontové formě, díky nízké hodnotě disociační konstanty DK (tabulka 1). Náboje na povrchu goethitu se měnily s pH roztoku [15].

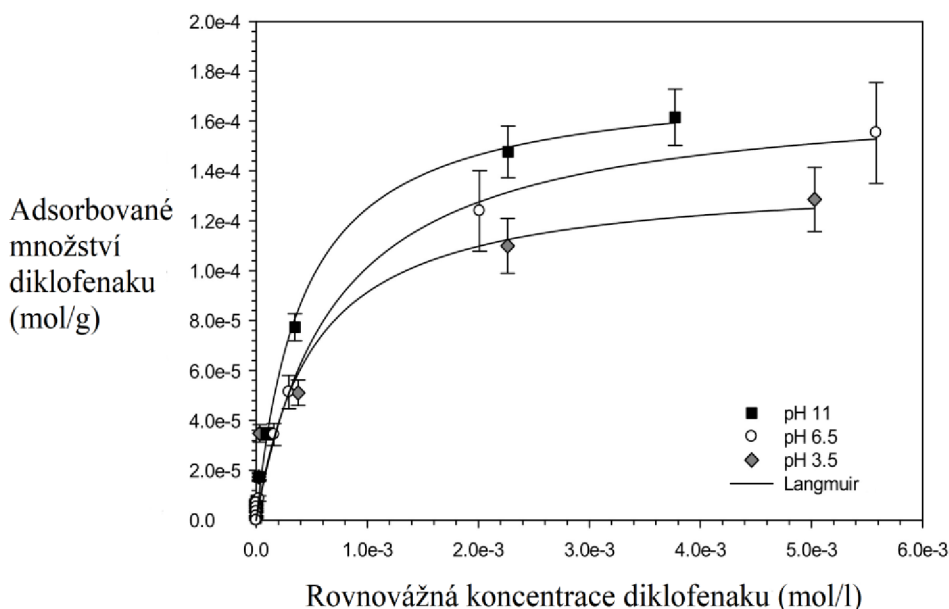
Při pH 5,3 proběhla velmi rychlá adsorpce DK na povrchu goethitu. Množství adsorbovaného DK představovalo 23,53 µg/g. Při přibližném pH 10 byla adsorpce naopak pomalá. Adsorbované množství DK bylo pouze 1,59 µg/g. Nakonec při neutrálním pH 7,4, rovnovážné adsorbované množství DK vycházelo na 9,33 µg/g [15]. Dále v procesu adsorpce hrály důležitou roli elektrostatické interakce. Ty k celkové sorpci mohly přispět pozitivně i negativně. Při pH 5,3 bylo adsorbováno více DK v důsledku elektrostatické přitažlivosti mezi záporně nabitými molekulami DK a kladně nabitým goethitem. Při pH > 7 se adsorpce DK na goethit snižovala se zvyšujícím se pH kvůli elektrostatickému odpuzování mezi molekulami DK a povrchem goethitu [15, 19].

Bylo zjištěno, že substituce hliníku (Al) na goethit zvýšila afinitu DK ke goethitu. K substituci Al často v půdě dochází přirozeně, díky univerzálnosti a hojnosti Al a jeho mobilizaci spolu s oxidy železa během zvětrávání. Došlo ke zvýšení elektrostatické přitažlivosti k DK a ke zvýšení hustoty sorpčních míst goethitu. Tato substituce také způsobila zvýšení OH skupin v Al-goethitu. Celkový počet hydroxylových skupin v minerálech pozitivně souvisí se sorpční kapacitou DK, protože vodíkové vazby vznikají prostřednictvím hydroxylových skupin minerálů a karboxylové skupiny v DK [19].

Ve většině podobných adsorpčních experimentech pracujících s DK se vždy pracuje v rozmezí pH 5-10, je to proto, že DK je dobře rozpustný v neutrálně alkalickém prostředí. Pod touto hranicí, respektive pod pH 4, se DK stává téměř nerozpustným, takže pod touto hodnotou pH se DK vysráží. DK je obecně slabá kyselina, která je prakticky nerozpustná při protonizaci. Upřednostňuje protonovanou formu ve velmi kyselém prostředí (pH 3), kde vůbec nedisociuje, proto se nerozpouští a sráží se [16].

Dále, adsorpce představuje účinnou techniku k odstranění anorganických i organických mikropolutantů z odpadních vod. Těmito mikropolutanty jsou i léčiva, která se snadno adsorbují na vhodný adsorbent v určité fázi procesu čištění odpadních vod [17, 20].

Vhodným adsorbentem se ukazují chemicky modifikované organojíly. Vykazují dobrou afinitu k DK, která se projevuje pro pH nad 4,5, tj. disociační konstanta DK (tabulka 1). Termodynamické parametry odvozené z Langmuirovy rovnice naznačují, že adsorpce je řízena hlavně elektrostatickými silami mezi DK a organickými kationty nacházejícími se na povrchu organojílů pro adsorpci DK. Byly testovány tři hodnoty pH (3,5; 6,5; 11) a adsorpce DK na organojíl byla vyhodnocena pomocí Langmuirovy izotermy. Jak již bylo zmíněno při nejnižší hodnotě pH, DK vykazuje spíše protonovanou formu. Při vyšších hodnotách pH je DK disociovaný a záporný. Na obrázku 1 jsou znázorněny Langmuirovy izotermy všech tří hodnot pH. DK ve formě aniontu je vázán s organickými kationty v organojílech. Izoterma s nejnižší hodnotou pH (3,5) má stejný tvar jako ostatní dvě, nelze proto vyloučit, že protonované molekuly by mohly být také adsorbovány na povrch adsorbentů. Nicméně účinnost adsorpce se zvyšuje se zvyšující se hodnotou pH [17].



Obrázek 1: Rovnovážné adsorpční izotermy DK na organický jíl pro tři různé hodnoty pH – 3,5; 6,5 a 11 [17]

Dalším možným adsorbentem DK je organobetonit. Ve studii, zabývající se touto problematikou bylo opět využíváno elektrostatických interakcí záporně nabitého DK a kladně nabitého aktivního povrchu organobetonitu, tzn. využilo se pH v rozmezí hodnot 7-11. V tomto případě byla sorpce DK nevratná [20].

2.2 Možnosti odstranění diklofenaku z životního prostředí

Za účelem odstranění DK a jeho metabolitů byly zavedeny různé fyzikální, chemické a biologické metody. Jedná se například o adsorpci, koagulaci, flotaci a mikrobiální degradaci. Biotransformace zprostředkovaná mikrobiálními enzymy je hojně využívána díky její rychlosti, jednoduchosti, a hlavně ekologickému přístupu [2].

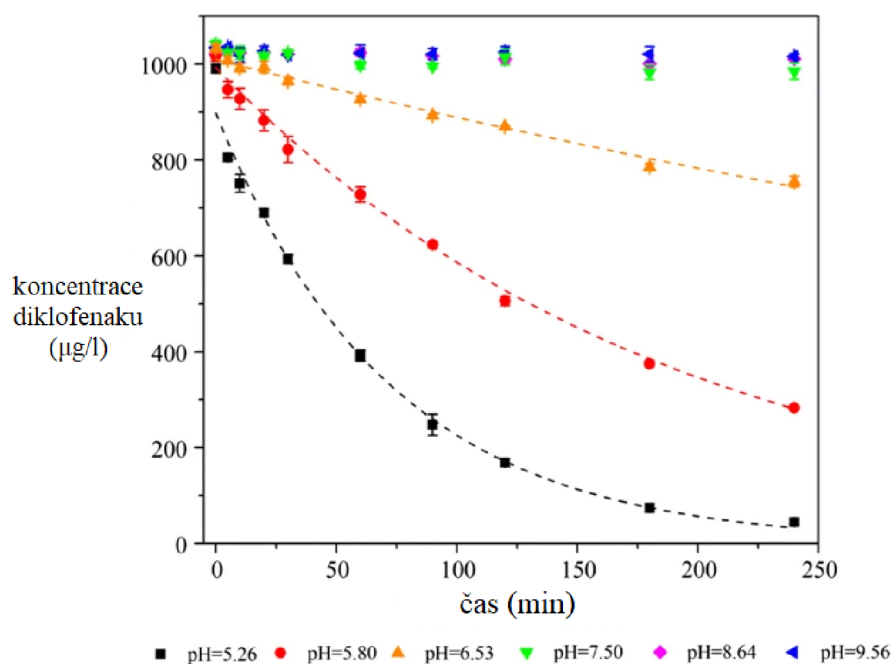
Proces adsorpce je jeden z nejběžněji využívaných procesů v ČOV k odstranění jak léčiv, tak i jiných polutantů. Velmi účinný adsorbent, právě pro skupinu léčiv protizánětlivých nesteroidních, jako je DK, je adsorbent s přidavkem aktivního uhlí. Samotné aktivní uhlí vyniká velkým objemem mikropórů, velkým povrchem a vysokou adsorpční kapacitou. Výběr prekurzoru pak záleží na dané aplikaci adsorbentu, ale velmi často je využíván ropný zbytek, přírodní uhlí a například dřevo [21].

Účinné odstranění DK bylo popsáno několika dalšími technikami, včetně ionizujícího záření emitovaným z radioaktivního Co^{60} [22], elektrochemické degradace [23], nanofiltrace [24] a pokročilými redukčními procesy jako je UV záření s přidavkem siřičitanů [25]. U několika technik se setkáváme s problémem sekundárního znečištění nebo vznikem a přetrváním metabolitů, které mohou být toxičtější než samotná látka. Ideálně by měla být vyvinuta taková technika, aby účinně odstranila DK včetně jeho metabolitů, aniž by došlo k jakémukoli sekundárnímu znečištění [2].

Zmíněná elektrochemická degradace je slibnou technikou ekologického odstranění DK z vodních zdrojů. Aby byla technika šetrná k životnímu prostředí musel být kapalný elektrolyt nahrazen pevným polymerním elektrolytem. Konvenční kapalný elektrolyt může být toxický, a navíc je potřeba tento rozpuštěný elektrolyt z vodného média odstranit. Pro degradaci organických znečišťujících látek byly použity anody propustné pro kapaliny složené ze sítových elektrod pokrytých směsným oxidem kovů (Co, Ni). Degradace DK byla prokázána analýzou pomocí UV-VIS spektrofotometrie a kapalinové chromatografie (HPLC) [23].

V další studii [26] bylo zkoumáno odstranění DK z vodného prostředí pomocí birnessitu, vrstveného oxidu manganu. Oxidy manganu se používají jako oxidační činidla k odstranění organických znečišťujících látek. Birnessit má velký specifický povrch a nízký izoelektrický bod. Degradace organických sloučenin oxidy manganu zahrnovala sorpci DK na povrch oxidu a následný přenos elektronů. Odstranění DK pomocí birnessitu bylo výrazně ovlivněno pH prostředím (obrázek 2). Účinnost odstraňování DK se snižovala se zvyšujícím se pH. Jak naznačuje obrázek 2, hodnota pH 5-6,5 byla příznivá pro odstranění DK, naopak při $\text{pH} \geq 7,50$ nedošlo k žádnému významnému odstranění DK [26].

Důvodem závislosti odstraňování DK pomocí birnessitu na pH jsou různé formy DK při různém pH a následné interakce s povrchem birnessitu. Hodnota pH ovlivní tvorbu prekurzorového komplexu mezi DK a birnessitem během adsorpčního procesu. Studie probíhala v rozmezí pH 5,26 až 9,56, kdy existuje DK hlavně v aniontové formě. Díky nízkému izoelektrickému bodu birnessitu ($\text{pH} = 3,0$) byl jeho povrch nabitý záporně a se zvyšujícím se pH se hustota náboje stávala zápornější. Proto se záporně nabitým DK při vysokém pH nedocházelo tolik k interakcím. Obrázek 2 znázorňuje koncentraci DK v závislosti na pH prostředí v čase. Byl použit kinetický model pseudo-prvního řádu a jako elektrolyt byl použit chlorid sodný [26].



Obrázek 2: Vliv pH na odstranění DK birnessitem. Kinetický model pseudo-prvního řádu [26]

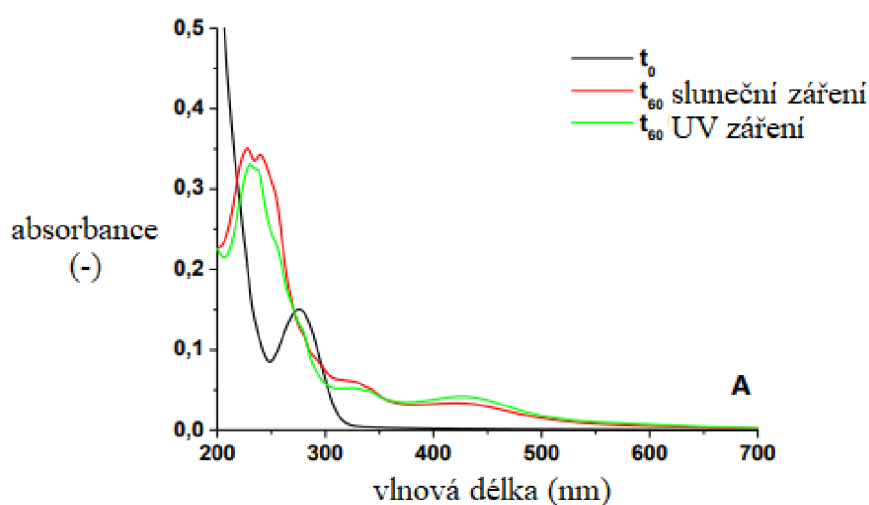
Kromě pH hrály důležitou roli v odstranění DK pomocí birnessitu ionty. Ionty, které reakci silně inhibovaly byly Fe^{2+} a Mn^{2+} . Přítomnost Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} a Cu^{2+} iontů naopak adsorpci DK podpořily. Je zajímavé, že reakci také katalyzovaly huminové kyseliny (HA). DK vytvořil s oxidovanou HA kovalentní vazbu, což podpořilo adsorpci na birnessit a celkové odstranění DK [26].

Membránové techniky vykazují některé výhody oproti konvenčnímu čištění odpadních vod, jako jsou fyzikálně-chemické nebo biologické procesy. Díky faktu, že léčiva jsou většinou odolné vůči biologickému rozpadu, tak je nelze těmito metodami zcela odstranit. Nanofiltrací zařízení obsahuje vysokotlaké membrány, které lze použít pro odstraňování organických a anorganických mikropolutantů. Hlavní nevýhodou nanofiltrace jsou vysoké provozní náklady v souvislosti s čištěním membrány [24].

Opět tato studie [24] prováděla experimenty při různých hodnotách pH (3, 7 a 12) a ukázalo se, že účinnost nanofiltrace je silně závislá na pH. Pro pochopení vlivu pH na nanofiltraci, slouží rozdělovací koeficient DK (tabulka 1). Ten uvádí poměr mezi nabitou a nenabitou formou DK při daném pH. Nejúspěšnějšího odstranění DK bylo dosaženo při velmi kyselém pH (3). V tomto případě nehraje roli pórovitost adsorbentu/membrány, ale odpuzivé interakce. Mezi hydrofilními funkčními skupinami na povrchu membrány (aminy) a kladnému náboji na molekule DK dochází k silné repulzi. Účinnost membrány byla snížena, když byly léčiva použité ve směsi [24].

Jako velmi zajímavé se jeví použití biosorbentu chitosanu ve formě filmu k odstranění a regeneraci DK z vody pomocí adsorpce. Jedná se o ekologickou technologii, která by měla snížit celkový dopad na životní prostředí. Polysacharid chitosan je biologicky rozložitelný a biokompatibilní. Mechanismus adsorpce funguje prostřednictvím elektrostatické interakce mezi karboxylovou skupinou DK a aminoskupinou chitosanu [27].

Maximální adsorpce byla pozorována při pH 5, kdy byl DK disociován a nabit záporně díky karboxylové skupině. Chitosan má v kyselém roztoku kationtový charakter, a proto mají protonované aminoskupiny kladný náboj. Proces byl závislý na množství DK a chitosanu. Freundlichova izotermna popsala heterogenní charakter procesu. Důležitým faktorem je i možnost regenerace biosorbentu pomocí roztoků obsahujících chlorid sodný (NaCl). Chitosanový biosorbent je navíc schopný vyvolat fotodegradaci DK indukovanou světlem po adsorpci a zpětně adsorbovat vzniklé produkty. V tomto experimentu vznikl karbazolový produkt už po 60 min. Výsledek byl téměř totožný při využití slunečního záření a UV lampy (obrázek 3) [27].

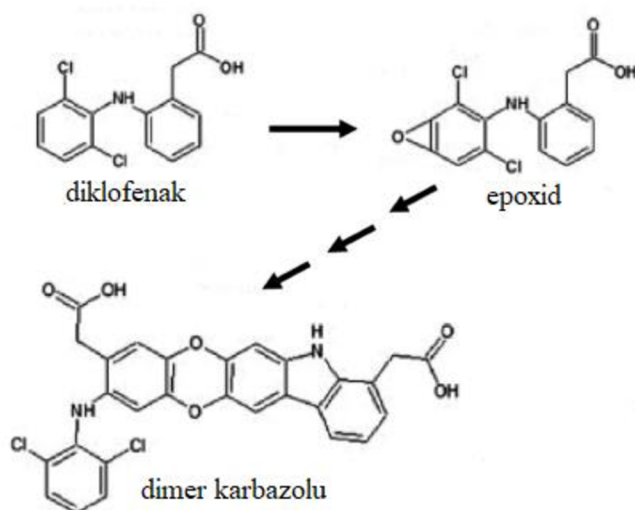


Obrázek 3: UV-VIS spektrum fotodegradčního produktu DK po 60 min [27].

2.2.1 Fotodegradace

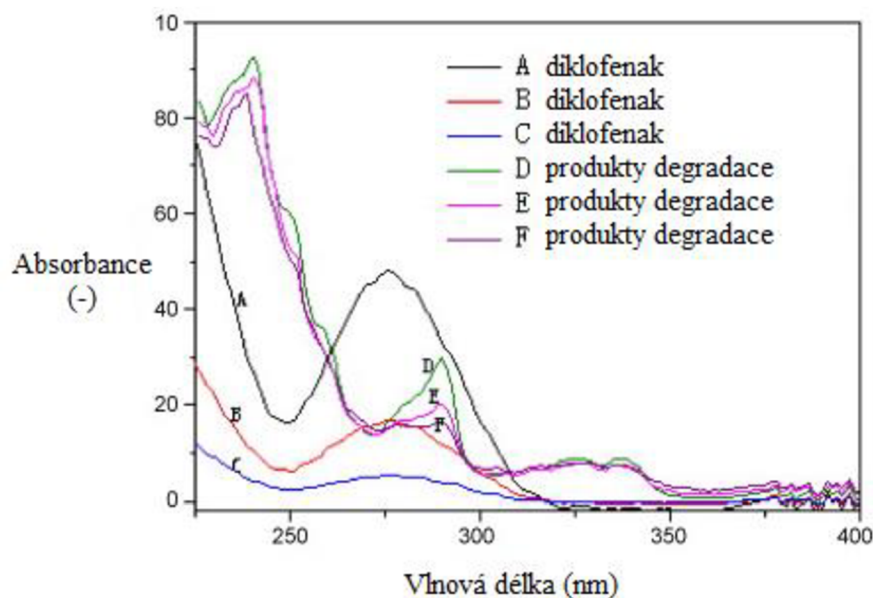
Jak již ukazuje předchozí kapitola, jedním z důležitých degradačních procesů souvisejících s DK je jeho fotodegradace ve vodním prostředí. Fotodegradace může být přirozený nebo uměle vytvořený proces degradace polutantů v životním prostředí. Vzniklé studie, zabývající se touto problematikou [27, 28, 29, 30] používají UV světlo k degradaci DK ve vodě. Jako hlavní vedlejší produkt fotolytické reakce DK se vytvořil dimer karbazolu, který byl velmi stabilní (obrázek 4) [29].

Fotodegradace je závislá na mnoha faktorech vodního prostředí – teplotě, pH, zákalu a přítomnosti dalších polutantů. Osud organických polutantů závisí také na huminových látkách, které jsou rozšířeny v systémech půdní roztok-půda. V této studii bylo pracováno s UV zářením při konstantní vlnové délce 254 nm a pH roztoku rovné pKa DK (tabulka 1) [28, 29].



Obrázek 4: Možný fotodegradační produkt diklofenaku; karbazolový produkt [29]

Jiná studie potvrdila, že DK nevykazuje téměř žádný rozklad bez simulovaného slunečního záření (ve tmě). Oproti tomu téměř všechny DK byl degradován při simulovaném slunečním UV záření (350 W xenonová lampa). Tyto výsledky ukazují, že degradace DK je výsledkem absorpce fotonů. V procesu fotodegradace DK absorbuje fotony a přejde do excitovaného stavu, dále DK předává energii rozpuštěnému kyslíku ve vodě za vzniku reaktivních forem kyslíku, které následně způsobují fotooxidaci DK. Výsledkem fotodegradace DK byly zaznamenané degradační produkty (obrázek 5). Spektra byla získána separací DK a degradačních produktů pomocí HPLC. UV-VIS spektra jsou zaznamenány v pěti minutovém časovém intervalu [30].



Obrázek 5: UV-VIS spektra samotného DK a degradačních produktů DK v čase. Časový interval: (A) 0 min; (B) 5 min; (C) 10 min. Degradační produkty DK: (D) 5 min; (E) 10 min; (F) 15 min [30]

Vliv HA na fotodegradaci farmaceutických molekul není stále úplně jednoznačný. Absorpce UV záření způsobuje, že molekuly HA podléhají chemickému rozkladu, a tím vznikají aktivní sloučeniny, které způsobují fotooxidaci organických kontaminant. Díky absorpci velké škále vlnových délek mohou HA působit jako filtr snižující energii dostupnou pro fototransformaci organických sloučenin. Nebo HA pomocí UV záření přecházejí do přechodného excitovaného stavu a přímo reagují s léčiv, čímž fotodegradaci podporují. Nepřímá fotolýza pravděpodobně stoupá v přítomnosti HA, ale na úkor přímé fotolýze, která by se měla snížit v důsledku konkurenční absorpce fotonů HA. Nicméně, v přítomnosti HA byl pozorován počáteční rychlý pokles koncentrace DK ve vodném prostředí [28, 31, 32].

Vzniklý fotodegradační produkt založený na karbazolu má viditelné zbarvení [27]. Modifikovaná struktura karbazolu totiž mění barvu ve vodném prostředí podle hodnoty pH. V prostředí neutrálního pH je sloučenina oranžová, v zásaditém pH žlutá, a v kyselém prostředí červená [33]. Tyto podobné barvy tato sloučenina mění i v organických rozpouštědlech v závislosti na přítomných aniontech [34, 35]. Samotný karbazol má zanedbatelnou absorpci ve viditelné oblasti spektra, a proto jsou v nepřítomnosti jiných chromoforů receptory na bázi diaminokarbazolu bezbarvé. Bylo prokázáno, že zavedení mírně elektronově odebírajících chlorových substituentů posune UV-VIS spektra diamidokarbazolů téměř k okraji viditelné oblasti [34]. Tyto sloučeniny by mohly najít využití jako kolorimetrické aniontové senzory [34] nebo indolová barviva [36].

Celkově byl DK pomocí fotodegradace degradován na vedlejší produkty. Všechny degradační produkty byly na bázi karbazolu [27, 28, 30, 31] v jednom případě vznikl konkrétně dimer karbazolu [29]. Jinak řečeno, pravděpodobně došlo k cyklizaci DK po ztrátě jednoho atomu chloru na karbazolové deriváty [31, 37]. Navzdory faktu, že byl DK rychle degradován, byly vytvořeny nové stabilní vedlejší produkty, jejichž vliv a toxicitu je třeba dále prozkoumat.

2.3 Metabolismus diklofenaku

Metabolismus DK úzce souvisí se znečištěním životního prostředí a imobilitou léčiv. Látky přetrvávající v půdách, jako je DK, mohou být biologicky dostupné pro řadu rostlin. Především vyšší rostliny mohou DK přijmout, ale vyloučit už ne. Metabolismus DK a s ním související vznik metabolitů, je důležitým faktorem, který by se měl brát v úvahu při studium míry a koncentrace DK v životním prostředí [32, 38].

