

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Fotochemická degradace verapamilu v homogenní a v heterogenní
fotokatalytické reakci**

Diplomová práce

Michaela Dušáková

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Šárka Klementová, CSc.

České Budějovice 2017

Dušáková, M., 2017: Fotochemická degradace verapamilu v homogenní a v heterogenní fotokatalytické reakci. [Photochemical degradation of verapamil in homogeneous and heterogeneous photocatalytic reaction. Mgr. Thesis, in Czech.] – 44 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

This master thesis deals with one of the calcium channel blockers – verapamil. The theoretical part of the thesis summarizes the properties of verapamil, its therapeutical doses and its transformation in the human body together with its occurrence in sewage effluents and in the aquatic environment generally. Advanced oxidation processes, techniques investigated in connection with pollutants degradation, are briefly introduced.

The experimental part presents results of photochemical degradation of verapamil in aqueous solutions on the one hand with addition of ferric ions as a catalyst and on the other hand in a photocatalysed reaction on immobilized TiO₂. HPLC were adopted for degradation kinetics measurement.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 19. dubna 2017

.....
Podpis

Cíl práce

Cílem práce bylo v teoretické části podat přehled vlastností verapamilu, používaných léčebných dávek (a z toho vyplývající celkové produkce a možného zatížení odpadních a povrchových vod) a použitých postupů odstraňování včetně fotochemického odbourávání a dalších technik AOP (advanced oxidation processes).

Experimentálním cílem práce bylo osvojit si provedení homogenní a heterogenní fotokatalytické reakce a prozkoumat kinetiku fotochemického odbourávání verapamilu v homogenní fázi bez přídavku a s přídavkem železitých iontů a v heterogenním uspořádání na polovodiči TiO₂.

V průběhu experimentální části práce byl základní experimentální cíl rozšířen o stanovení mineralizovaného podílu verapamilu v ozařovaných směsích a o pokus identifikovat produkty fotochemické degradace. Nedílnou součástí práce bylo zvládnout techniku HPLC pro sledování kinetiky odbourávání.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce doc. RNDr. Šárce Klementové, CSc. za odborné vedení, připomínky a věnovaný čas. Dále chci poděkovat Ing. Davidu Kahounovi, Ph.D. za pomoc s obsluhou HPLC přístroje, Ing. Pavle Fojtíkové z HBÚ BC AV ČR za provedení TOC analýzy a Davidu Klementovi za vytvoření Obr. 3.

Obsah

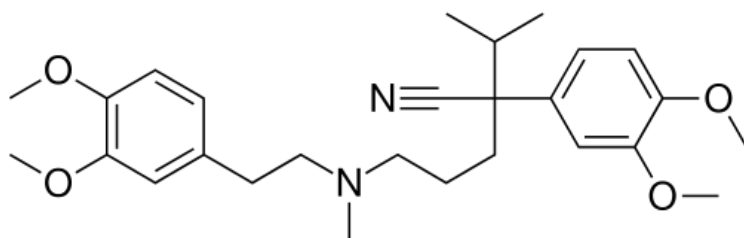
1 Úvod	1
1.1 Verapamil.....	1
1.2 Možnosti degradace polutantů - pokročilé oxidační procesy (AOP).....	8
2 Materiály a metody	13
3 Výsledky	16
4 Diskuze	24
5 