2.3.1 *Mytilus trossulus*

Mytilus trossulus je běžný druh mlžů nacházející se především v Baltském moři. Tato skupina mlžů je velmi dobře prostudovaná; je dobře známá její fyziologie a metabolické dráhy. Tyto organismy filtrují velké množství vody, aby získaly potravu, a jsou známí také svou schopností přijímat kontaminanty z okolního prostředí. Právě proto se běžně využívají ke zkoumání akumulace a metabolismu léčiv. Tato skupina mlžů je zapojena do mnoha ekotoxikologických studií a programů biomonitoringu. *Mytilus trossulus* patří k nejrozšířenějším testovacím organismům pro bioakumulaci léčiv [32]. Léčiva ve vodném prostředí procházejí mnoha procesy. Některé sloučeniny jsou fotodegradovatelné, jiné jsou naopak perzistentní a hromadí se v sedimentech nebo ve vodě. Navíc mnoho léčiv a jiných kontaminantů mohou vzájemně

asociovat a vytvářet úplně jiné sloučeniny, což komplikuje pochopení jejich účinků na organismy a jejich osudu v životním prostředí. DK může také mít negativní vliv na vodní organismy hromaděním se v orgánech a narušením metabolických drah daného organismu [38, 39].

Polské studie [38, 39, 40] se zabývaly bioakumulací a metabolismem DK v mořském organismu *Mytilus trossulus*. Tyto organismy byly vystaveny DK po určitou dobu za účelem sledování koncentrace léčiva v jejich tkáních. Mlži byly vystaveny vcelku vysokým dávkám DK (133,33 $\mu\text{g/l}$), které převyšují reálné koncentrace tohoto léčiva v životním prostředí. Nejvyšší koncentrace léčiva v tkáni *Mytilus trossulus* byla poté zaznamenána 3. den (7,79 $\mu\text{g/g}$), následně tato koncentrace rychle klesla na 0,86 $\mu\text{g/g}$ [38]. Byly nalezeny dva hlavní metabolity DK, a to 4-hydroxydiklofenak a 5-hydroxydiklofenak. Oba hydroxylované metabolity byly nalezeny ve tkáních organismu i volně ve vodě [38, 39].

Když byl DK použit v odlišných koncentracích, nebyly ve vodě ani v tkáních detekovány žádné metabolity. V této studii byly mlži vystaveny nižší koncentraci DK (44 $\mu\text{g/l}$), která byla relevantní pro životní prostředí. Hydroxylované deriváty, které tedy v tomto případě detekovány nebyly, mohly být transformovány na jiné deriváty. Koncentrace DK v mořském prostředí je obecně relativně nízká, pohybuje se od několika ng/l do několika $\mu\text{g/l}$. Avšak neustálé vystavování mořských organismů nízkým koncentracím DK pro ně může představovat riziko. Celkem organismus *Mytilus trossulus* transformuje DK až na 13 různých metabolitů [40].

Zvyšování koncentrace v mlžích může ukazovat biologickou dostupnost DK a schopnost *Mytilus trossulus* absorbovat toto léčivo tělesnou schránkou a akumulovat ho. Po třech dnech se koncentrace DK ve tkáních mlžů významně snížila, což může způsobeno metabolizací DK nebo jeho detoxikací z organismu. Přítomnost obou hydroxyderivátů DK v mlžích a vodě potvrzuje jejich schopnost akumulovat a metabolizovat DK. Velmi vysoká koncentrace testovaného léčiva byla stresovým faktorem. Mlži reagovaly uzavřením krunýře, čímž se izolovaly od vnějších podmínek a léčivo nebylo adsorbováno. Faktem je, že v přírodě se tyto extrémní koncentrace nevyskytují, proto k adsorpci dochází [38].

Byla sledována také koncentrace DK ve vodě, kde se mlži vyskytovaly. Během experimentu se koncentrace léčiva snižovala a celkově klesla téměř o 86 %. Na začátku byla koncentrace DK 102,23 $\mu\text{g/l}$ a na konci experimentu 15,00 $\mu\text{g/l}$, což naznačuje absorpci léčiva mlži nebo jeho částečnou degradaci [38].

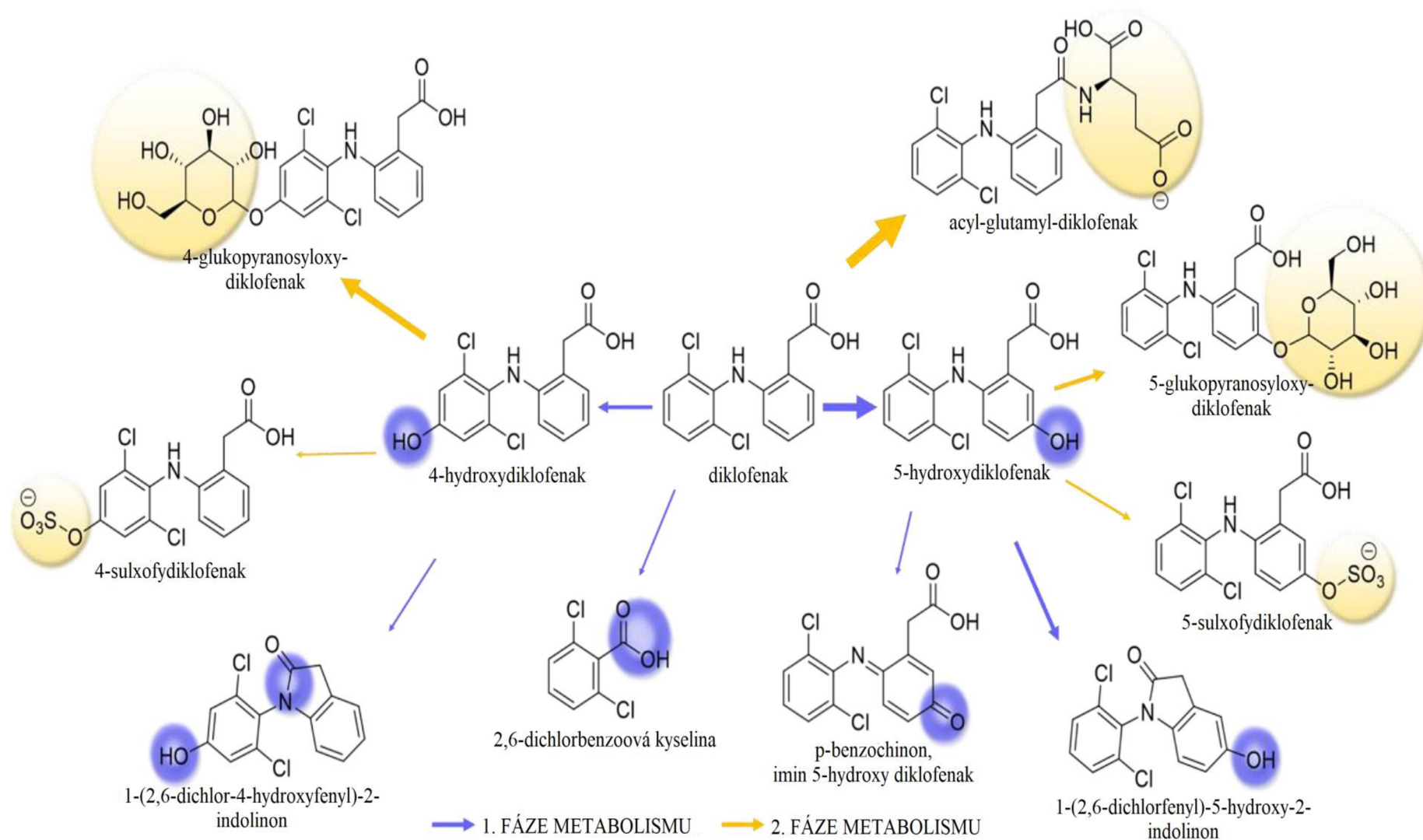
2.3.2 Rostliny

Studium metabolismu cizích látek v rostlinách je velmi důležité pro pochopení konečné akumulace daného xenobiotika jak v rostlině, tak v půdě, kde roste. Při pěstování rostlin na kontaminované půdě hrozí akumulace léčiv a přenos podél potravního řetězce na býložravce a masožravce, včetně lidí. Vyšší rostliny, stejně jako savci, mají mnoho enzymů, které metabolizují a detoxikují cizí látky. Metabolismus je zjednodušeně popisován třemi fázemi. V 1. fázi metabolismu dochází k oxidaci, hydrolýze a dealkylačním reakcím. Kam můžeme zařadit hydroxylaci DK a následné oxidační a cyklizační reakce. V 2. fázi metabolismu mohou být vzniklé metabolity, nebo i samotný DK, konjugovány s jinými molekulami. Jedná se například o kyselinu glukuronovou, glukózu, aminokyseliny, a sulfát. Metabolity 1. fáze

se tedy výrazně neakumulovaly, ale přeměnily se na zmíněné konjugáty. Zejména původní DK byl přímo konjugován s kyselinou glutamovou, přičemž vzniklý acyl-glutametyl-diklofenak představoval více než 70 % extrahovatelných metabolitů. Krok, kde je metabolismus vyšších rostlin odlišný od metabolismu savců, je 3. fáze. Rostliny nemají vylučovací cestu, proto ukládají vzniklé konjugáty do rostlinných vakuol nebo buněčných stěn. Při této poslední fázi vznikají neextrahovatelné zbytky, které v rostlině zůstávají. Zatím ale není známo, zda se tyto zbytky mohou uvolňovat za jiných podmínek, jako například v gastrointestinálním traktu lidí a zvířat. Teoreticky by mohlo dojít k opětovnému uvolnění DK nebo jeho metabolitů [41, 42].

Nejreaktivnější místa na molekule DK se jeví poloha 5 na kruhu kyseliny fenyloctové, poloha 4 na kruhu dichlorfenylu a karboxylová kyselina (obrázek 6). Dva základní metabolity DK vznikly hydroxylací benzenového kruhu, a je to zároveň počáteční krok transformace DK. Vznikl 5-OH DK a 4-OH DK. Navzdory oxidaci DK a následným konjugačním reakcím oxidovaných produktů byl nejhojnějším produktem trvale acyl-glutametyl-diklofenak, což zdůrazňuje, že samotný DK byl snadno konjugován s kyselinou glutamovou v buňkách rostlin. Přímá konjugace DK potom může maskovat přítomnost samotného DK v životním prostředí [41].

Metabolismus DK v rostlinách [41, 42] a mlžích [38, 39] je velmi podobný metabolismu DK v lidském těle. V první fázi se DK hydrolyzuje, hydratuje a redukuje, v důsledku čehož vznikají hydroxyderiváty, převážně 4-OH DK a 5-OH DK. Ve druhé fázi jsou tyto sloučeniny spojeny s kyselinou glukuronovou a jsou pak snadno vylučovány z těla. Při studium sorpce DK do půdy by se měly brát tyto faktory v úvahu, protože právě biologická dostupnost DK pro rostliny může osud léčiva v ŽP ovlivnit [41].



Obrázek 6: Struktury možných metabolitů a konjugátů DK při 1. a 2. fázi metabolismu [41].

2.4 Vybrané analytické metody

2.4.1 UV-VIS spektroskopie

Ultrafialová-viditelná spektroskopie (UV/VIS spektroskopie) je běžná metoda využívaná pro měření látek v roztoku schopných absorbovat elektromagnetické záření specifické vlnové délky [43]. Pro výpočet prošlého a absorbovaného světla roztokem se využívá Bouguer-Lambert-Beerův zákon, který dále umožňuje stanovit koncentraci dané látky v roztoku. Rozsah absorpční spektrometrie v ultrafialové (UV) a viditelné (VIS) oblasti se uvádí 200-800 nm. Pro UV oblast jsou to vlnové délky 200-400 a pro VIS oblast 400-800 [44]. Vyšší hodnoty vlnových délek pak přísluší blízké infračervené spektroskopii. Jako zdroj fotonů je používána wolframová žárovka, která působí ve viditelné oblasti a halogenová zářivka, která působí naopak v ultrafialové oblasti spektra [43, 44]. Nejedná se o metodu separační, proto pro stanovení jednotlivých látek ve směsích je nutno použít separační analytickou metodu, například kapalinovou nebo plynovou chromatografii.

V posledních letech se díky výhodám vysoké přesnosti, vysoké účinnosti detekce, nedestruktivnímu chování, nízké ceně a přenosnosti vyvinula technologie UV-VIS v kombinaci s řadou pokročilých technologií ve velmi účinný nástroj pro detekci znečišťujících látek ve vodním prostředí [43].

2.4.2 FTIR spektroskopie

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) zkoumá molekulové vibrace. Díky tomu můžeme identifikovat funkční skupiny, které jsou spojeny s charakteristickými infračervenými absorpčními pásy, a sloučeninu tak pojmenovat [45].

Interakcí infračerveného záření se vzorkem nepřejde molekula do excitovaného stavu, ale dojde pouze k produkci vibrací v molekulách schopných absorbovat toto záření. Jedná se o nedestruktivní měření v reálném čase k identifikaci a charakterizaci chemických struktur pevných, kapalných nebo plyných vzorků [46]. FTIR má široký rozsah použití, od analýzy malých molekul nebo molekulárních komplexů až po analýzu buněk nebo tkání [45]. Infračervené spektrum lze rozdělit do tří spektrálních oblastí. Mnoho studií IR využívá oblast MIR, která budí základní vibrace [46, 47].

Infračervené záření se dělí na:

- blízké (NIR, $\nu = 10\ 000\text{-}4\ 000\ \text{cm}^{-1}$);
- střední (MIR, $\nu = 4\ 000\text{-}200\ \text{cm}^{-1}$) a
- daleké (FIR, $\nu = 200\text{-}10\ \text{cm}^{-1}$),

kde ν je vlnčet [47].

Ve střední infračervené oblasti jsou pozorovány dva hlavní typy vibrací. Jedná se o vibrace podél chemických vazeb, nazývané natahovací vibrace, které zahrnují změny délky vazby. Další typ vibrací, rotační, zahrnují změny vazebných úhlů. Vibrace dané chemické funkční skupiny se tedy očekávají ve specifických oblastech, které závisí na typu atomů a chemických vazeb [45].

FTIR spektroskopie se využívá v environmentálních studiích k analýze složení a struktury vzorků týkajících se životního prostředí. Analýzu lze provést pro stanovení vazebného mechanismu v případě odstraňování znečišťujících látek sorpčními procesy [47]. Pomocí FTIR spektroskopie lze také detekovat sekundární strukturální změny proteinů [48].

Kromě tradičních transmisních metod FTIR (např. KBr tablety) se dnes používají modernější techniky, jako jsou zeslabený úplný odraz (ATR-FTIR) a difuzní odrazová infračervená Fourierova transformační spektroskopie (DRIFTS). Tyto metody vyžadují pouze krátkou přípravu vzorku [47, 49].

Princip techniky ATR-FTIR spočívá v tom, že světlo zavedené do ATR hranolu pod úhlem přesahujícím kritický úhel pro vnitřní odraz, vytvoří na odrazné ploše evanescentní vlnu (zvláštní typ elektromagnetického záření). Interakce této evanescentní vlny se vzorkem určuje záznam ATR spektra. Hlavní charakteristikou ATR-FTIR je skutečnost, že vzorky částic jsou nanášeny na povrch krystalu ATR. Jako krystal se nejčastěji používá diamant nebo krystaly selenidu zinečnatého [47, 48]. ATR-FTIR spektroskopii lze aplikovat na širokou škálu materiálů, jako jsou: prášky, kapaliny, gely, pasty, kaše, vlákna, měkké pevné materiály, povrchové vrstvy, polymerní filmy a vzorky po odpaření rozpouštědla. Je to univerzální a nedestruktivní technika, která vyžaduje minimální přípravu vzorku [47, 49].

Princip DRIFTS spektroskopie je difúzní odrazivost, která vzniká, když světlo dopadá na povrch vzorku, proniká, a odráží se do všech směrů. Vlnová délka a rozložení intenzity odraženého světla bude obsahovat strukturní informace o vzorku [47, 49]. Výhodou této techniky je rychlé měření práškových vzorků, minimální nebo žádná příprava vzorku a schopnost detekovat minoritní složky. Je jednou z nejvhodnějších metod pro zkoumání hrubých a neprůhledných vzorků a je schopná provádět měření v reálných podmínkách [47].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie a přístroje

Použité chemikálie:

- Léčivo diklofenak
- Mili-Q voda
- 99% kyselina octová
- 85% kyselina orthofosforečná
- Kyselina boritá, prášek
- Hydroxid sodný, perličky
- 99% methanol

Použité laboratorní přístroje a pomůcky:

- Běžné laboratorní pomůcky
- Magnetická míchačka, Thermo Fisher TM
- Třepačka LT2
- Běžné váhy, Denver Instrument S-4002
- Analytické váhy, SCALTECH SBC 31
- pH metr, METTLER TOLEDO
- Konduktometr, METTLER TOLEDO, SevenMulti
- Injekční filtry AGILENT; nylon 0,45 μm
- Centrifuga, Hettich ROTINA 420R
- Sušárna Durocell BMT
- UV-VIS spektrometr, HITACHI U-3900H
- FTIR spektrometr, NICOLET iS50

3.2 Studované půdy

Dále pro tento experiment byly použity dva typy půd. Ve své bakalářské práci [50] jsem používala půdu s označením FB37. Pro cíle diplomové práce byla vybrána odlišná půda s označením FB17. Jejich hlavní rozdílné charakteristiky jsou uvedeny v tabulce 3. Půda FB17 má vyšší obsah organické hmoty, proto se dá očekávat lepší interakce s léčivem a intenzivnější sorpce DK. Obě tyto půdy byly odebrány v okolí řeky Bečvy, a pochází z centra pro výzkum toxických látek v prostředí (RECETOX). V tabulce 2 je znázorněna zrnitost půdy FB17.

Tabulka 2: Zrnitost půdy FB17

< 1 μm	< 10 μm	< 50 μm	10 - 50 μm	50 - 250 μm	250 - 2000 μm
12,8 hm. %	28,9 hm. %	55 hm. %	26,1 hm. %	28,9 hm. %	16,1 hm. %

Tabulka 3: Základní charakteristiky půd FB37 a FB17

	FB37	FB17
Skupina půd	Fluvizemě	Lužní půda
Typy půd	Fluvizol	Feozemě
Obsah humusu	3,84 hm. %	2,98 hm. %
Obsah organického uhlíku celkem	1,73 hm. %	2,23 hm. %
Obsah org. uhlíku fulvinových kyselin	0,24 hm. %	0,23 hm. %
Obsah org. uhlíku huminových kyselin	0,21 hm. %	0,28 hm. %
Fulvinové kyseliny/huminové kyseliny	0,88	1,22
Obsah org. uhlíku humusových látek	0,45 hm. %	0,51 hm. %
Stupeň humifikace	12,1 hm. %	12,6 hm. %

3.3 Srovnání půd FB37 a FB17

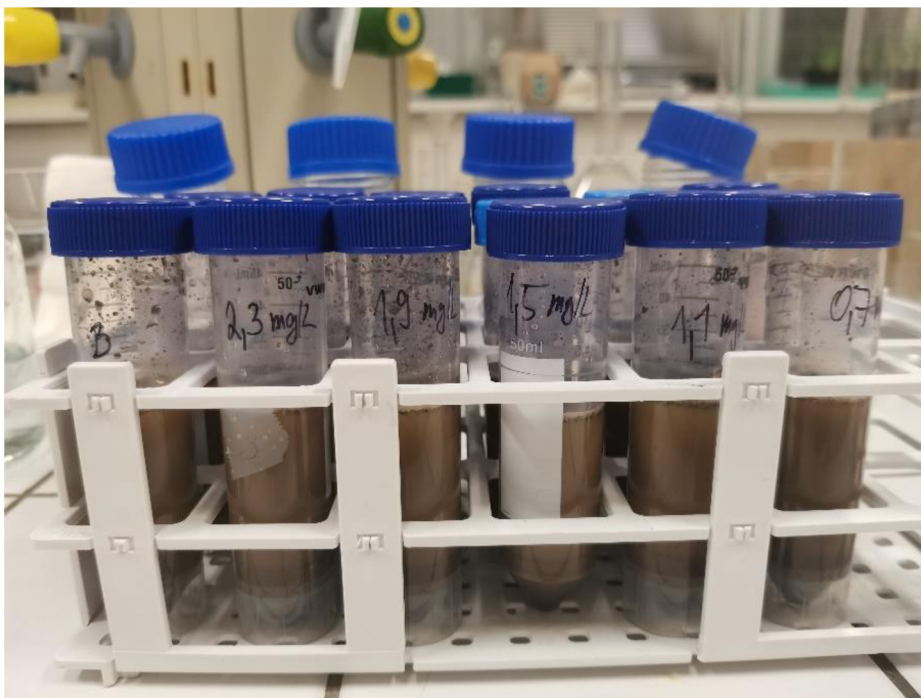
Jedním z hlavních cílů mé práce bylo porovnat a charakterizovat sorpční a desorpční procesy DK v odlišných půdách. Informace o těchto procesech s půdou FB37 již byly stanoveny v rámci mé bakalářské práce [50]. Pro porovnání bylo nutné stanovit tyto charakteristiky pro půdou FB17. Následné sorpce a desorpce půdy FB17 tedy proběhly ekvivalentně k půdě FB37. Byly použity stejné postupy a podmínky práce pro zachování nejrealnějšího výsledku.

Dále byly sorpční a desorpční procesy obou půd porovnávány v různých hodnotách pH prostředí. Hodnota pH má velký význam na interakce probíhající v tomto experimentu. Tato hodnota totiž ovlivňuje chemickou formu DK, a s tím související jeho chování. Pro experiment byl použit Brittonův – Robinsonův pufr. Tento universální pufr dokáže vytvořit pH v rozsahu 2-12. Skládá se z kyselé a zásadité složky, které se smíchají v určitém poměru pro dosažení daného pH. Kyselá složka se skládá ze tří kyselin – 0,04 M kyselina boritá (prášek), 0,04 M 99% kyselina octová a 0,04 M 85% kyselina orthofosforečná. Zásaditou složku pak představuje 0,2 M hydroxid sodný ve formě peciček. Pro potřeby experimentu byly vytvořeny tři pufrы o hodnotách pH 5, 7 a 10. Pro větší pokrytí rozsahu pH tohoto pufru měl být prvně použit pufr s hodnotou pH 3. Tento pufr ale nebylo možné použít, díky nízké rozpustnosti DK v extrémně kyselém prostředí. DK měl tendence se spíše srážet, díky své nedisociované formě.

3.3.1 Sorpce půda FB17

Před samotným sorpčním experimentem byl připraven 1 litr zásobního roztoku o zvolené koncentraci 2,3 mg/l DK v Mili-Q vodě. Toto množství DK bylo naváženo na analytických vahách a ponecháno rozpouštět v 1 litru Mili-Q vody 24 hodin. Poté byla připravena kalibrační řada. Pro zachování jednoty byly připraveny stejné koncentrace kalibračních roztoků jako v bakalářské práci, tedy: 2,3; 1,9; 1,5; 1,1 a 0,7 mg/l.

Pro sorpční experiment bylo smícháno vždy 25 ml dané koncentrace vzorku a 0,5 g půdy FB17. Byl také vytvořen srovnávací vzorek pouze půdy s vodou. Každý vzorek měl tři opakování. Takto připravené roztoky byly vloženy na třepačku a třepány na maximální výkon po dobu 48 hodin.



Obrázek 7: Koncentrační řada DK a srovnávací vzorek (půda FB17)

Poté byly vzorky odebrány z třepačky a odstředěny v centrifuze při 4000 ot/min po dobu 15 minut. Supernatant byl oddělen filtrací pomocí malých injekčních filtrů s průměrem pórů 0,45 μm a pomocí stříkačky. Takto vznikly vzorky po sorpci, a dále byly podrobeny analýze pomocí UV-VIS spektrometrie. Byla také zaznamenána jejich vodivost a hodnota pH.



Obrázek 8: vlevo: centrifuga, Hettich ROTINA 420R (4000 ot/min, 15 min), vpravo: odstředěný vzorek

3.3.2 Desorpce půda FB17

Pro desorpční experiment byla půda opět naředěna. K pevnému podílu zbylém v plastové zkumavce po odstředění bylo přidáno 10 ml Mili-Q vody. Takto naředěné vzorky byly ihned protřepány pro vytvoření opětovné suspenze půdy ve vodě a zamezení uplývání půdy na stěnách zkumavky.

Takto připravené vzorky byly opět třepány na třepačce po dobu 48 hodin. Po uplynulé době došlo k odstředění v centrifuze při 4000 ot/min po dobu 15 minut. Vzniklý supernatant byl přefiltrován a vzorky byly uloženy do lednice s označením vzorky po desorpci. Opět byly vzorky analyzovány pomocí UV-VIS spektrometrie a změřena jejich vodivost a pH.

3.4 Vliv pH

3.4.1 Brittonův – Robinsonův pufr

Pro přípravu Brittonova – Robinsonova pufru bylo nutné nejprve připravit dvě jeho hlavní složky – kyselou (A) a zásaditou složku (B). Kyselá složka vznikla smícháním 2,45 ml 85% kyseliny orthofosforečné, 2,30 ml 99% kyseliny octové a 2,47 g kyseliny borité v 1 l Mili-Q vody. Tato směs byla ponechána několik minut na magnetické míchačce pro úplné rozpuštění všech složek. Zásaditá složka vznikla rozpuštěním 8 g hydroxidu sodného v 1 l Mili-Q vody, a opět byla plně rozpuštěna na magnetické míchačce. Poté pomocí daných poměrů složek A a B byly připraveny universální pufrы o hodnotách pH 5, 7 a 10. Příklady těchto poměrů jsou znázorněny v tabulce 4. Množství B bylo však přidáváno postupně při souběžném kontrolování pH. Konečné poměry se proto mohou nepatrně lišit. Upravené a použité poměry byly označeny A* a B* (přečítány na 1 l). Vzniklé hodnoty pH, se kterými bylo dále pracováno byly: 5,02; 6,98 a 10,04.

Tabulka 4: Poměry kyselé složky (A) a zásadité složky (B) pro přípravu pufrů

	A (ml)	A* (ml)	B (ml)	B* (ml)
pH 3	100	900	18,27	150
pH 5	100	800	34,79	278
pH 7	100	700	52,5	350
pH 10	100	600	77,98	460

Na analytických vahách bylo naváženo 2,3 mg DK, který byl poté kvantitativně přesunut do 1 litru daného pufru. Rozpuštění, stejně jako u vody, trvalo přibližně 24 hodin. Jak již bylo zmíněno, v pufru s pH 3 se DK nerozpusťoval, což bylo ověřeno analýzou pomocí UV-VIS spektrometrie. Proto byl nahrazen pufr s pH 5.

3.4.2 Sorpce a desorpce půd FB37 a FB17 s vlivem pH

Pro posouzení vlivu pH na adsorpci DK na půdu byly provedeny sorpční a desorpční experimenty s pH 5, 7 a 10. Nejprve byly připraveny zásobní roztoky pufrů podle tabulky 4. Ze zásobního roztoku o koncentraci 2,3 mg/l DK byla připravena kalibrační řada. Opět byly nachystány koncentrace, se kterými bylo pracováno u všech předchozích sorpčních experimentů, jsou to koncentrace: 2,3; 1,9; 1,5; 1,1 a 0,7 mg/l. Poté byly kalibrační roztoky proměřeny pomocí UV-VIS spektrofotometru a vytvořeny tři kalibrační křivky pro všechny hodnoty pH.

Experimentální sorpce i desorpce byly provedeny pouze pro nejvyšší koncentraci DK (2,3 mg/l), na obou půdách (FB37 a FB17) pro tři hodnoty pH (5, 7 a 10). DK byl navážen na analytických vahách a převeden do daného pufru. Rozpuštěn byl na magnetické míchačce.

Pro sorpci v pufru s pH 5 bylo připraveno celkem 8 vzorků. Dva vzorky po 25 ml byly pufrы s koncentrací 2,3 mg/l DK. K těm bylo přidáno 0,5 g půdy FB37. Dále byly připraveny dva

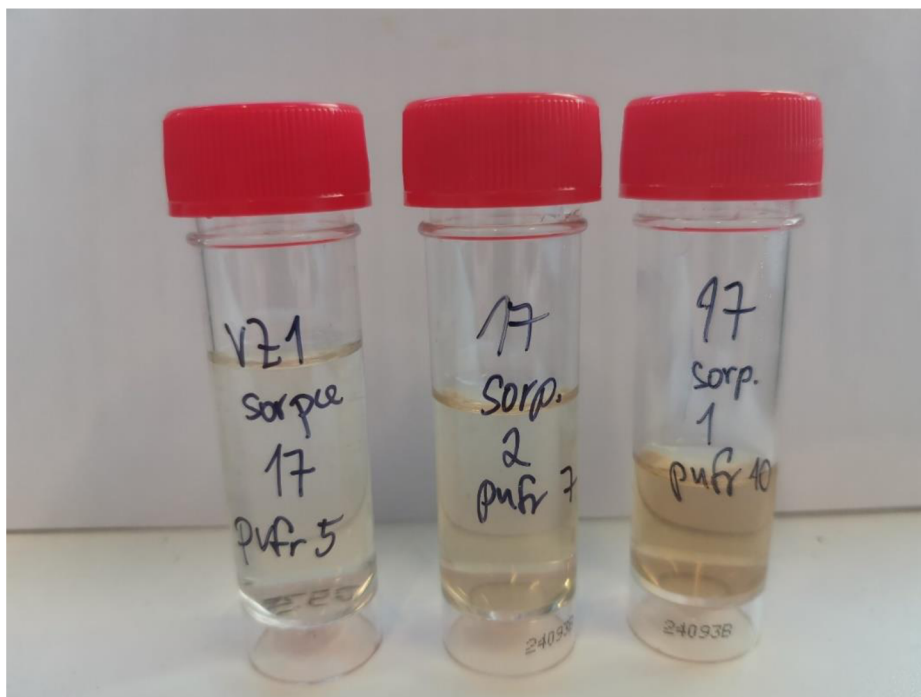
srovnávací vzorky o stejném objemu, ale bez léčiva. Stejně 4 vzorky byly připraveny pro půdu FB17. Půda byla vždy před použitím rozdrovena v hmoždíři na jemný prášek a případně zbavena malých nečistot, jako lístků nebo malých kamínků. Pro další dvě hodnoty pH (7 a 10) byl postup totožný. Všechny vzorky byly přesunuty na třepačku, kde byly třepány po dobu 48 hodin. Poté byly vyjmuty a odstředěny v centrifuze při 4000 ot/min po dobu 15 minut. Vzniklý supernatant byl přefiltrován a uchován pro další analýzu.

Pro desorpční proces bylo k půdě zbylé po odstředění přidáno 10 ml daného pufru. Takto připravené vzorky byly třepány opět 48 hodin, odstředěny a přefiltrovány. Všechny vzorky po sorpci i desorpci byly analyzovány pomocí UV-VIS spektrofotometrie. Byly také průběžně sledovány hodnoty pH a vodivosti.

Chtěla bych krátce okomentovat barevný rozdíl, který vznikl mezi jednotlivými vzorky. Jednalo se o odstředěné a přefiltrované vzorky jak po sorpci, tak po desorpci. Na obrázku 9 lze tento rozdíl spatřit. Vzorky po sorpci jsou čtyři vzorky vlevo, po desorpci čtyři vpravo. Intenzivnější zbarvení jsme mohli pozorovat u vzorků v pufru 10, a to u obou experimentů. Vzorky v pufru s pH 7 byly světlejší. Intenzivní zbarvení vzorků bylo pravděpodobně způsobeno vyluhováním většího množství huminových kyselin, nacházejících se v půdě. Dalo by se tedy odvodit, že HA snadněji přecházejí do roztoku v zásaditém prostředí (pH 10), a tím ztrácejí svou vazbu celkově k půdě. Jejich přirozený pohyb v půdním roztoku může být hodnotou pH tedy také silně ovlivněn. Obrázek 10 představuje rozdíl intenzity barev ve všech sledovaných pufrch. Lze zaznamenat pokles intenzity zbarvení se snižujícím se pH.



Obrázek 9: Odstředěné a přefiltrované vzorky, vlevo: vzorky po sorpci, vpravo: vzorky po desorpci



Obrázek 10: Vzorčky po sorpci při různých hodnotách pH, zleva: pufr 5, 7 a 10

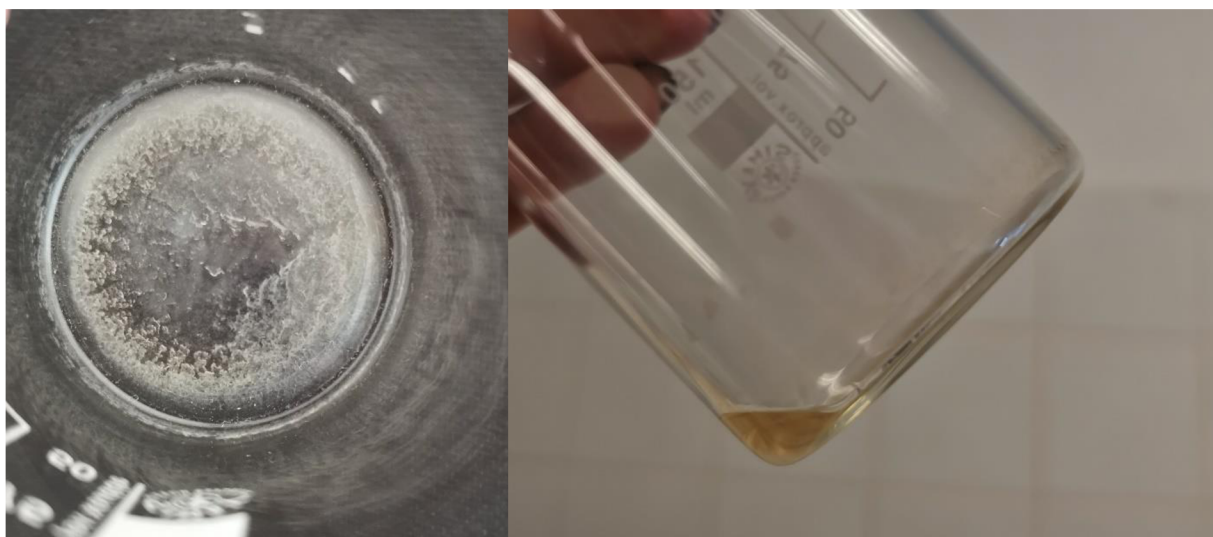
3.5 Degradace diklofenaku

Dalším z mých cílů bylo prozkoumat samovolnou degradaci DK. Z mnoha studií vyplývá, že DK podléhá fotodegradaci. Jako možný degradační produkt byla označena modifikovaná struktura karbazolu. V tomto experimentu se tedy dá očekávat vznik podobné látky.

Byl připraven zásobní roztok DK v 1 l odměrné baňky. Na analytických vahách bylo naváženo 2,3 mg DK, a to bylo kvantitativně přesunuto do 1 l Milli-Q vody. Takto připravený roztok byl poté míchán na magnetické míchačce po dobu 24 hodin do úplného rozpuštění DK. Poté byl tento 1 litr rozdělen na 2 poloviny. 500 ml roztoku DK bylo uschováno v lednici, při teplotě $\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve tmě. Druhá polovina byla ponechána volně v laboratoři, tedy při laboratorní teplotě ($\sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$) s přístupem slunečního záření. Oba vzorky byly ihned změřeny pomocí UV-VIS spektrofotometrie pro počáteční údaje.

Vzorek umístěný volně v laboratoři byl poté každých 7 dní analyzován pomocí UV-VIS spektrofotometrie. Vzorek v lednici, u něhož se neočekávaly nějaké markantní změny, byl měřen každé 4 týdny stejnou metodou. Dále byla u obou vzorků průběžně sledována vodivost a pH.

Na konci experimentu byl vzorek, degradující volně v laboratoři, analyzován pomocí FTIR spektrometrie za účelem přiblížení struktury vzniklého produktu. Pro tuto analýzu bylo 100 ml vzorku odpařeno do sucha v sušárně při teplotě $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po odpaření ulpěl produkt na dně kádinky (obrázek 11). Kádinka byla ponechána v laboratoři pro vychladnutí na laboratorní teplotu. Poté byl produkt rozpuštěn pomocí methanolu a vzniklá směs měla žlutohnědé zbarvení (obrázek 11). Toto zbarvení může také indikovat vzniklý produkt, protože roztok samotného DK je čirý.

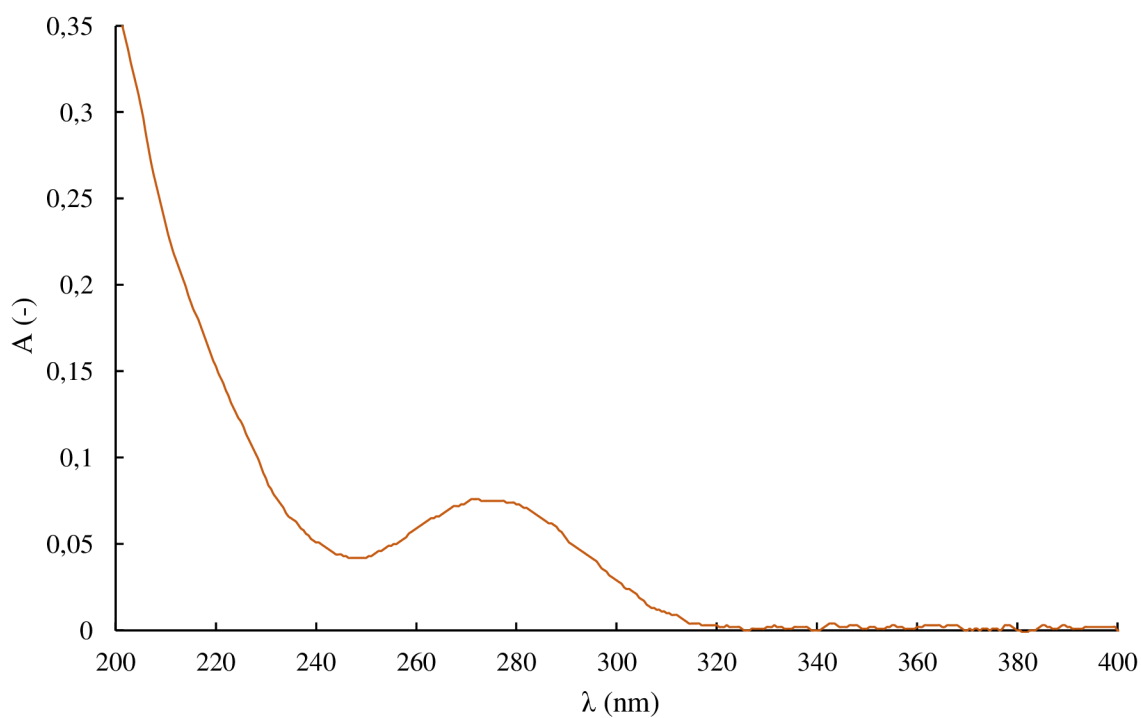


Obrázek 11: Degradací produkt DK: vlevo – po vysušení, vpravo – po rozpuštění v methanolu

3.6 Výsledky

3.6.1 Srovnání sorpce a desorpce půd FB17 a FB37

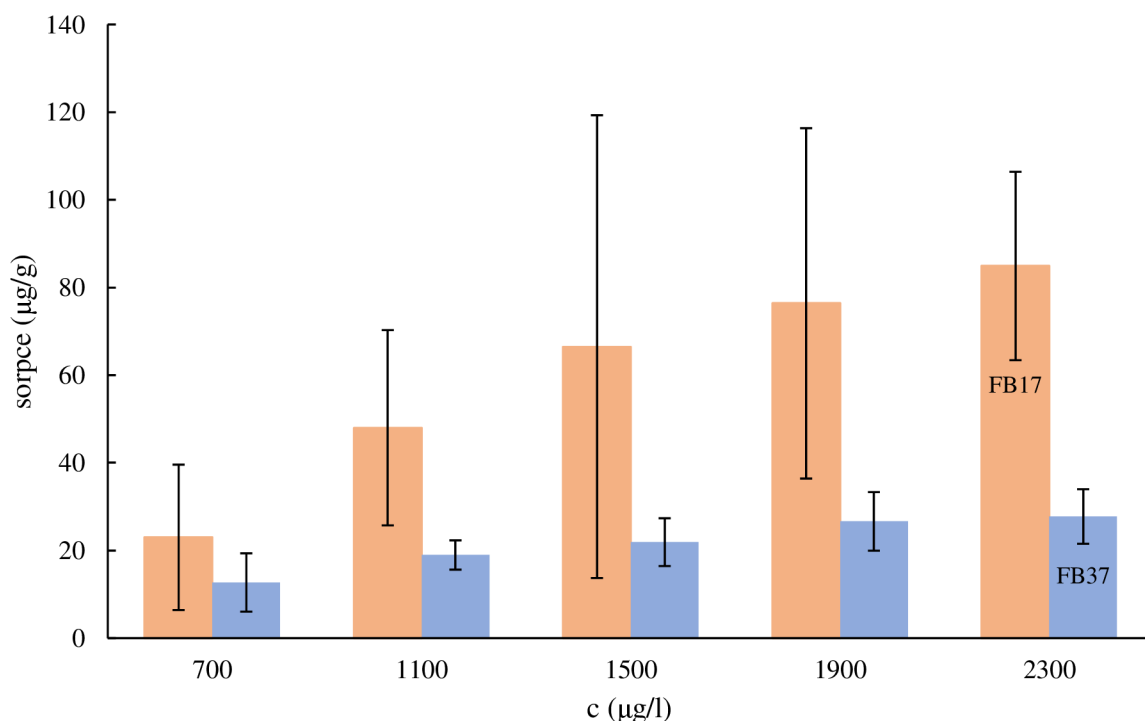
Pro analýzu veškerých vzorků po sorpci a desorpci byla použita UV-VIS spektrofotometrie. Pro výpočty touto metodou bylo nutné nalezení absorpčního maxima DK. To bylo stanoveno na 275 nm pomocí absorpčního spektra DK (obrázek 12). Následně byla stanovena kalibrační křivka pomocí kalibračních roztoků. Poté bylo pomocí kalibrační křivky stanoveno adsorbované množství, následně i desorbované množství DK.



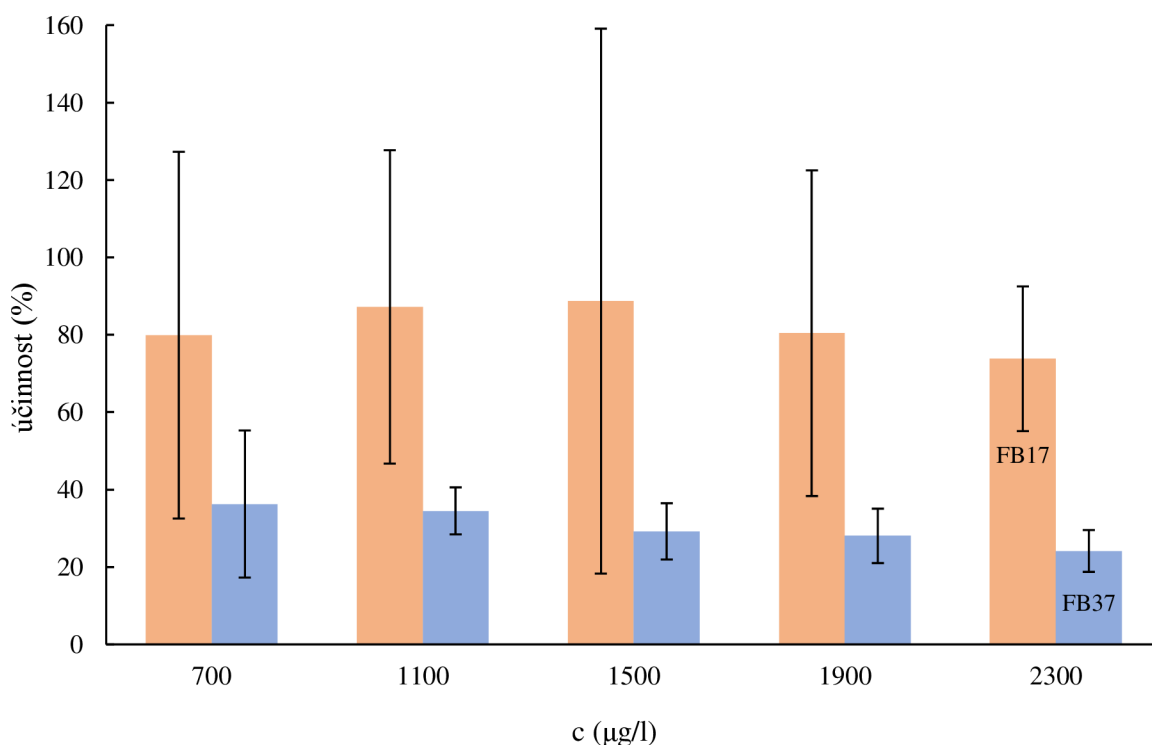
Obrázek 12: Absorpční spektrum diklofenaku

Pro půdu FB17 byl sorpční experiment velmi úspěšný. Sorpce proběhla u všech sledovaných koncentrací a byla navíc daleko vyšší než u půdy FB37. Porovnání adsorbovaného množství obou půd je znázorněno na obrázku 13. Sorpce půdy FB17 se rapidně zvyšovala se zvyšující se koncentrací DK. Hodnoty adsorbovaného množství se pohybovaly v rozmezí 85-23 $\mu\text{g/g}$ pro půdu FB17. Pro půdu FB37 byly hodnoty o poznání nižší, a byly v rozmezí 30-10 $\mu\text{g/g}$. Nejnižší hodnota adsorbovaného množství půdy FB17 byla téměř totožná s nejvyšší hodnotou adsorbovaného množství půdy FB37.

Účinnost sorpce pro půdu FB17 byla taktéž vyšší a představovala v průměru 82 %. Se snižující se koncentrací DK se účinnost sorpce zvyšovala, dosáhla maximální účinnosti 88,7 % při koncentraci 1,5 mg/l, a poté se lehce snižovala. V porovnání s půdou FB37, kde se průměrná účinnost sorpce rovnala 30 %, je to obrovské zvýšení. Účinnost sorpce pro půdu FB37 se snižovala od nejnižší koncentrace DK po nejvyšší. Účinnost obou půd je znázorněna na obrázku 14.



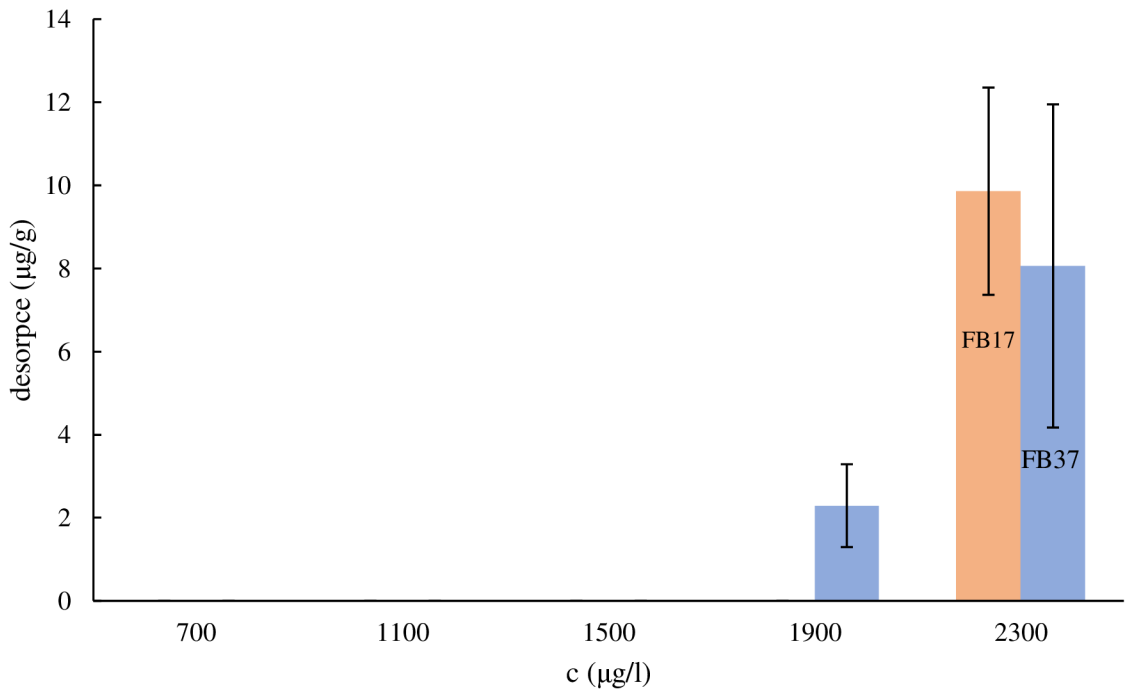
Obrázek 13: Adsorbované množství DK půd FB37 a FB17



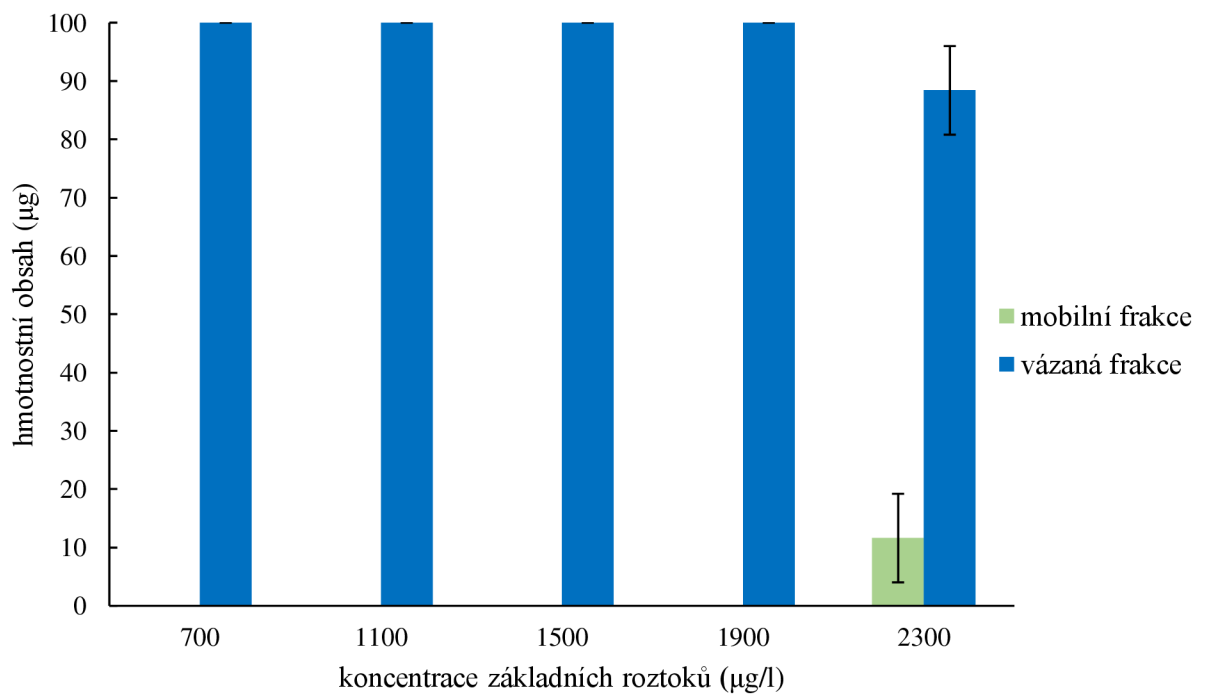
Obrázek 14: Účinnost adsorpce DK půd FB37 a FB17

Desorpční proces byl málo výrazný u obou sledovaných půd (obrázek 15). DK z půdy FB37 desorboval při dvou nejvyšších koncentracích (2,3 a 1,9 mg/l). Jednalo se ale v obou případech o velmi malé desorbované množství, které činilo v průměru 5 $\mu\text{g/g}$. Při nejvyšší koncentraci vzorku došlo u obou půd k nejvyšší desorpci. Nejvyšší desorbované množství pro půdu FB37 činilo 8 $\mu\text{g/g}$. Pro půdu FB17 byla nejvyšší desorpce rovna 9,86 $\mu\text{g/g}$ a zároveň to byla jediná sledovaná koncentrace kde k desorpci vůbec došlo.

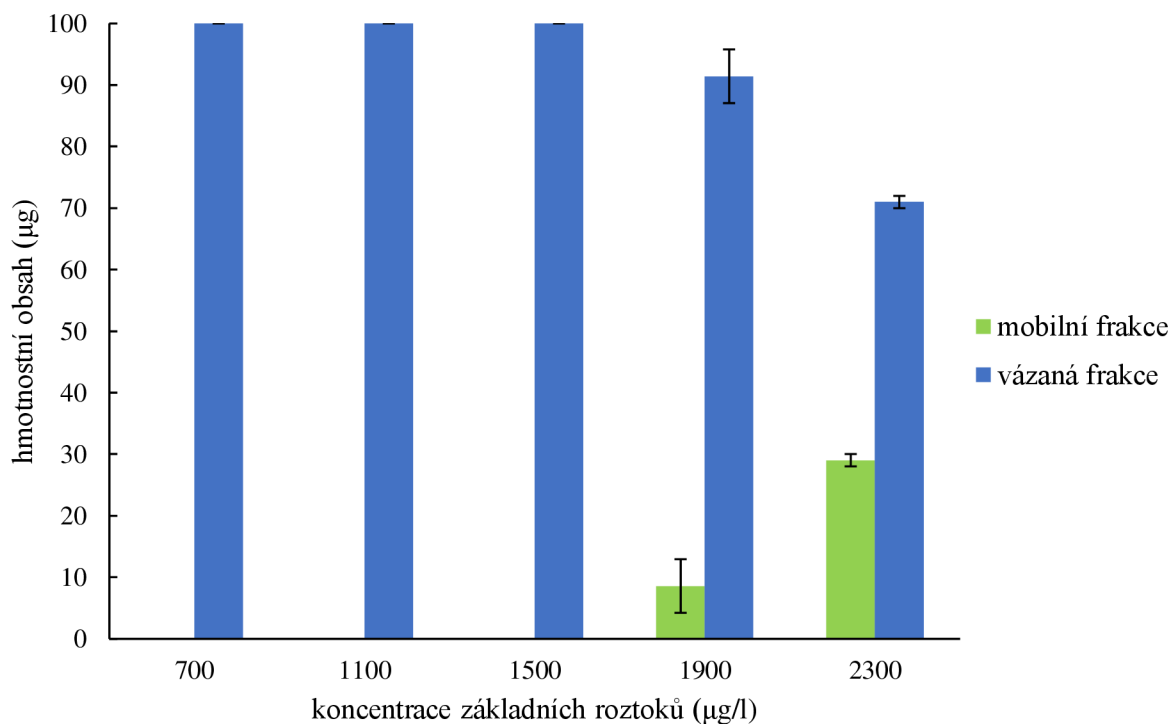
Z obrázků 16 a 17 vychází, že mobilní frakce je u obou půd velmi malá, až zanedbatelná. Z veškerého absorbovaného množství se tedy jen malé množství desorbovalo a většina DK zůstala vázána k půdě v obou případech. Tyto výsledky mohou představovat silnou vazbu, která mezi DK a půdou obecně vzniká. Pravděpodobně došlo k obsazení všech vazebných míst na povrchu adsorbentu a vazebná kapacita nebyla převyšena, proto k desorpci u nízkých koncentrací DK nedošlo. U nejvyšší koncentrace můžeme předpokládat plné obsazení monovrstvy a tvorbu komplexů a hromadění DK při adsorpci. Při desorpci poté přebytečný DK ochotně přešel do vodné fáze i díky pH prostředí, ve kterém je DK disociovaný. Nemá neutrální formu, a proto by neměl tvořit komplexy na povrchu půdy. Hodnota pH se při tomto experimentu pohybovala v rozmezí 7-8 (obrázek 20).



Obrázek 15: Desorbované množství DK půd FB3F7 a FB17



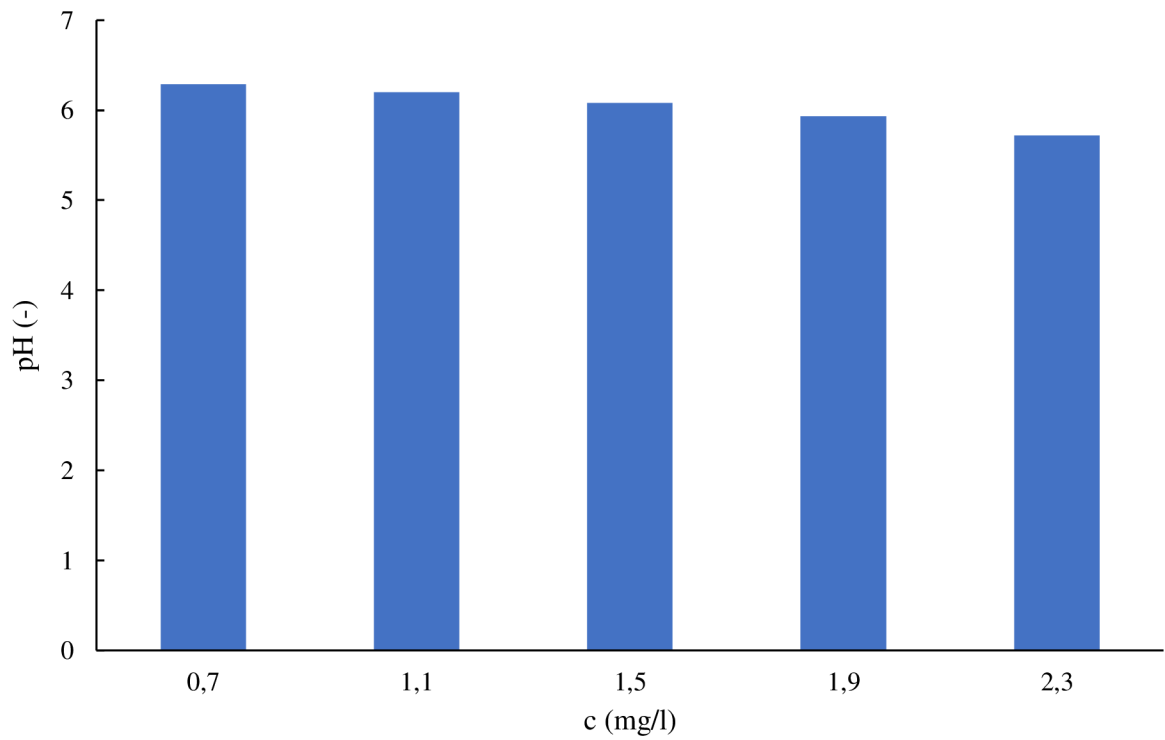
Obrázek 16: Hmotnostní obsah mobilní a vázané frakce DK (půda FB17)



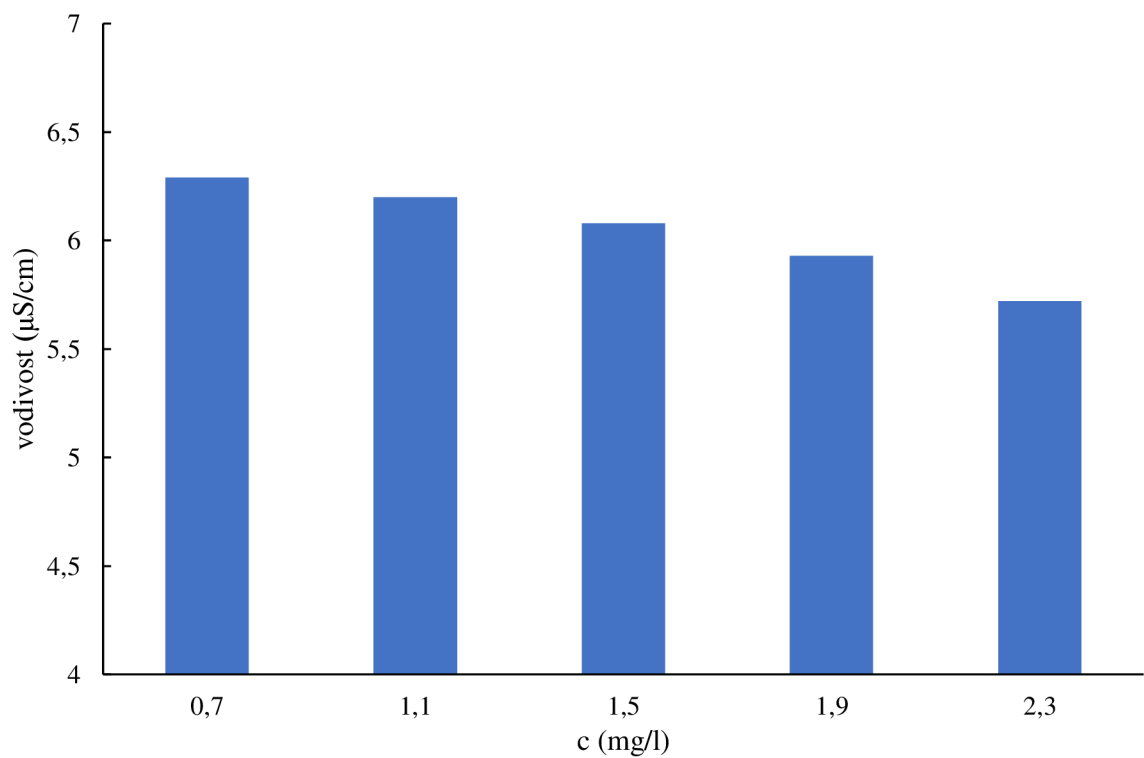
Obrázek 17: Hmotnostní obsah mobilní a vázané frakce DK (půda FB37)

3.6.2 Srovnání hodnot vodivosti a pH půd FB17 a FB37

Během těchto experimentů bylo průběžně měřeno pH a vodivost roztoků. Hodnoty pH a vodivosti pro koncentrační řadu DK jsou znázorněny na obrázcích 18 a 19. Vodivosti samotného DK v Milli-Q vodě se pohybují v rozmezí 5,7-6,3 µS/cm. Vodivost je v tomto případě vcelku nízká díky přítomnosti iontů pouze z léčiva. DK je slabá kyselina, proto je průměrné pH kalibrační řady DK je rovno 6,04.



Obrázek 18: Hodnoty pH kalibrační řady DK



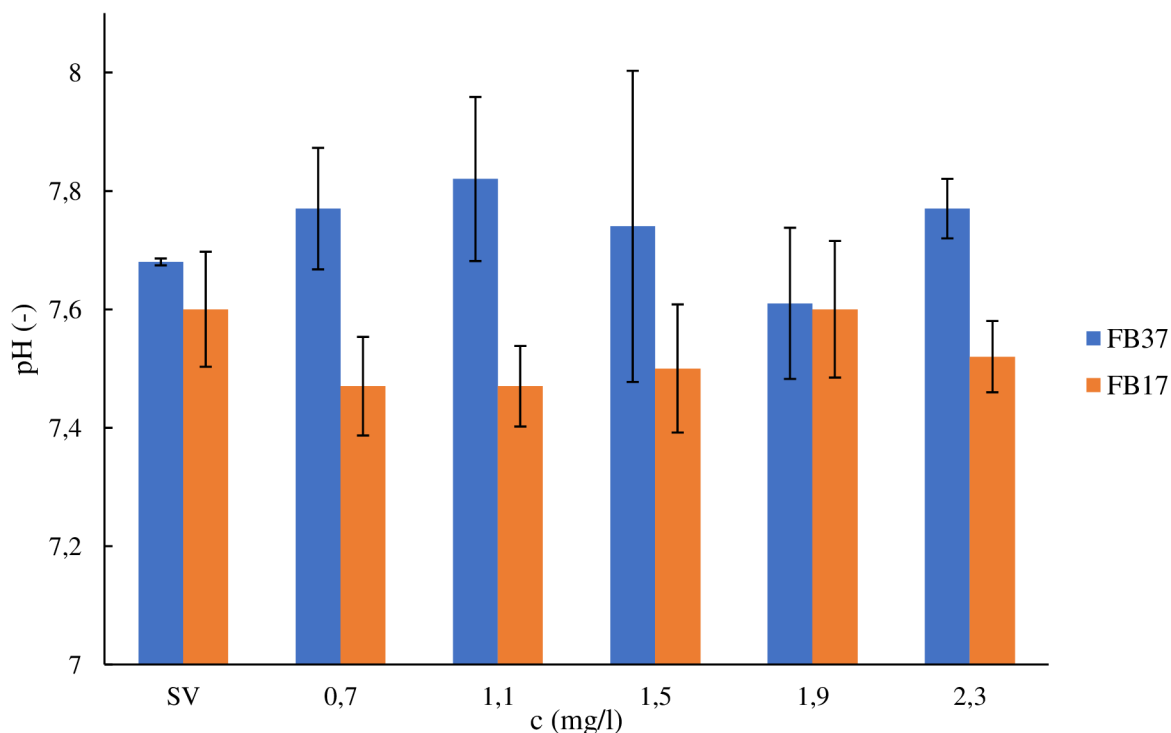
Obrázek 19: Hodnoty vodivosti kalibrační řady DK

Hodnoty pH se po sorpčním i desorpčním experimentu u obou půd zvýšily. Z průměrné hodnoty pH kalibrační řady DK (pH = 6) se u vzorků po sorpci změnilo na hodnoty v rozmezí 7,6-7,8 pro půdu FB37. Pro půdu FB17 byly hodnoty v rozmezí pH 7,5-7,6 (obrázek 20). Toto zvýšení je pravděpodobně důsledkem sorpce DK na půdu a působením odlišných iontů z půdy. Po odstředění se v supernatantu nacházelo méně kyselého DK. Záleží i na typu půdy a na množství huminových kyselin, které se mohou vyluhovat při třepání. Hodnota pH půdy a půdního roztoku se může působením sorpčního a desorpčního mechanismu lehce měnit.

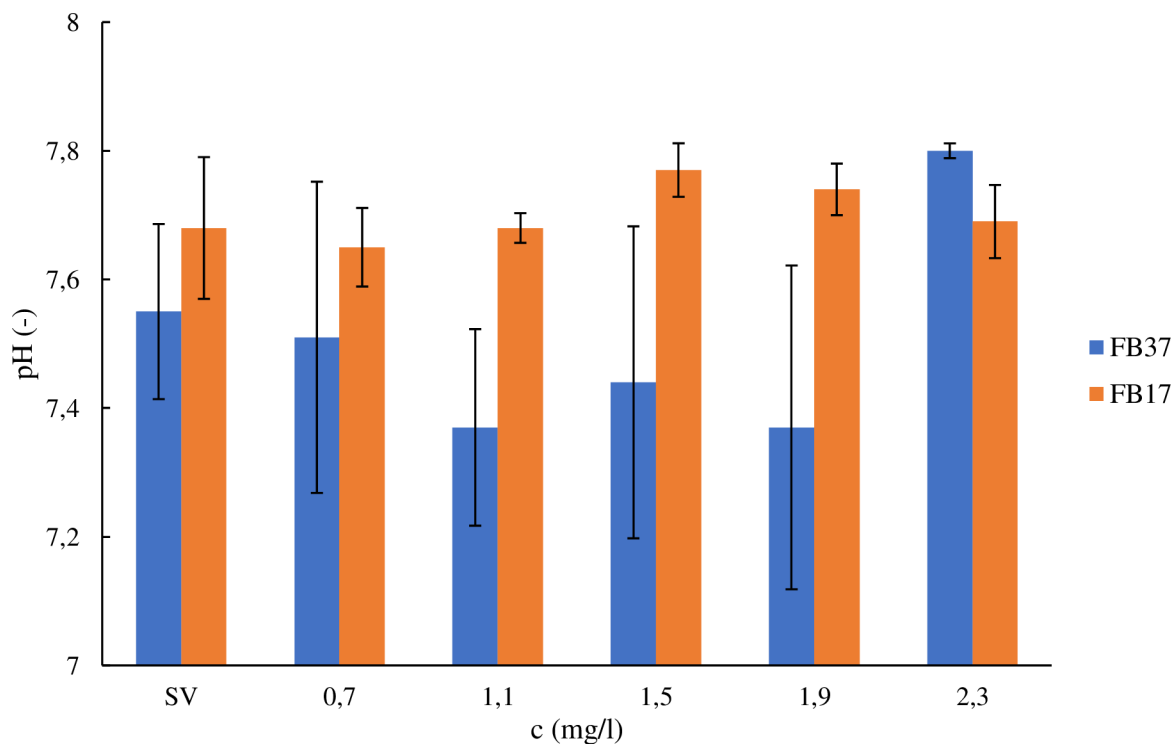
Podle výsledků sorpčních experimentů (obrázek 13), půda FB17 vykazovala vysokou sorpci DK, což by pH vzorku mělo zvýšit. Naopak tato půda má vyšší obsah organické hmoty i huminových kyselin (tabulka 3). Dá se tedy předpokládat vyšší extrakce huminových kyselin do roztoku. Tyto kyseliny by pH mohly zvýšit i snížit, proto se dají očekávat nižší hodnoty pH pro půdu FB17, než je tomu u půdy FB37.

Hodnoty pH půdy FB17 po desorpci se tolik nelišily od hodnot po sorpčním experimentu. K desorpci téměř nedošlo, proto byly změny pH minimální. Nejvyšší nárůst pH byl pozorován u nejvyšší sledované koncentrace, u které jediné k desorpci došlo. Pravděpodobně došlo k výraznější výměně iontů, proto se zde sledován nárůst pH.

Hodnoty pH půdy FB37 po desorpci se lišily významněji, než je tomu u půdy FB17. Z obrázků 20 a 21 je patrné snížení hodnot pH u všech koncentrací DK s výjimkou nejvyšší koncentrace, kde došlo k nejvýraznější desorpci. Obecně z těchto výsledků lze konstatovat, že pH nezávisí na koncentraci DK v roztoku, protože nebyla sledována žádná závislost.



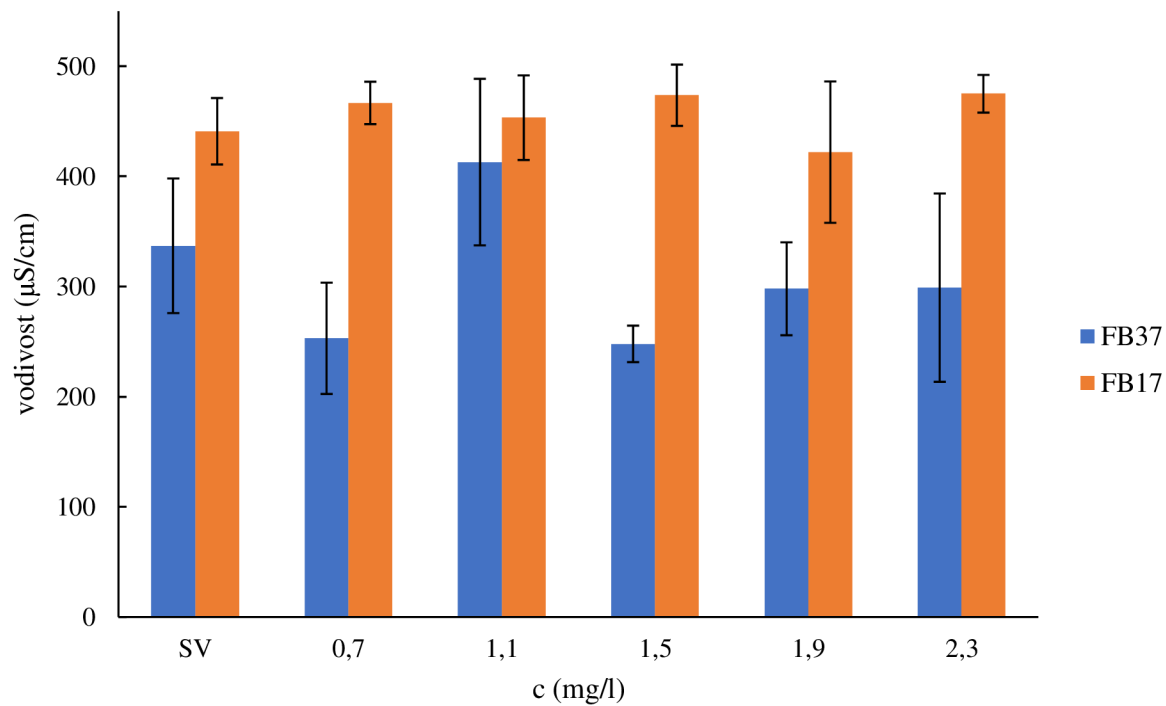
Obrázek 20: Závislost pH na koncentraci vzorků po sorpci pro půdu FB37 a FB17



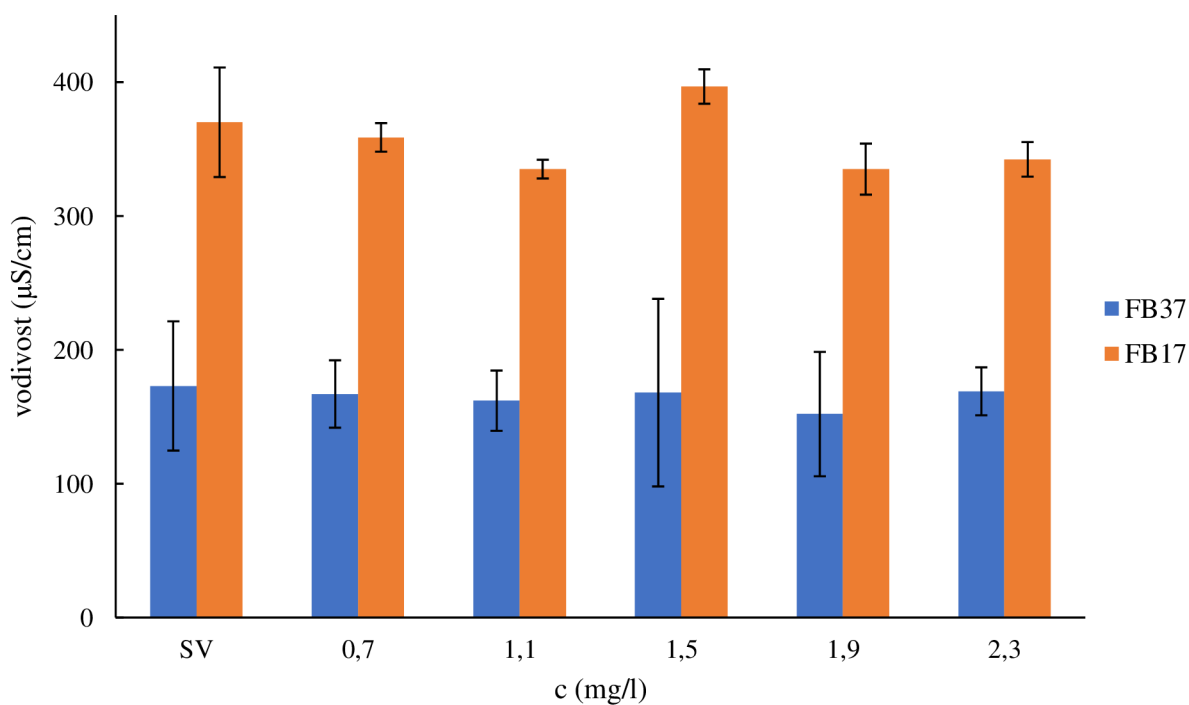
Obrázek 21: Závislost pH na koncentraci vzorků po desorpci pro půdu FB37 a FB17

Vodivost představuje přítomnost iontů, jejich interakce a pohyb v roztoku. V celém experimentu byla využita deionizovaná Milli-Q voda, která je vysoce čistá, proto by žádné ionty obsahovat neměla. Vodivost tedy ovlivňovaly především ionty DK a huminových kyselin. V sorpčním i desorpčním experimentu (obrázky 22 a 23) byla vodivost vždy vyšší pro vzorky s půdou FB17. Půda FB17 je bohatší na huminové látky i celkově půdní organickou hmotu, proto byla tendence těchto látek přejít do roztoku větší a jejich přítomnost pak zvýšila hodnotu vodivosti.

Je zajímavé, že tento vodivostní rozdíl mezi oběma půdami byl markantnější po desorpčním experimentu (obrázek 23). Po desorpci vzorky s půdou FB37 představovaly hodnoty vodivosti v rozmezí 152-169 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Naopak vzorky s půdou FB17 byly v rozmezí 335-387 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Tyto vzorky (FB17) si zachovaly v podstatě stejné hodnoty vodivosti jak po desorpci, tak po sorpci. Mohlo by to být způsobeno větším množstvím dostupných iontů, které v půdě po sorpčním experimentu ještě zůstaly a měly možnost se vyluhovat v experimentu desorpčním. Opět to souvisí s vyšším obsahem organické hmoty v půdě FB17.



Obrázek 22: Závislost vodivosti na koncentraci vzorků po sorpci pro půdu FB37 a FB17



Obrázek 23: Závislost vodivosti na koncentraci vzorků po desorpci pro půdu FB37 a FB17

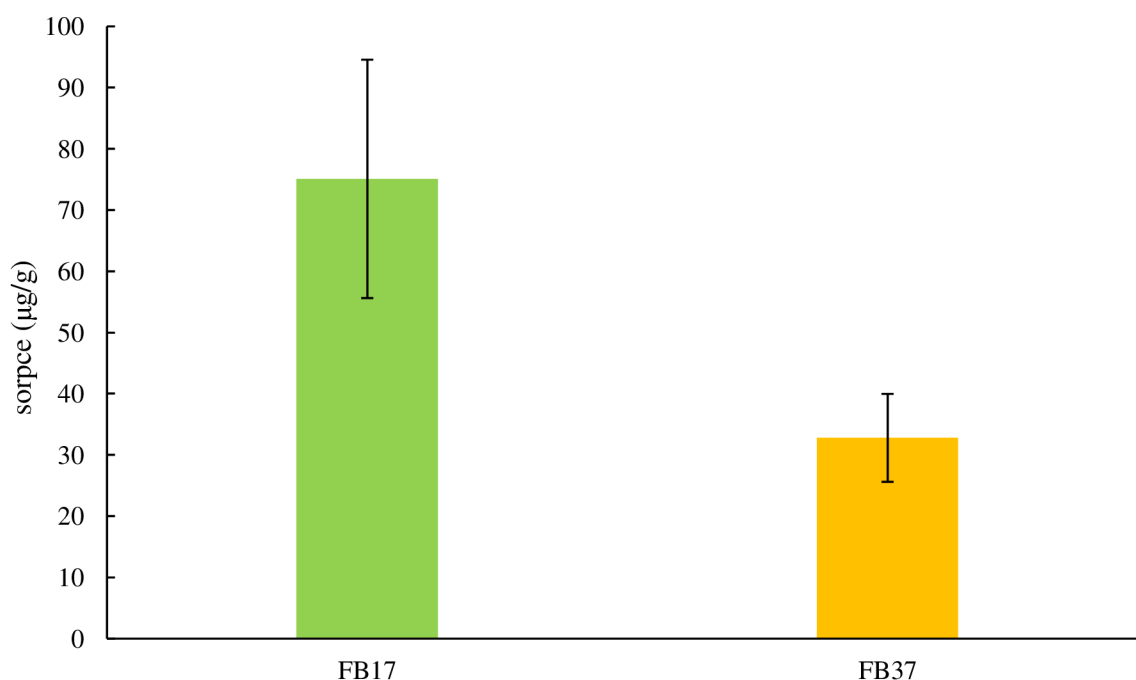
3.6.3 Vliv pufrů na sorpce a desorpce půd FB17 a FB37

Vliv pH byl sledován pomocí Brittonova – Robinsonova pufru, který byl použit na vytvoření pH o hodnotách 5, 7 a 10. Z těchto pufrů byly vytvořeny tři kalibrační křivky pro každý pufr.

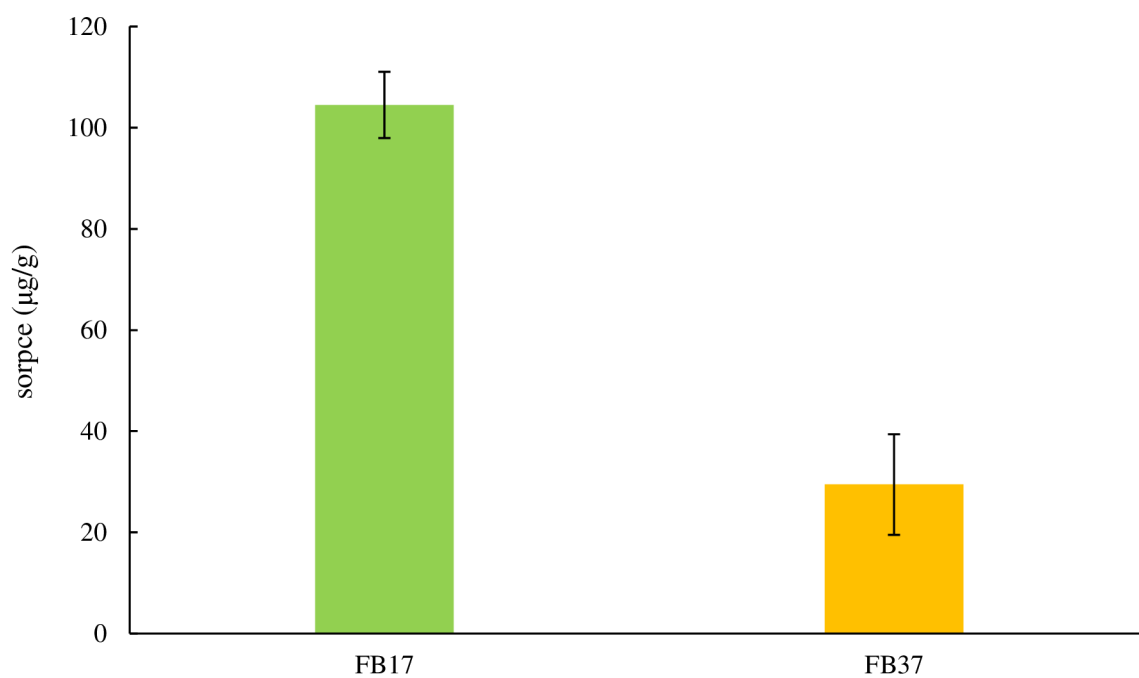
Adsorbované množství DK bylo sledováno ve třech pufrích (5, 7 a 10) a porovnáno v obou půdách. Ve všech pufrích bylo adsorbované množství DK mnohem vyšší v půdě FB17. V pufru 5 se absorbovalo na půdu FB17 75 $\mu\text{g/g}$, na půdu FB37 pouze 33 $\mu\text{g/g}$ (obrázek 24). V neutrálním pufru s pH 7 bylo absorbováno větší množství DK na půdu FB17 a to 105 $\mu\text{g/g}$. Pro půdu FB37 se jednalo o lehký pokles adsorpce a bylo adsorbováno 30 $\mu\text{g/g}$ DK.

Největší afinita DK k půdě byla zaznamenána v bazickém prostředí pufru 10. Pro půdu FB17 se adsorbované množství rovnalo téměř 100 $\mu\text{g/g}$ a pro půdu FB37 53 $\mu\text{g/g}$. Půda s vyšším obsahem organické hmoty, FB17, zaznamenala vysoké hodnoty adsorpce při pH 7-10. Na půdu FB37 se absorbovalo, oproti FB17, malé množství DK, ale ne zanedbatelné množství.

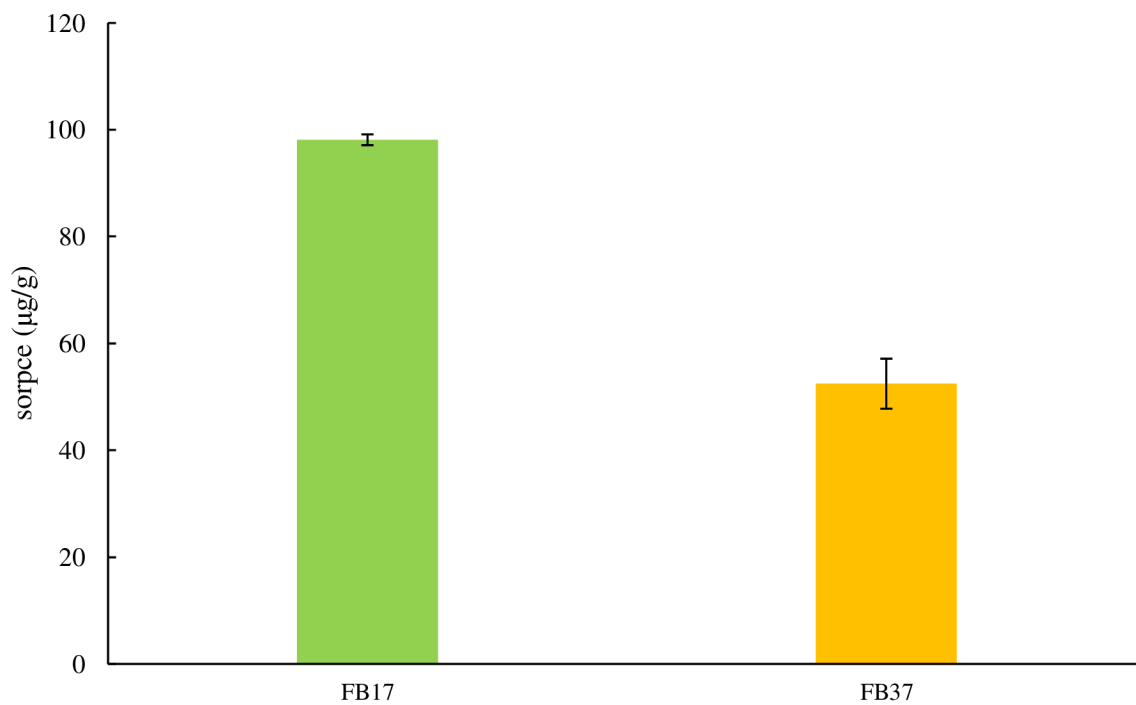
Jako účinnější půda pro adsorpci DK se jeví půda FB17 (obrázek 27). Účinnost adsorpce na půdu FB17 byla vyšší při pH 7 a 10, než v kyslejších pH. Na půdu FB37 se DK adsorboval s největší účinností v pufru s pH 10. Můžeme říci že DK se na půdu FB37 adsorboval s téměř 50% účinností, zatímco na půdu FB17 s téměř 100% účinností.



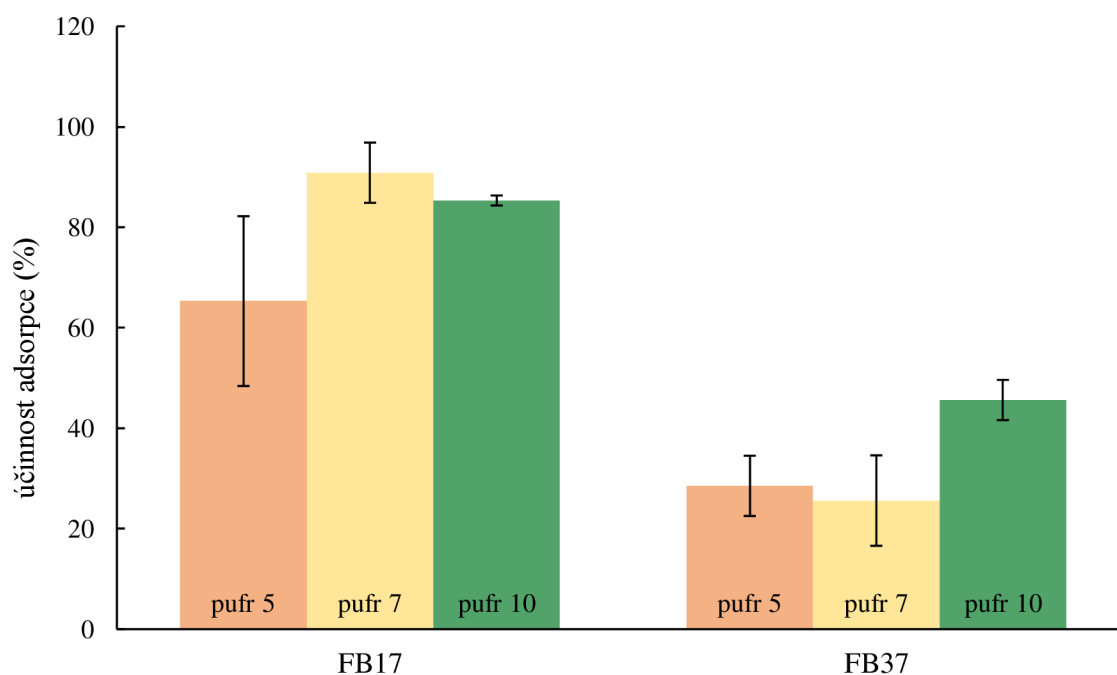
Obrázek 24: Adsorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 5



Obrázek 25: Adsorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 7

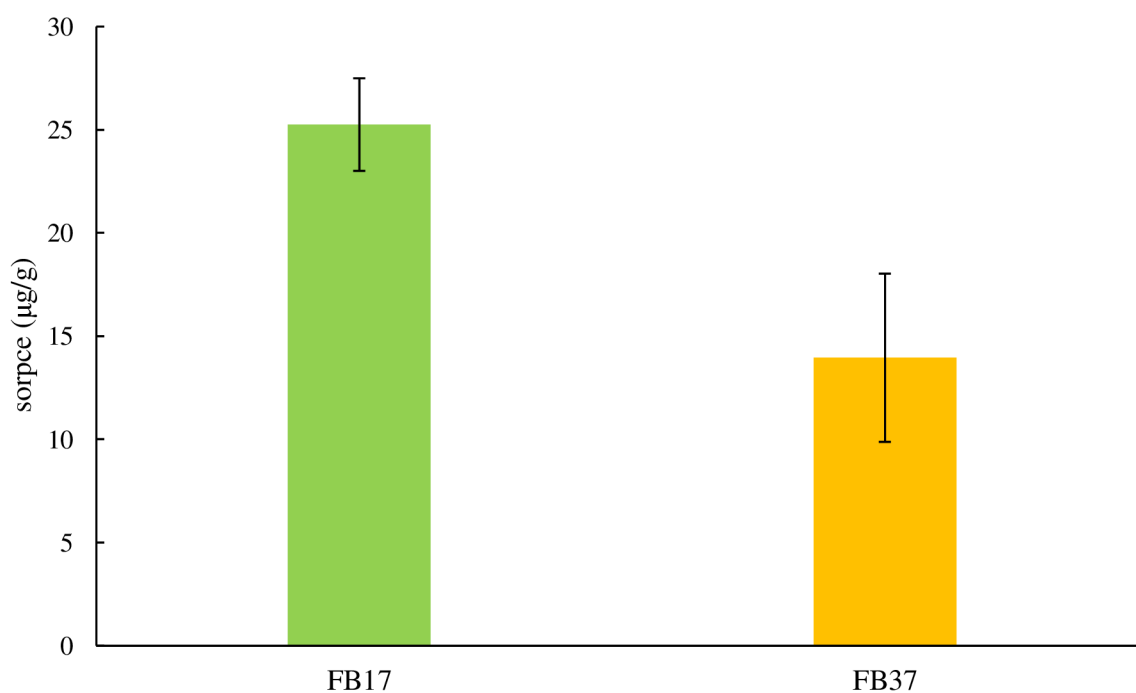


Obrázek 26: Adsorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 10

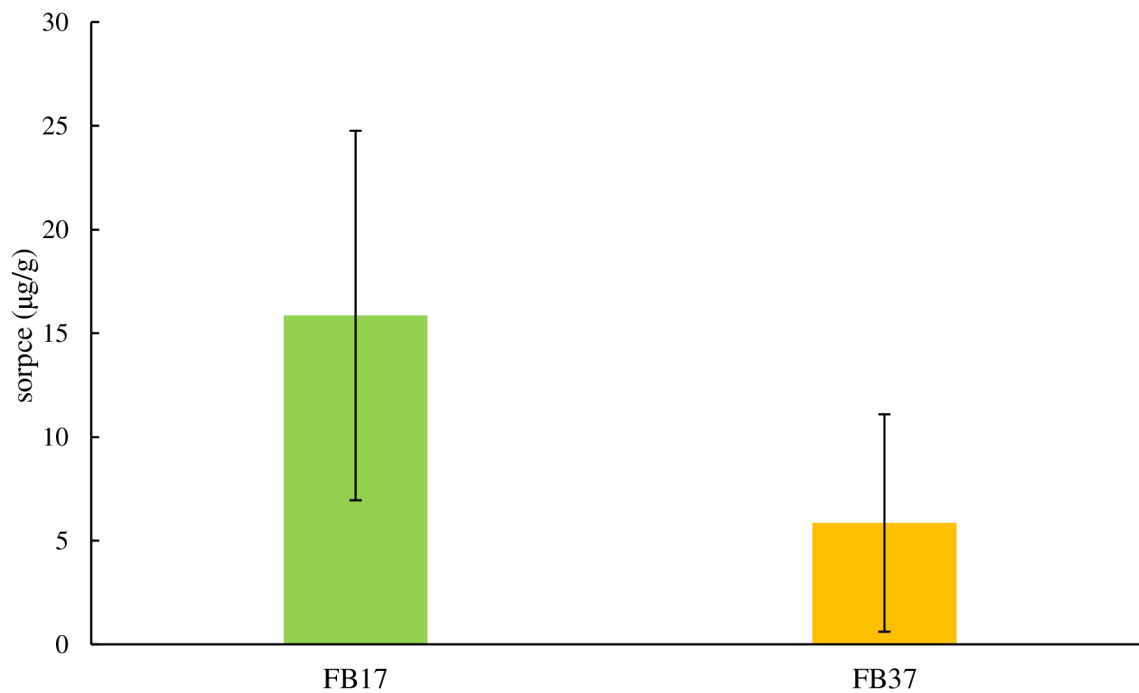


Obrázek 27: Účinnost adsorpce DK půd FB17 a FB37 ve všech sledovaných pufrch

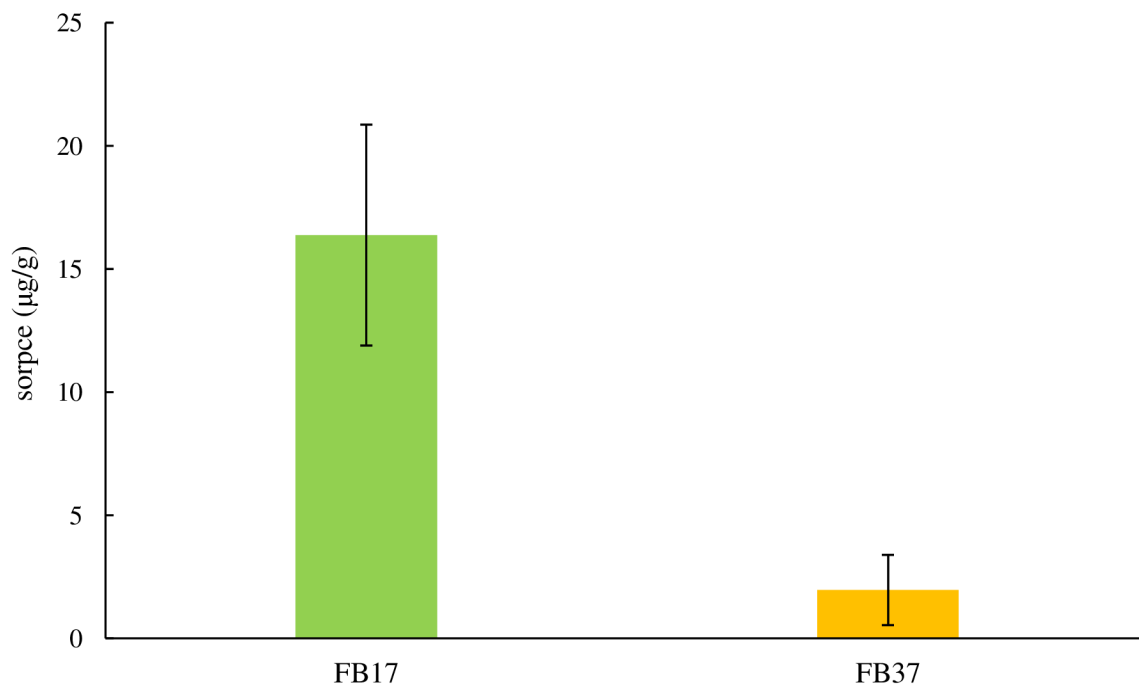
Desorpční proces byl více výrazný pro půdu FB17, desorbovalo se v rozmezí 25-15 $\mu\text{g/g}$ DK. Nejméně byl DK desorbován v pufru s pH 7, naopak nejvíce v pufru s pH 5. To znamená, že v kyselém prostředí o pH 5 se DK nejméně adsorboval na půdu, a zároveň se nejvíce desorboval, což značilo určitou neochotu vazby DK-půda. V půdě FB37 byla desorpce DK nejméně výraznější v pufru 5 a klesala se zvyšující se bazicitou prostředí.



Obrázek 28: Desorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 5

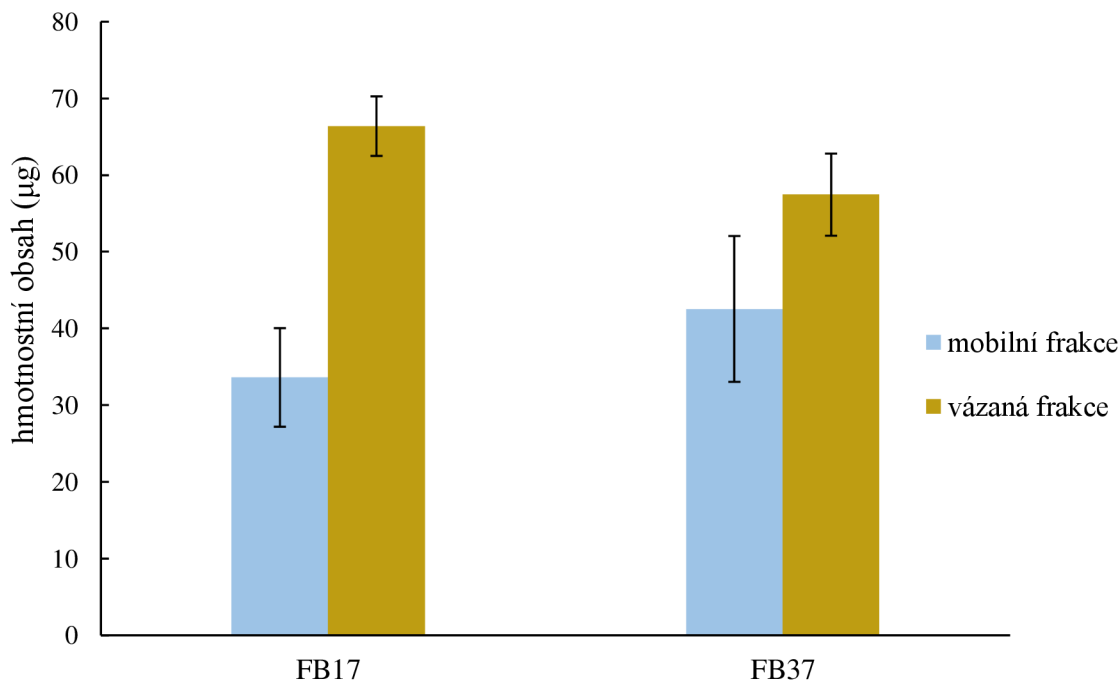


Obrázek 29: Desorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 7

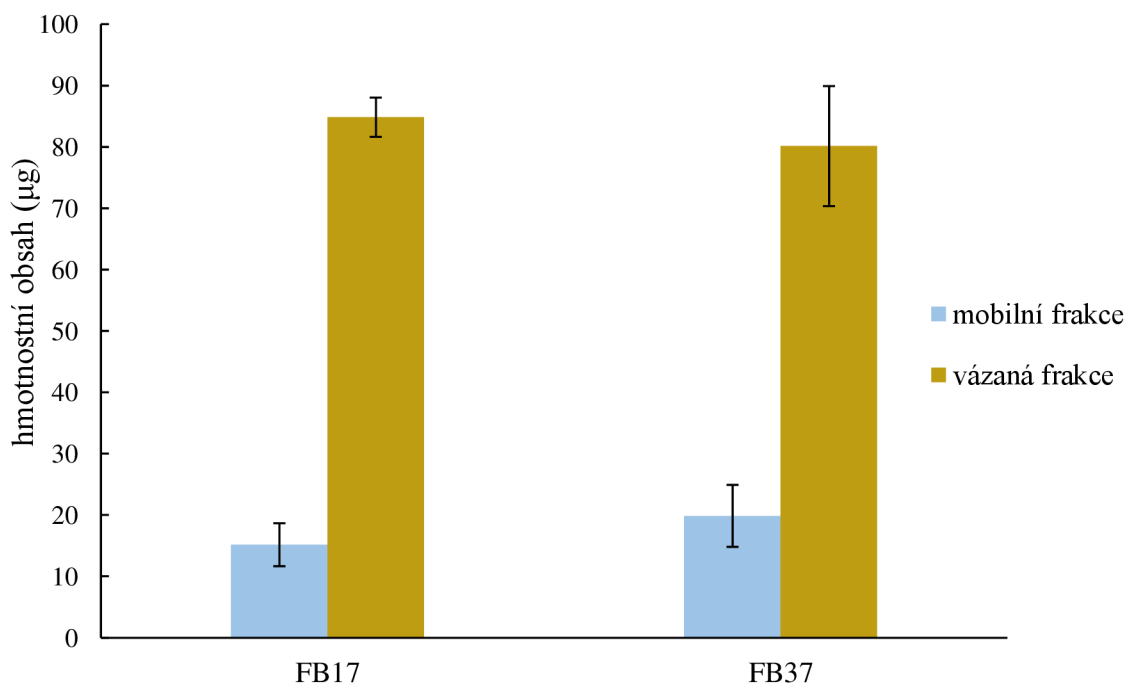


Obrázek 30: Desorbované množství DK půd FB37 a FB17 v pufru 10

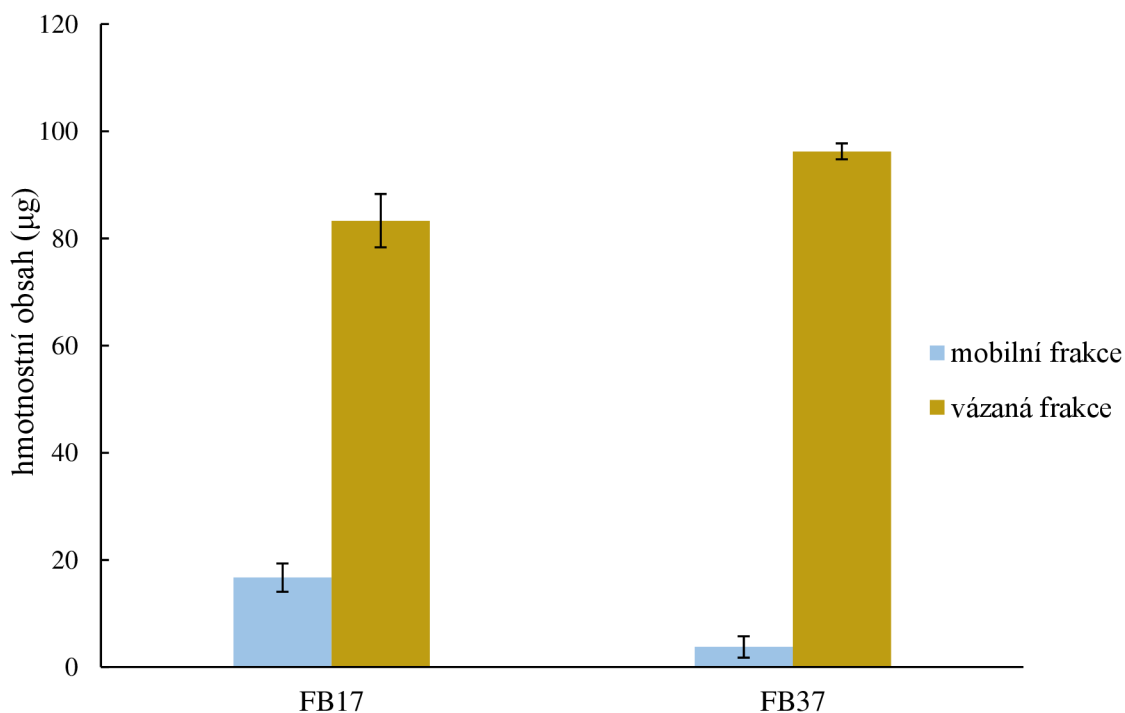
Pro lepší vizualizaci byl vytvořen hmotnostní obsah vázané frakce, vzniklé adsorpcí, a mobilní frakce, vzniklé desorpčním procesem. Jak naznačují tyto grafy (obrázky 31, 32 a 33) nejvíce DK přešlo do roztoku v pufru s pH 5 u obou sledovaných půd. Tato mobilní frakce nebyla zanedbatelná a u půdy FB37 tvořila téměř 50 % adsorbovaného množství (obrázek 31). Minimální mobilní fáze DK byla zaznamenána v pufru s pH 10 s půdou FB37 (obrázek 33).



Obrázek 31: Hmotnostní obsah mobilní a vázané frakce DK v pufru 5



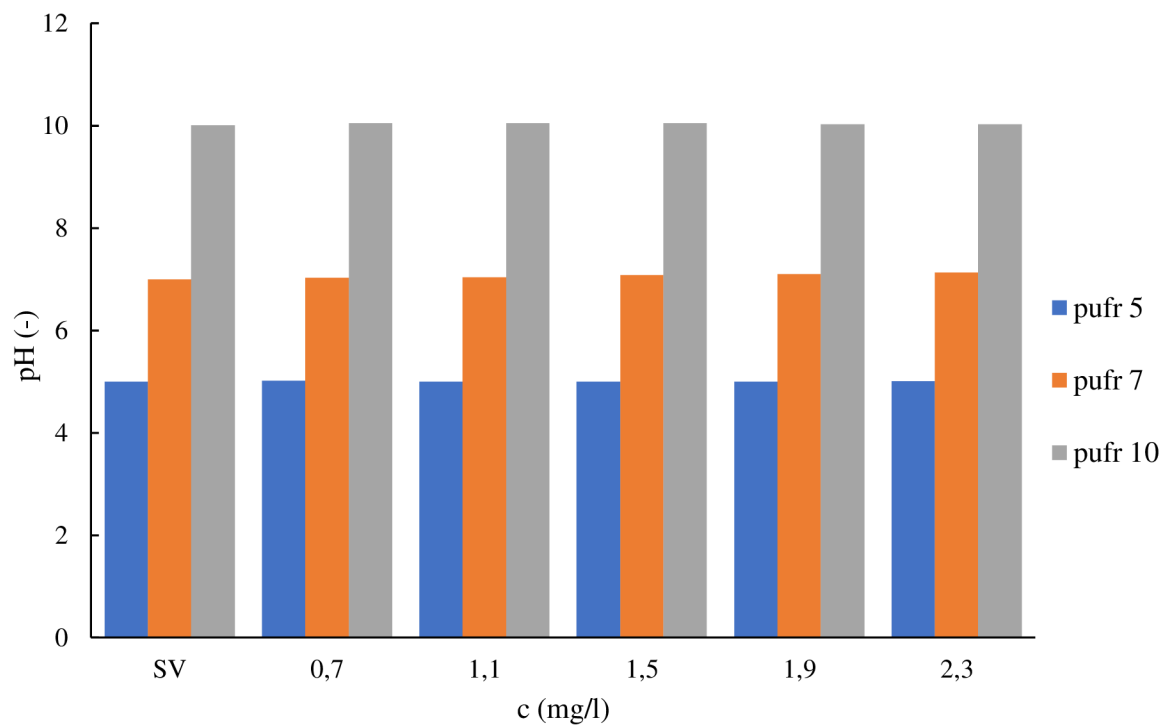
Obrázek 32: Hmotnostní obsah mobilní a vázané frakce DK v pufru 7



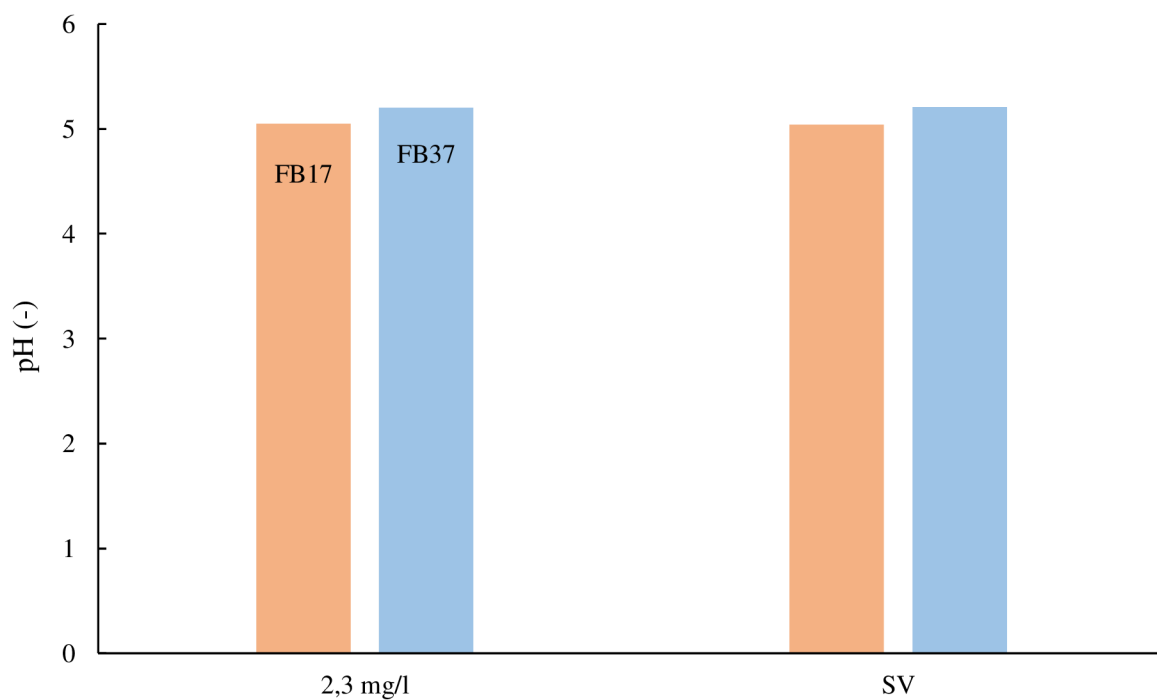
Obrázek 33: Hmotnostní obsah mobilní a vázané frakce DK v pufru 10

3.6.4 Hodnoty vodivosti a pH půd FB17 a FB37 v pufrch

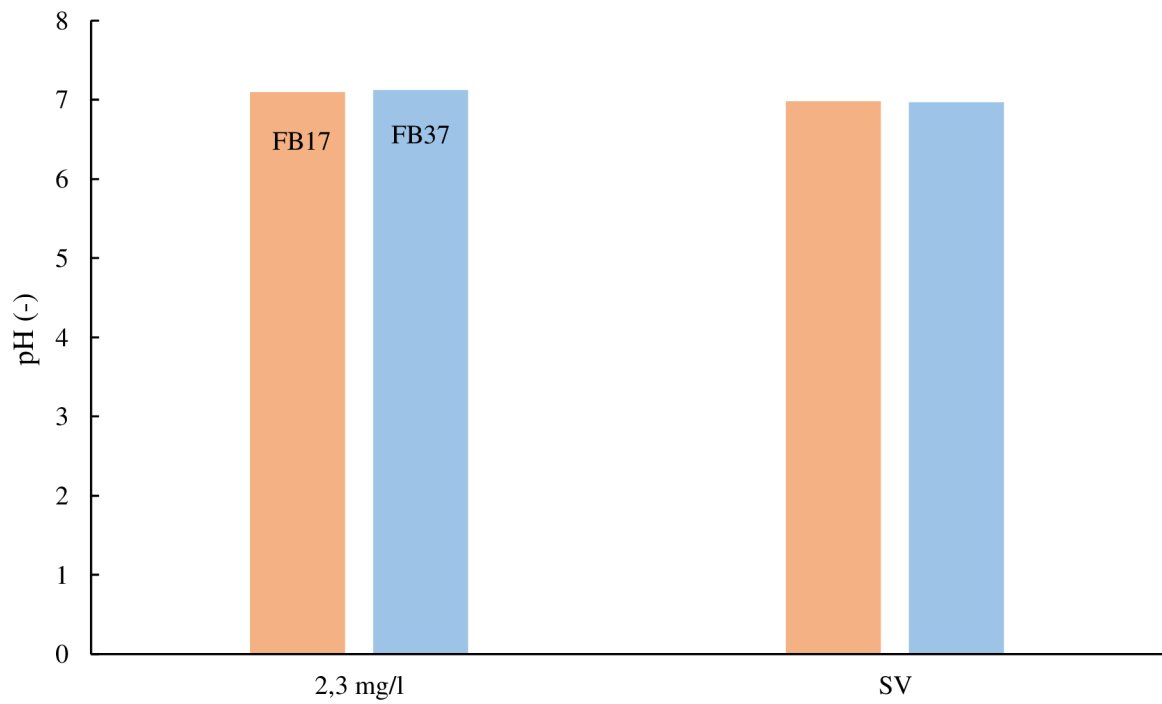
Hodnoty pH byly v průběhu experimentu velmi stálé díky vytvořeným pufrům. Na obrázku 34 byly zaznamenány hodnoty pH kalibrační řady DK, které odpovídají připraveným pufrům. Jak představují další grafy, pH vzorků pufrů se téměř neměnilo po celou dobu experimentu. HA, ani DK, neměly na pH tedy výrazný vliv. Jediný mírný pokles pH byl sledován v pufru s pH 10 jak po sorpčním, tak i po desorpčním experimentu. V grafech jsou znázorněny pouze vzorky po sorpci, protože vzorky po desorpci se s nimi téměř shodují. V grafu je znázorněn vzorek, který představuje koncentraci 2,3 mg/l DK a srovnávací vzorek (SV). Hodnoty pH i vodivosti byly ve všech opakováních velmi podobné, proto chybové úsečky nebyly viditelné, a tudíž do grafů nebyly přidány.



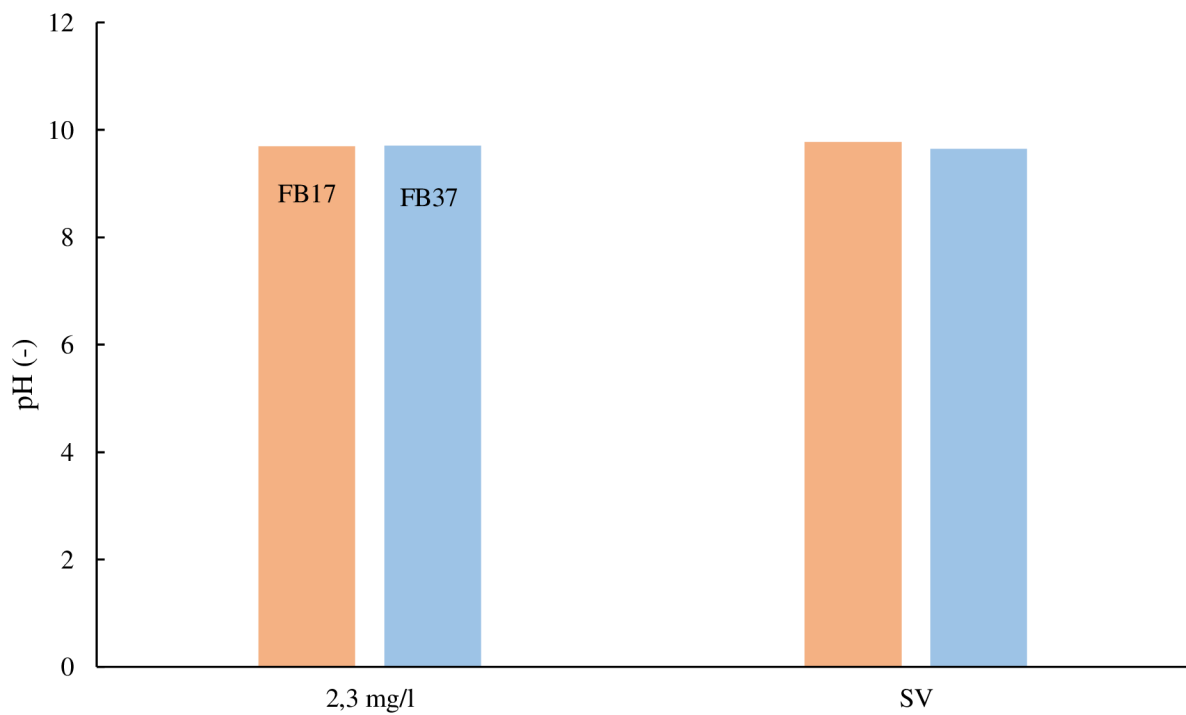
Obrázek 34: Hodnoty pH kalibrační řady DK v jednotlivých pufrch



Obrázek 35: Hodnoty pH vzorků po sorpci v pufru 5



Obrázek 36: Hodnoty pH vzorků po sorpci v pufru 7

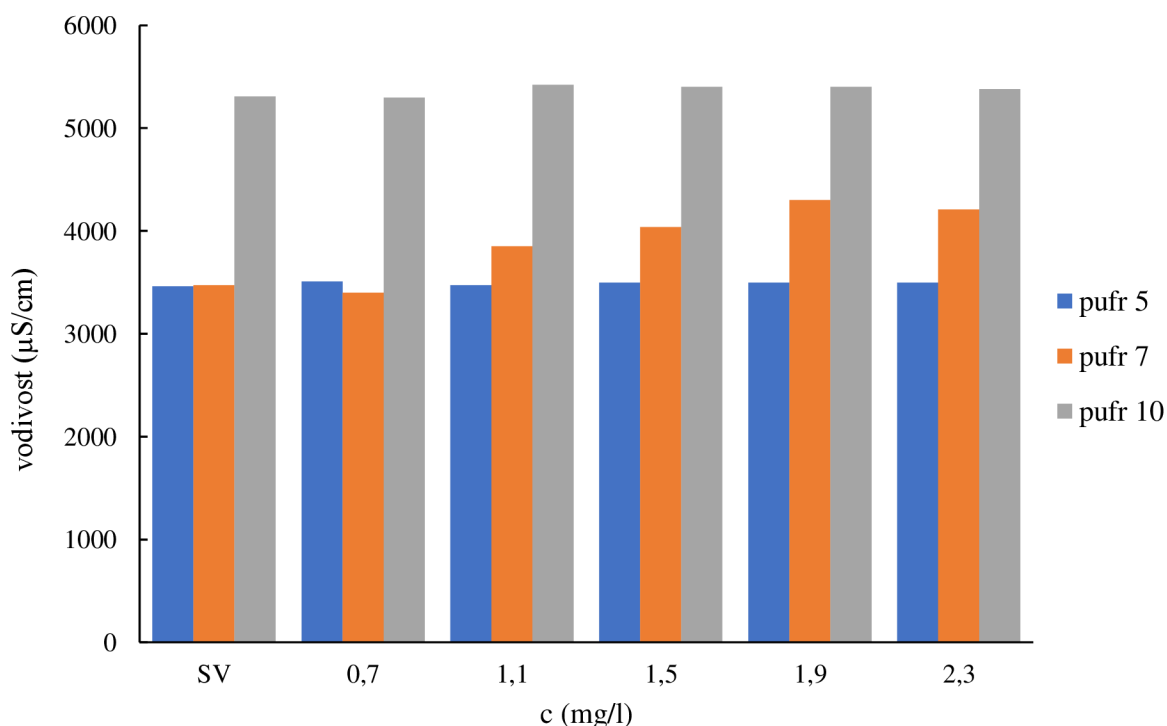


Obrázek 37: Hodnoty pH vzorků po sorpci v pufru 10

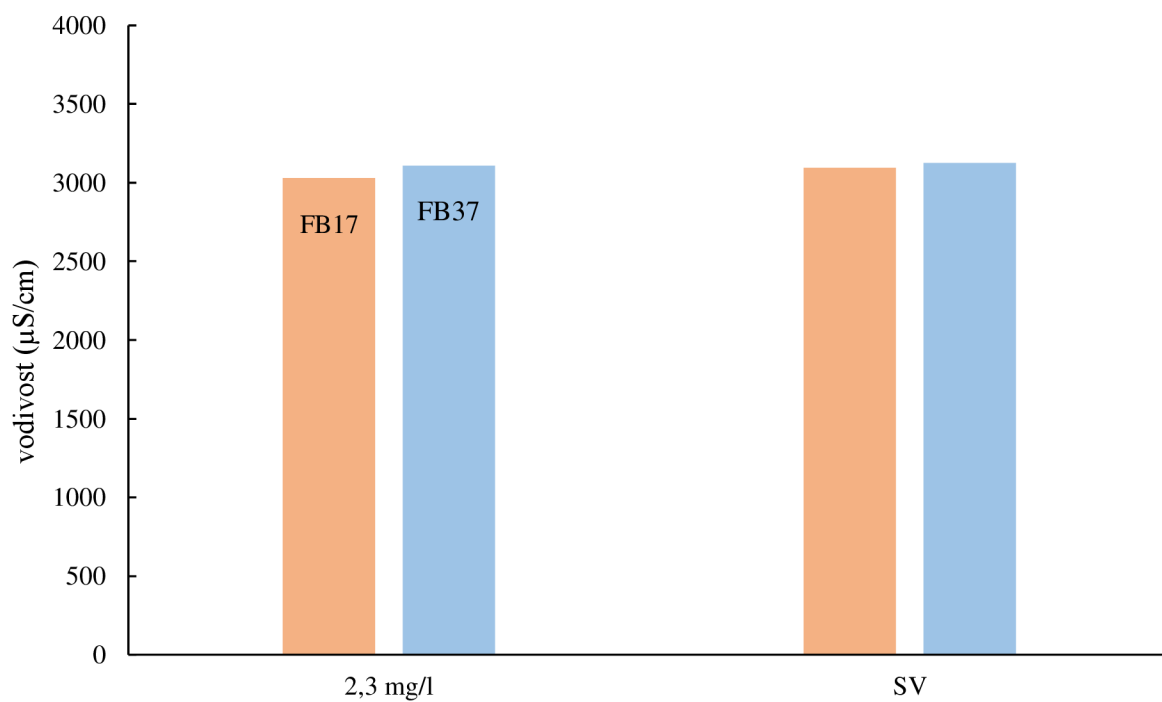
Hodnoty vodivosti se pohybovaly, oproti sorpčním a desorpčním experimentům ve vodě, v jednotkách mS/cm. Ve vodě se tyto hodnoty pohybovaly v rámci jednotek $\mu\text{S}/\text{cm}$. Hodnoty vodivosti v pufrch byly tedy mnohem vyšší než v Milli-Q vodě. Takto vysoké hodnoty vodivosti vytvořily všechny ionty, které pufr obsahoval. Vodivost již neovlivňovaly jen ionty HA a DK, ale také ionty kyseliny octové, orthofosforečné, borité a hydroxidu sodného. Na obrázku 38 jsou zaznamenány vodivosti kalibrační řady DK v jednotlivých pufrch. Nejvyšší vodivosti byly měřeny v pufru s pH 10 a byly v rozmezí 5300-5400 $\mu\text{S}/\text{cm}$. To by mohlo znamenat, že ionty hydroxidu sodného (Na^+ a OH^-) měly na vodivost největší vliv. Nejvíce variabilní hodnoty vodivosti byly v pufru 7, kde byly v rozmezí 3400-4300 $\mu\text{S}/\text{cm}$. V pufru 5 pak byl průměr hodnot 3500 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Po sorpci byly hodnoty vodivosti v pufru 5 pro obě půdy kolem 3000 $\mu\text{S}/\text{cm}$. V pufru 7 byly hodnoty také velmi podobné pro obě půdy (4600 $\mu\text{S}/\text{cm}$). V pufru 10 byly hodnoty nejvyšší – pro půdu FB17 vyšlo 5850 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a pro půdu FB37 5780 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (obrázek 41).

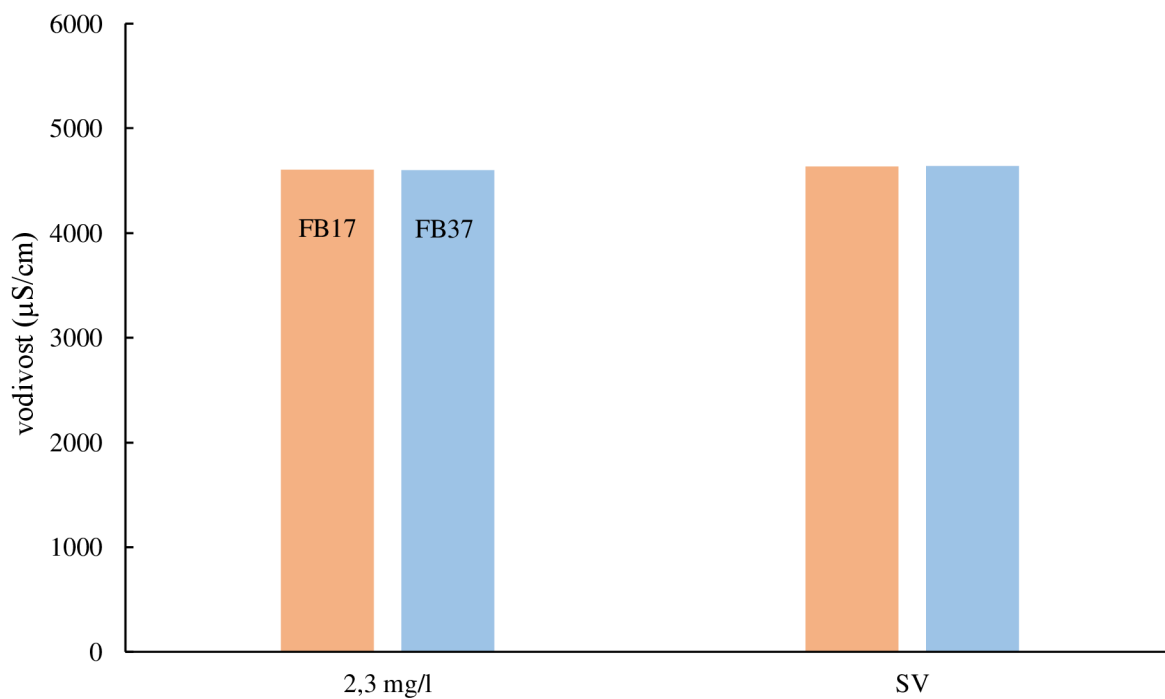
Po desorpčním experimentu se hodnoty změnily pouze v pufru 10. Vodivost se zvýšila o 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pro obě sledované půdy. V ostatních pufrch pro obě půdy byly hodnoty totožné jako v sorpčním experimentu, proto zde nejsou představené.



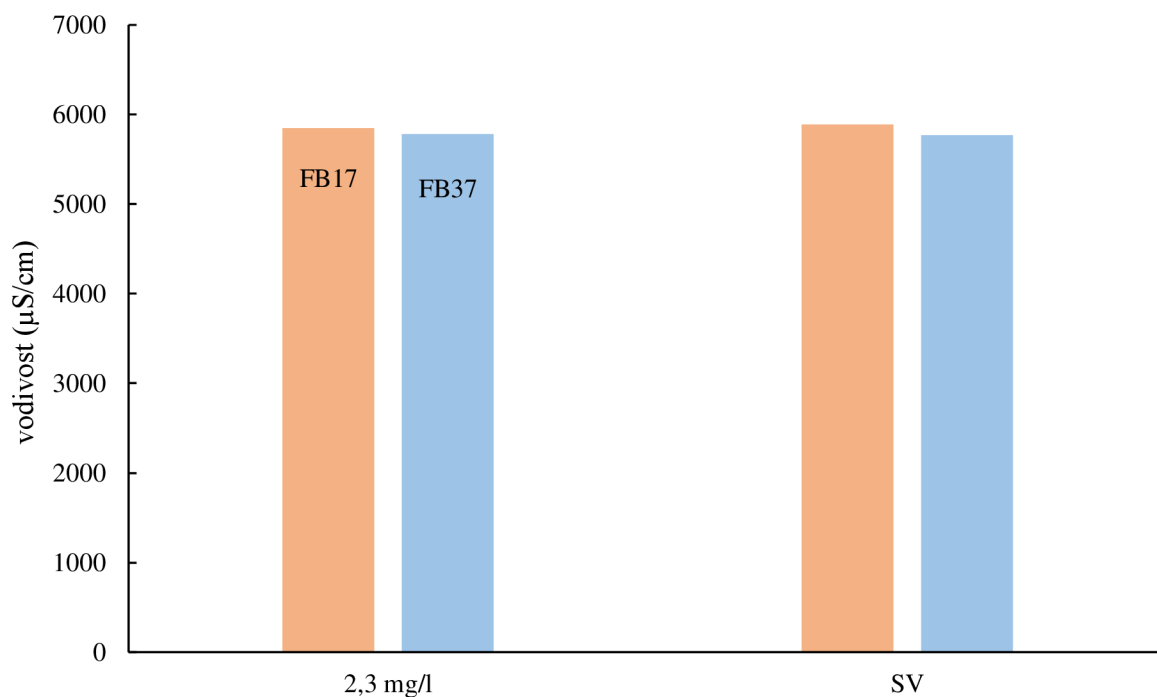
Obrázek 38: Hodnoty vodivosti kalibrační řady DK v jednotlivých pufrch



Obrázek 39: Hodnoty vodiivostí vzorků po sorpci v pufri 5



Obrázek 40: Hodnoty vodiivostí vzorků po sorpci v pufri 7

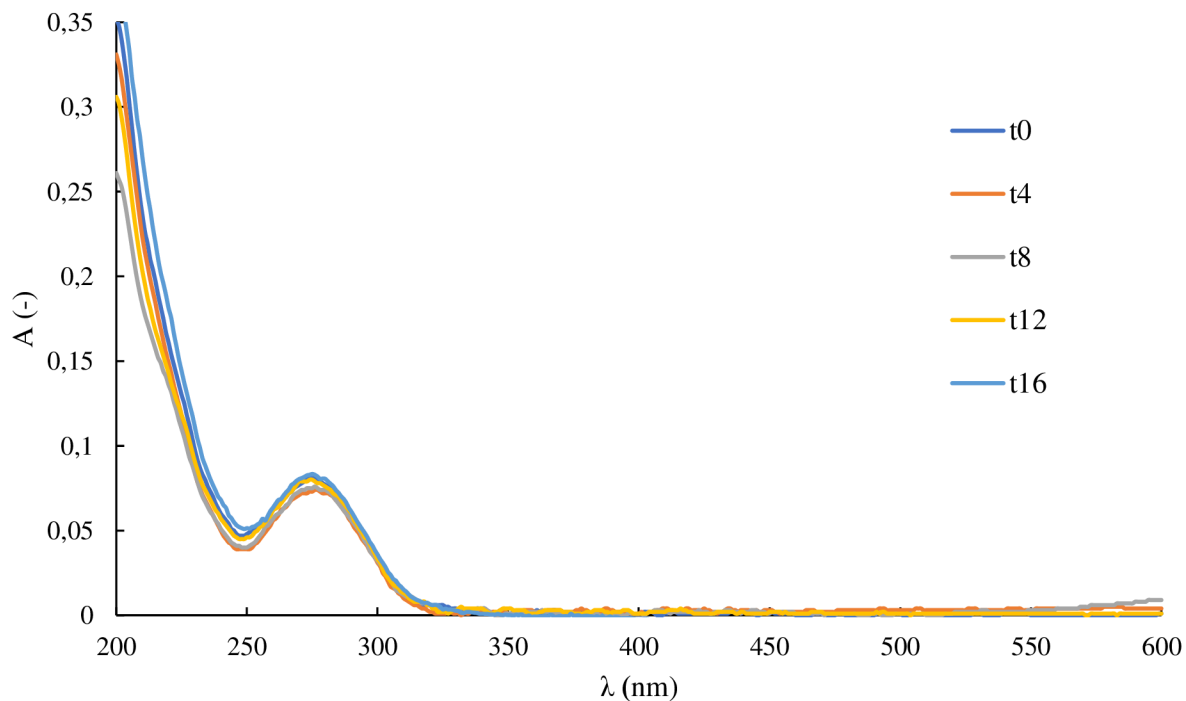


Obrázek 41: Hodnoty vodiivostí vzorků po sorpci v pufru 10

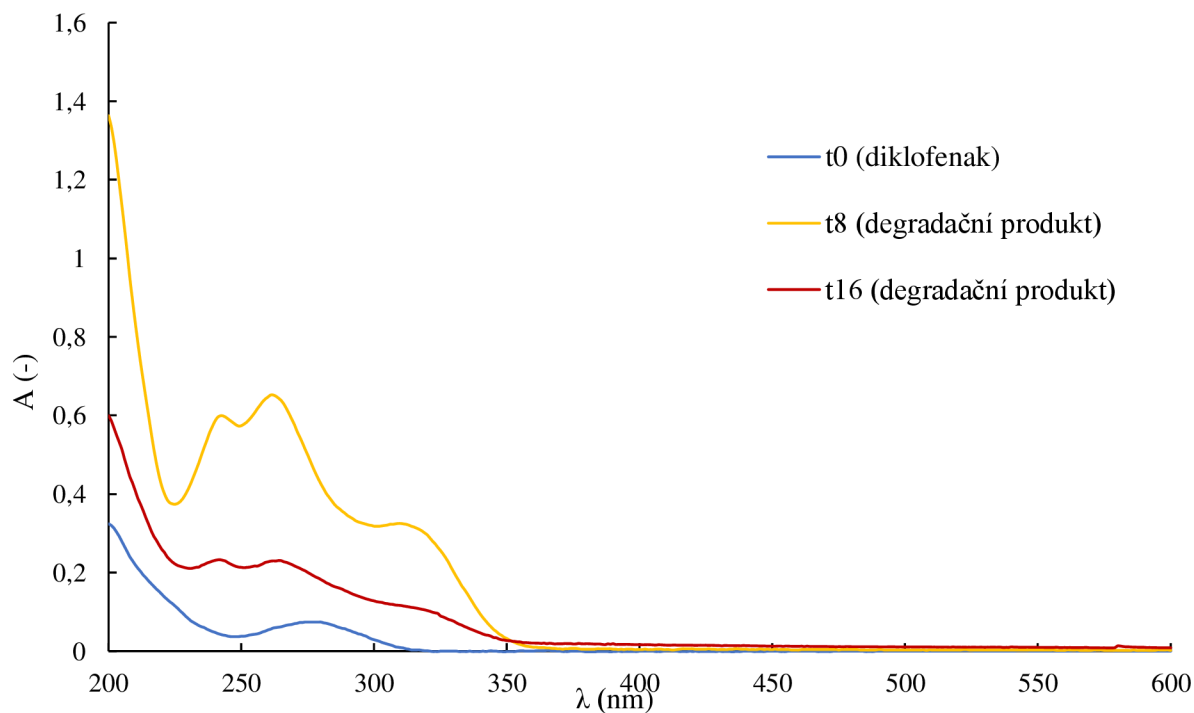
3.6.5 Degradace diklofenaku

Degradační experiment probíhal po dobu 4 měsíců, při neustálém měření UV-VIS spekter obou vzorků a finální analýzy pomocí FTIR spektrometru s ATR technikou. Jak se očekávalo, vzorek v lednici, neprošel za celou dobu žádnou změnou. DK si po celých 16 týdnů zachoval svou strukturu, což bylo ověřeno pomocí UV-VIS spekter (obrázek 42). Všechna tato spektra jsou totožná s absorpčním spektrem DK (obrázek 12). Jiný výsledek byl pozorován u vzorku ponechaného volně v laboratoři s přístupem slunečního záření (obrázek 43). Prvních 7 týdnů (t0-t7) nedošlo ke změně struktury DK. Osmý týden (t8) se UV-VIS spektrum rapidně změnilo a pravděpodobně došlo k fotodegradaci a ke vzniku degradačního produktu. Dalších 8 týdnů (t9-t16) nedošlo k zásadní změně, pouze se snížila intenzita degradačního produktu.

Tyto výsledky nás přiměly k další analýze možného degradačního produktu, byla zvolena FTIR spektrometrie s ATR technikou. V tomto experimentu nešlo o množství degradačního produktu, a protože ho bylo velmi málo, tak v FTIR spektru byla jeho absorbance znásobena pro snadnější vizualizaci pásů (obrázek 44).



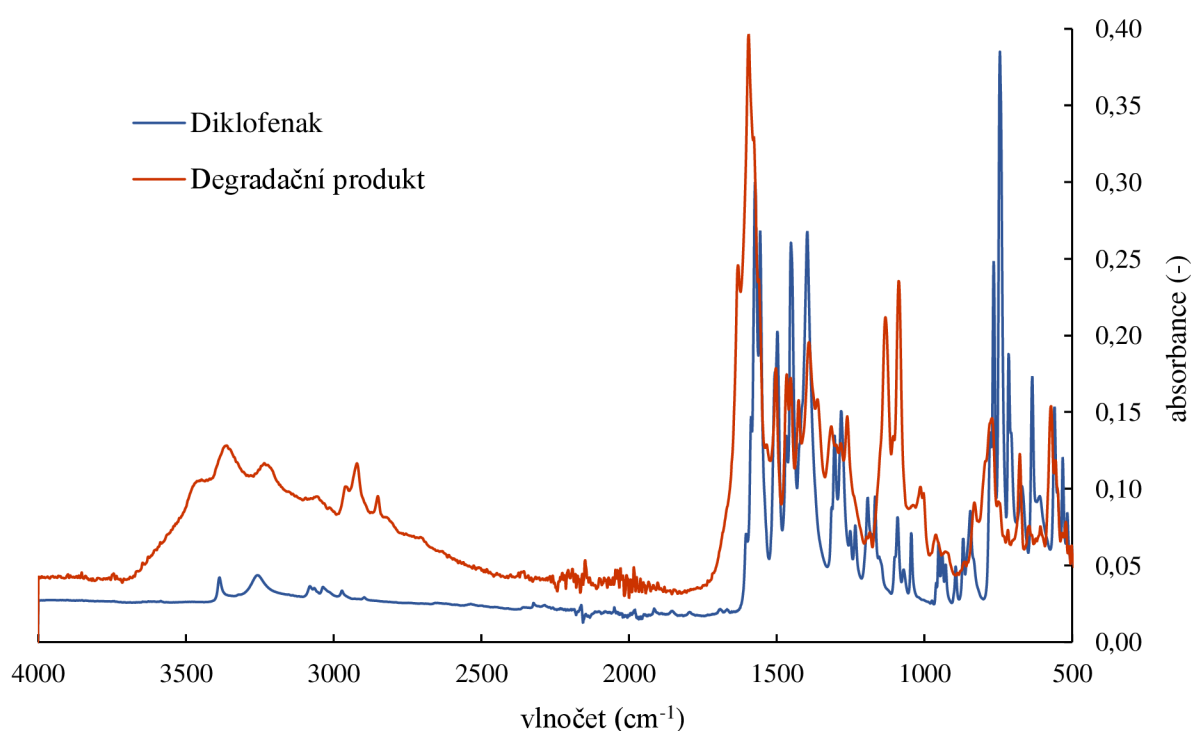
Obrázek 42: UV-VIS spektra diklofenaku v čase (vzorek uložený v lednici)



Obrázek 43: UV-VIS spektra diklofenaku a degradačního produktu v čase (vzorek volně v laboratoři)

Na obrázku 44 byly zaznamenány infračervená spektra DK a jeho možného degradačního produktu. Některé diskutované pásy byly odlišné od samotného DK, a proto by mohly představovat nově vzniklé vazby. Vlnočty 1091 cm^{-1} a 1130 cm^{-1} by mohly představovat vibrace C-O-C vazeb v etherové skupině. Tato funkční skupina by odpovídala etherové skupině v dimeru karbazolu nalezeného v již zmíněných studiích.

Vlnočet 1575 cm^{-1} představuje vibrace C-H vazeb v aromatickém kruhu. Dále vlnočet 2853 cm^{-1} představuje symetrické vibrace C-H vazeb ve skupině CH_2 . Asymetrické vibrace C-H vazeb ve skupině CH_2 uvádí vlnočet 2915 cm^{-1} . Na vlnočtu 2964 cm^{-1} jsou znázorněny asymetrické vibrace C-H vazeb ve skupině CH_3 . Vlnočet 3345 cm^{-1} pak představuje vibrace vazeb v sekundárním aminu. Stejně vibrace, napínání vazeb N-H v sekundárním aminu, může představovat i vlnočet 3465 cm^{-1} , což ale není jednoznačné.



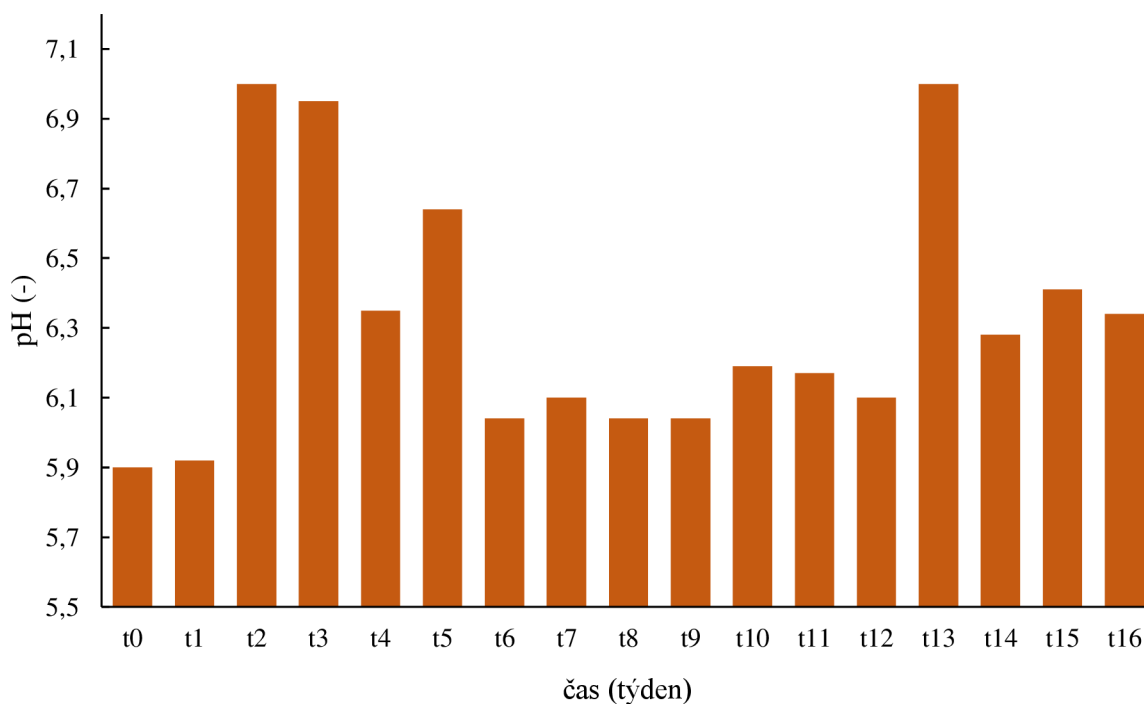
Obrázek 44: FTIR spektrum diklofenaku a jeho degradačního produktu

3.6.6 Hodnoty vodivosti a pH degradačních vzorků diklofenaku

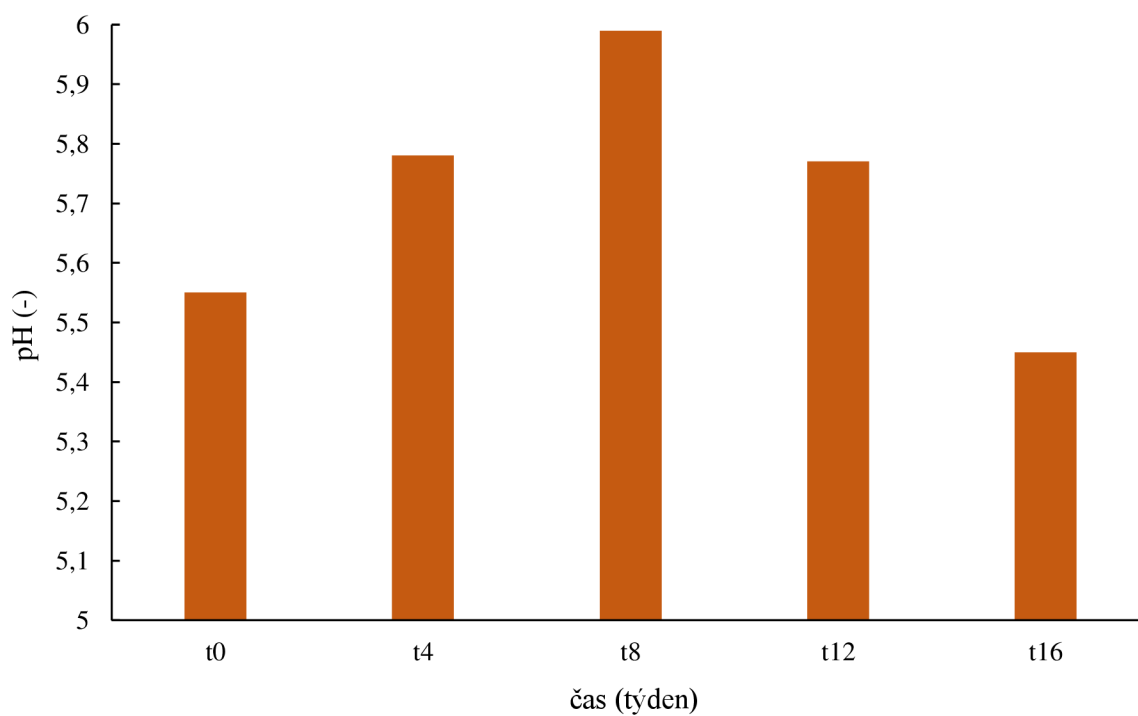
Po dobu degradačního experimentu byly měřeny hodnoty pH a vodivosti obou vzorků DK v Milli-Q vodě. Hodnoty pH obou vzorků (v laboratoři a v lednici) byly po celou dobu experimentu velmi podobné (obrázky 45 a 46). Vzorek DK v lednici představoval hodnoty pH v rozmezí 5,45-6. Vzorek DK volně v laboratoři měl pH v rozmezí 6-7. Hodnoty se tedy zásadně nelišily a kyselost se v roztoku i po vytvoření produktu degradace nezměnila, pouze lehce klesala (obrázek 45).

Vodivost se výrazně lišila mezi vzorkem umístěným volně v laboratoři (obrázek 47) a vzorkem v lednici (obrázek 48). Vodivost vzorku v lednici se po celou dobu příliš neměnila a byla v rozsahu 10-16 $\mu\text{S/cm}$. Naopak hodnoty vodivosti vzorku v laboratoři byly první tři

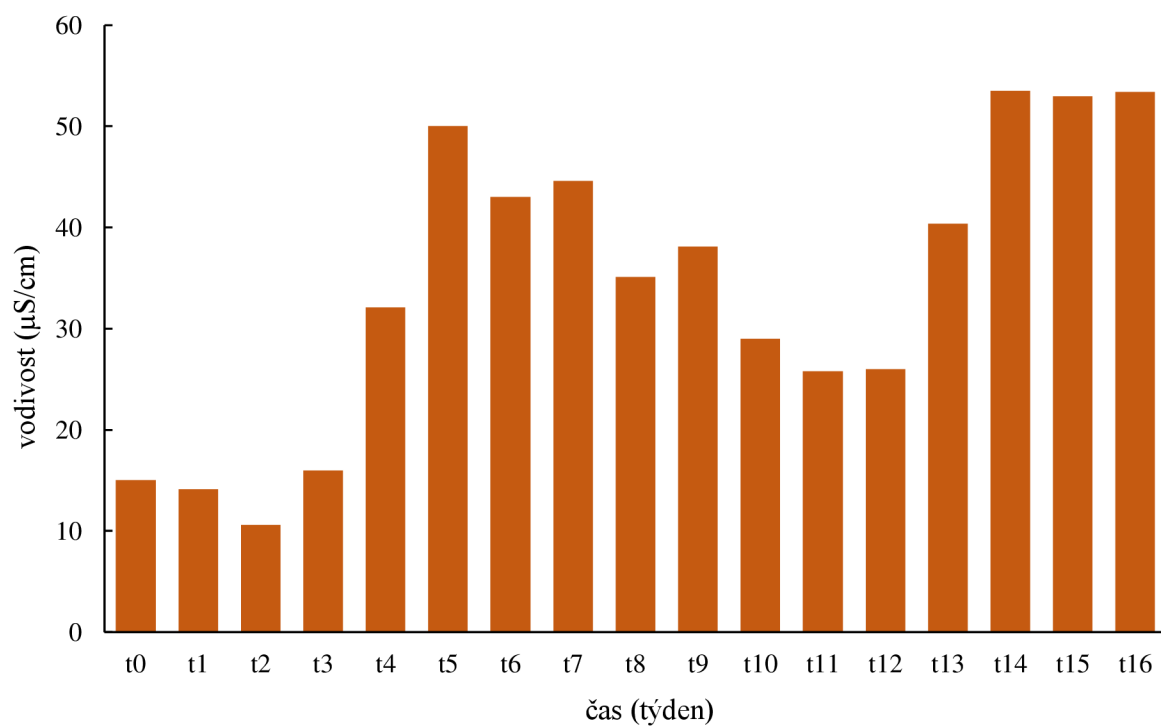
týdny srovnatelné s hodnotami vzorku v lednici. Poté se hodnoty zvýšily a dále po pohybovaly v rozmezí 30-55 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Teoreticky na tuto změnu mohl mít vliv vzniklý degradační produkt, protože se změnila struktura DK a s tím související přítomnost volných iontů.



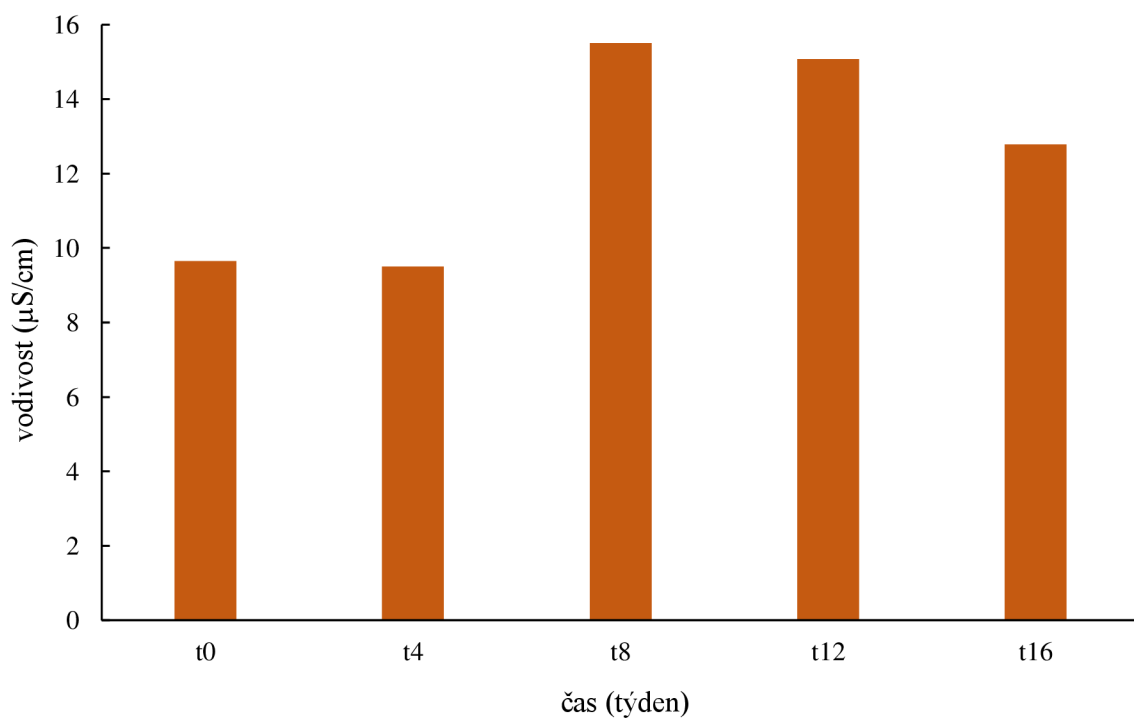
Obrázek 45: Hodnoty pH vzorku diklofenaku volně v laboratoři



Obrázek 46: Hodnoty pH vzorku diklofenaku v lednici



Obrázek 47: Hodnoty vodivosti vzorku diklofenaku volně v laboratoři



Obrázek 48: Hodnoty vodivosti vzorku diklofenaku v lednici

4 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo prozkoumat a srovnat chování DK v různých typech půdní matrice. Byly použity dvě půdy s odlišnými vlastnostmi za účelem porovnání sorpčních a desorpčních vlastností DK. Bylo zjištěno, že půdní organická hmota má velký vliv na adsorpci DK. Půda s vyšším obsahem organické hmoty, FB17, byla vyhodnocena jako přístupnější pro adsorpci léčiva a byla schopna adsorbovat až 85 $\mu\text{g/g}$ DK. Druhá sledovaná půda, FB37, byla studována v bakalářské práci a adsorbovala přibližně 28 $\mu\text{g/g}$ léčiva. Na adsorpci měla dále vliv koncentrace DK v roztoku, protože míra adsorpce u obou půd klesala s klesající koncentrací DK. Účinnost adsorpce se lišila s ohledem na koncentrace léčiva. Nejvyšší účinnost adsorpce pro půdu FB37 byla nejnižší koncentrace léčiva (0,7 mg/l); pro půdu FB17 to byla koncentrace 1,5 mg/l DK. Desorpční proces ovlivnil pouze dvě nejvyšší koncentrace DK (2,3 a 1,9 mg/l) pro půdu FB37. Z půdy FB17 desorboval DK jen v nejvyšší koncentraci. Největší desorpční proces byl tedy zaznamenán u nejvyšší sledované koncentrace léčiva u obou půd a jednalo se přibližně o 9 $\mu\text{g/g}$. S tím souvisí i hmotnostní bilance mobilní a vázané frakce DK k půdě. U obou půd zůstalo adsorbované množství navázáno na půdě i po desorpčním procesu, kromě nevyšší koncentrace, kde mobilní frakce tvořila velmi malou část. Dá se tedy předpokládat vznik silné vazby mezi léčivem a půdou, bez ohledu na obsah půdní organické hmoty. Množství adsorbovaného DK pak záleží na kapacitě volných vazebných míst, kterou má vyšší půda FB17.

Dalším cílem bylo prozkoumat sorpční a desorpční chování DK v obou půdách ale v různých pH prostředí. Bylo zjištěno, že léčivo má vyšší afinitu k půdě v neutrálním a bazickém prostředí (pH 7 a 10). Je to pravděpodobně způsobeno disociovanou formou DK, která má lepší tendenci vázat se na funkční skupiny půdy. Důležitou roli zde opět hraje adsorpční kapacita půdy, kterou představuje půdní organická hmota. Na půdu FB17 bylo adsorbováno daleko větší množství DK než na půdu FB37. V kyselém pH 5 k adsorpci došlo také, ale v menší míře. Účinnost adsorpce byla celkově nejvýraznější v prostředí o pH 10. Desorpce DK byla nejvýraznější v kyselém prostředí o pH 5 pro obě sledované půdy. To bylo pravděpodobně způsobeno neutrální formou DK, která netvořila s půdou silnou vazbu. V neutrálním a bazickém prostředí byla desorpce znatelná v půdě FB17, naopak v půdě FB37 byla desorpce minimální. Celkově byla velká mobilita a nízká účinnost adsorpce léčiva pozorována v pufru s pH 5, což souvisí s převažující neutrální formou DK. Naopak v neutrálním až bazickém pH docházelo k vysoké adsorpci DK a relativně malé desorpci.

Poslední částí této diplomové práce byl experiment degradace DK uloženého volně v laboratoři s přístupem slunečního záření. Po dobu čtyř měsíců byla zaznamenána degradace léčiva ověřená pomocí UV-VIS spektroskopie a FTIR spektroskopie. Díky přístupu slunečního záření byla degradace označena za fotodegradaci. Vzniklý degradační produkt byl, s pomocí několika studií, identifikován jako sloučenina podobná karbazolu. Nelze ale s jistotou určit o jaký produkt se jednalo, lze pouze usoudit, že DK fotodegradaci podléhá.

Pro posouzení celkové mobility a chování léčiv v různých částech životního prostředí je třeba prozkoumat mnoho dalších aspektů a zároveň identifikovat degradační produkty. Na tyto produkty je potřeba nahlížet jako na zcela jiné sloučeniny s jinými vlastnosti a chováním v přírodě.

5 ZDROJE:

- [1] MOILANEN, Eeva a Katriina VUOLTEENAHO. *Nijkamp and Parnham's Principles of Immunopharmacology: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*. 4. Velká Británie: Springer International Publishing, 2019, s. 689–707. ISBN 978-3-030-10811-3. Dostupné z: doi:<https://doi-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/10.1007/978-3-030-10811-3>
- [2] SATHISHKUMAR, Palanivel, Ramakrishnan ANU ALIASMEENA, Thavamani PALANISAMI, Veeramuthu ASHOKKUMAR, Thayumanavan PALVANNAN a Feng LONGGU. Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. *Science of The Total Environment*. 2020, 789(698), 134057. ISSN 0048-9697.
- [3] ASCAR, Loreto, Inés AHUMADA, Natalia MORALES, Tatiana GARRIDO, Ady GIORDANO a Karla LEIVA. Mobility of nonsteroidal anti-inflammatory Ddrugs in soil Wwith and without amendment od biosolid. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2017, **62**(3), 3593-3596. ISSN 0717-9707. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.4067/s0717-97072017000303593>
- [4] BARTRONS, Mireia a Josep PEÑUELAS. Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants. *Trends in Plant Science*. 2017, **3**(22), 185-272. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.010>
- [5] GONZÁLEZ GARCÍA, Mariano, Carmen FERNÁNDEZ-LÓPEZ, Francisco PEDRERO-SALCEDO a Juan JOSE ALARCÓN. Absorption of carbamazepine and diclofenac in hydroponically cultivated lettuces and human health risk assessment. *Agricultural Water Management*. Elsevier, 2018, **1**(206), 42-47. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.04.018>
- [6] TRAPP, Stefan a Charlotte N. LEGIND. Uptake of Organic Contaminants from Soil into Vegetables and Fruits. *Dealing with Contaminated Sites: From Theory towards Practical Application*. 1. Švýcarsko: Springer Science, 2011, s. 369-408. ISBN 978-90-481-9757-6.
- [7] FILEP, Tibor, Lili SZABÓ, Attila Csaba KONDOR, Gergely JAKAB a Zoltán SZALAI. Evaluation of the effect of the intrinsic chemical properties of pharmaceutically active compounds (PhACs) on sorption behaviour in soils and goethite. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021, (215), 112-120. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112120>
- [8] LE GUET, Thibaut, Ilham HSINI, Jérôme LABANOWSKI a Leslie MONDAMERT. Sorption of selected pharmaceuticals by a river sediment: role and mechanisms of sediment or Aldrich humic substances. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018, (25), 14532–14543.
- [9] PRAKATHI, Jeya, Biswanath MAHANTY a Pema LHAMO. Adsorption, Bioavailability and Microbial Toxicity of Diclofenac in Agricultural Soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2020, (105), 490–495. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1007/s00128-020-02955-1>
- [10] BIEL-MAESO, Miriam, Carmen GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, Pablo A.LARA-MARTÍN a Carmen CORADA-FERNÁNDEZ. Sorption and degradation of contaminants of emerging concern in soils under aerobic and anaerobic conditions. *Science of The Total Environment*. 2019, (666), 662-671. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.279>

- [11] STEFANO, Paulo Henrique Prado, Ari ROISENBERG, Elias Bittencourt GOMES, Bianca Veloso GOULART a Cassiana Carolina MONTAGNER. Transport of emerging contaminants: a column experimental study in granitic, gneissic, and quaternary alluvial soils from Porto Alegre, Southern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2021, **193**(262), 12. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1007/s10661-021-09026-w>
- [12] CHEFETZ, Benny, Tamar MUALEM a Julius BEN-AR. Sorption and mobility of pharmaceutical compounds in soil irrigated with reclaimed wastewater. *Chemosphere*. 2008, **8**(73), 1335-1343. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.070>
- [13] BIEL-MAESO, Miriam, Carmen CORADA-FERNÁNDEZ a Pablo A.LARA-MARTÍN. Monitoring the occurrence of pharmaceuticals in soils irrigated with reclaimed wastewater. *Environmental Pollution*. 2018, (235), 312-321. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.085>
- [14] JianX, LaoshengWu a Andrew C.Chang. Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere*. 2009, **10**(77), 1299-1305. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.063>
- [15] ZHAO, Yue, Fei LIU a Xiaopeng QIN. Adsorption of diclofenac onto goethite: Adsorption kinetics and effects of pH. *Chemosphere*. 2017, **1**(180), 373-378. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.007>
- [16] PÉREZ-ESTRADA, L.A., M.I. MALDONADO, W. GERNJAK, A. AGÜERA, A.R. FERNÁNDEZ-ALBA, M.M. BALLESTEROS a S MALATO. Decomposition of diclofenac by solar driven photocatalysis at pilot plant scale. *Catalysis Today*. 2005, **3-4**(101), 219-226. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2005.03.013>
- [17] DE OLIVEIRA, Tiago, Régis GUÉGAN, Thomas THIEBAULT, Claude LE MILBEAU, Fabrice MULLER, Vinicius TEIXEIRA, Marcelo GIOVANELA a Mohammed BOUSSAFIR. Adsorption of diclofenac onto organoclays: Effects of surfactant and environmental (pH and temperature) conditions. *Journal of Hazardous Materials*. 2017, **part A**(323), 558-566.
- [18] PubChem Diclofenac. *PubChem* [online]. USA: National Institutes of Health (NIH)., 2004 [cit. 2022-04-19]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac>
- [19] BAHASHI, Jiayinaguli a Erping BI. Effects of Al substitution on sorption of diclofenac to Fe(III) (hydr)oxides: roles of phase transition and sorption mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021, **29**(181), 21314–21327. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1007/s11356-021-16992-8>
- [20] MARTINEZ-COSTA, Jesús Iván, Roberto LEYVA-RAMOS a Erika PADILLA-ORTEGA. Sorption of Diclofenac from Aqueous Solution on an Organobentonite and Adsorption of Cadmium on Organobentonite Saturated with Diclofenac. *Clays and Clay Minerals*. 2018, **6**(66), 515–528.
- [21] J.AHMED, Muthanna. Adsorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous solution using activated carbons: Review. *Journal of Environmental Management*. 2017, **1**(190), 274-282. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.073>
- [22] S.ALKHURAJI, Turki. Advanced oxidation process based on water radiolysis to degrade and mineralize diclofenac in aqueous solutions. *Science of The Total*

- Environment*. 2019, **1**(688), 708-717. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.164](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.164)
- [23] R.FARIA, Emanuel, Fernando M.RIBEIRO, Rodrigo M.VERLY, Débora V.FRANCO a Leonardo M.DA SILVA. An environmentally friendly electrochemical reactor for the degradation of organic pollutants in the total absence of a liquid electrolyte: A case study using diclofenac as a model pollutant. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2017, **4**(5), 3873-3881. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.07.056](https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.07.056)
- [24] MARYAM, Bareera, Valentina BUSCIO, Sevde USTUNODABASI a Hanife BUYUKGUNGOR. A study on behavior, interaction and rejection of Paracetamol, Diclofenac and Ibuprofen (PhACs) from wastewater by nanofiltration membranes. *Environmental Technology & Innovation*. 2020, (18). Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100641](https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100641)
- [25] YU, Xingyue, Deirdre CABOOTER a Raf DEWIL. Efficiency and mechanism of diclofenac degradation by sulfite/UV advanced reduction processes (ARPs). *Science of The Total Environment*. 2019, **1**(688), 65-74. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.210](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.210)
- [26] Zhao, Y., Liu, F. & Qin, X. Removal of Diclofenac from Aqueous Phase by Birnessite: Effects of pH and Common Ions. *Water Air Soil Pollut* **230**, 14 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11270-018-4059-8>
- [27] RIZZI, Vito, Fabio ROMANAZZI, Jennifer GUBITOSA, Paola FINI, Roberto ROMITA, Angela AGOSTIANO, Andrea PETRELLA a Pinalysa COSMA. Chitosan Film as Eco-Friendly and Recyclable Bio-Adsorbent to Remove/Recover Diclofenac, Ketoprofen, and Their Mixture from Wastewater. *Biomolecules*. 2019, **9**(10), 571. Dostupné z: [doi:10.3390/biom9100571](https://doi.org/10.3390/biom9100571)
- [28] Chianese, S., Iovino, P., Leone, V. *et al.* Photodegradation of Diclofenac Sodium Salt in Water Solution: Effect of HA, NO₃⁻ and TiO₂ on Photolysis Performance. *Water Air Soil Pollut* **228**, 270 (2017). <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3445-y>
- [29] IOVINO, Pasquale, Simeone CHIANESE, Silvana CANZANO, Marina PRISCIANDARO a Dino MUSMARRA. Photodegradation of diclofenac in wastewaters. *Desalination and Water Treatment*. 2017, (61), 293–297. Dostupné z: [doi:doi:10.5004/dwt.2016.11063](https://doi.org/10.5004/dwt.2016.11063)
- [30] ZHANG, Nan, Guoguang LIU, Haijin LIU, Yingling WANG, Zhanwei HE a Gang WANG. Diclofenac photodegradation under simulated sunlight: Effect of different forms of nitrogen and Kinetics. *Journal of Hazardous Materials*. 2011, **1**(192), 411-418. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.038](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.038)
- [31] ZHANG, N., J. M. LI, G. G. LIU, X. L. CHEN a K. JIANG. Photodegradation of diclofenac in aqueous solution by simulated sunlight irradiation: kinetics, thermodynamics and pathways. *Water Science & Technology*. 2017, **9**(75), 2163–2170. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.2166/wst.2017.075](https://doi.org/10.2166/wst.2017.075)
- [32] KOUMAKI, Elena, Daniel MAMAI, Constantinos NOUTSOPOULOS, Maria-Christina NIKA, Anna A.BLETSSOU, Nikolaos S.THOMAIDIS, Alexander EFTAXIAS a Georgia STRATOIANNI. Degradation of emerging contaminants from water under natural sunlight: The effect of season, pH, humic acids and nitrate and identification of photodegradation by-products. *Chemosphere*. 2015, (138), 675-681. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.07.033](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.07.033)

- [33] GILMANOVA, Leisan, Volodymyr BON, Leonid SHUPLETSOV, Darius POHL, Marcus RAUCHE, Eike BRUNNER a Stefan KASKEL. Chemically Stable Carbazole-Based Imine Covalent Organic Frameworks with Acidochromic Response for Humidity Control Applications. *Journal of the American Chemical Society*. American Chemical Society, 2021, **143**(44), 18368-18373. Dostupné z: doi:10.1021/jacs.1c07148
- [34] MASLOWSKA-JARZYNA, Krystyna, Maria L. KORCZAK, Jakub A. WAGNER a Michał J. CHMIELEWSKI. Carbazole-Based Colorimetric Anion Sensors. *Molecules*. 2021, **26**, 3205. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26113205
- [35] UZGÖREN-BARAN, Ayse, Elif KESKIN, Deniz ÇAKMAZ, Burcu AYDINER, Demet OZER, Nurgül SEFEROĞLU a Zeynel SEFEROĞLU. Novel carbazole based hydrazone type light-up chemosensors. *Journal of Molecular Structure*. 2022, **3**(1250), 131919. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131919
- [36] KOLI, Mrunesh R., Amina LABIOD, Saikat CHAKRABORTY, et al. Tuning the Emission Color of Indolo[3,2-b]carbazole-Based Boron Complexes and their Application in Organic Field Effect Transistors and Bioimaging. *ChemPhotoChem*. 2020, **9**(4), 644-748. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/cptc.202000080
- [37] CREDICO, B. Di, I. R. BELLOBONO, M. D'ARIENZO, D. FUMAGALLI, M. REDAELLI, R. SCOTTI a F. MORAZZONI. Efficacy of the Reactive Oxygen Species Generated by Immobilized TiO₂ in the Photocatalytic Degradation of Diclofenac. *International Journal of Photoenergy*. 2015, 13. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1155/2015/919217
- [38] ŚWIACKA, Klaudia, Anna SZANIAWSKA a Magda CABAN. Evaluation of bioconcentration and metabolism of diclofenac in mussels *Mytilus trossulus* - laboratory study. *Marine Pollution Bulletin*. 2019, (141), 249-255. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.050
- [39] ŚWIACKA, Klaudia, Katarzyna SMOLAR, Jakub MACULEWICZ, Alicja MICHNOWSKA a Magda CABAN. Exposure of *Mytilus trossulus* to diclofenac and 4'-hydroxydiclofenac: Uptake, bioconcentration and mass balance for the evaluation of their environmental fate. *Science of The Total Environment*. 2021, (791), 148-172. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148172
- [40] ŚWIACKA, Klaudia, Katarzyna SMOLARZ, Jakub MACULEWICZ a Magda CABAN. Effects of environmentally relevant concentrations of diclofenac in *Mytilus trossulus*. *Science of The Total Environment*. 2020, (737), 139-797. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139797
- [41] FU, Qiuguo, Qingfu YE, Jianbo ZHANG, Jaben RICHARDS, Dan BORCHARDT a Jay GAN. Diclofenac in Arabidopsis cells: Rapid formation of conjugates. *Environmental Pollution*. 2017, (222), 383-392. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.022
- [42] HUBER, Christian, Bernadett BARTHA a Peter SCHRÖDER. Metabolism of diclofenac in plants – Hydroxylation is followed by glucose conjugation. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, (243), 250-256. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.023
- [43] Yuchen Guo, Yuchen GUO, Chunhong LIU, Rongke YE a Qingling DUAN. Advances on Water Quality Detection by UV-Vis Spectroscopy. *Applied Sciences*. 2020, **10**(19), 68-74. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.3390/app10196874

- [44] PERKAMPUS, Heinz-Helmut. *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*. Ilustrované vydání. Německo: Springer Science & Business Media, 2013. ISBN 3642774776.
- [45] BERTHOMIEU, Catherine a Rainer HIENERWADEL. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis Research*. Springer Science+Business Media, 2009, (101), 157–170. Dostupné z: doi:DOI 10.1007/s11120-009-9439-x
- [46] ȚUCUREANU, Vasilica, Alina MATEI a Andrei Marius AVRAM. FTIR Spectroscopy for Carbon Family Study. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2016, 6(46), 502-520. Dostupné z: doi:https://doi-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/10.1080/10408347.2016.1157013
- [47] SIMONESCU, Claudia Maria. Application of FTIR Spectroscopy in Environmental Studies. *Advanced Aspects of Spectroscopy*. Rijeka: IntechOpen, 2012, s. 50-82. ISBN 978-953-51-0715-6.
- [48] TIERNAN, Hannah, Bernadette BYRNE a Sergei G. KAZARIAN. ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020, (241), 118636. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118636
- [49] BEASLEY, Melanie M., Eric J. BARTELINK, Lacy TAYLOR a Randy M. MILLER. Comparison of transmission FTIR, ATR, and DRIFT spectra: implications for assessment of bone bioapatite diagenesis. *Journal of Archaeological Science*. 2014, (46), 16-22. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jas.2014.03.008
- [50] ŠMERDOVÁ, Kateřina. *Chování diklofenaku v půdních systémech*. Brno, 2020. Bakalářská práce. Vysoké učení technické. Vedoucí práce Prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

NASAID	Nesteroidní protizánětlivá léčiva
DK	Diklofenak
ŽP	Životní prostředí
ČOV	Čistírna odpadních vod
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HA	Huminové kyseliny
NaCl	Chlorid sodný
pKa	Disociační konstanta
4-OH DK	4-hydroxydiklofenak
5-OH DK	5-hydroxydiklofenak
ATR	Zeslabený úplný odraz
DRIFTS	Difuzní odrazivost
UV-VIS spektroskopie	Ultrafialová-viditelná spektroskopie
FTIR spektroskopie	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací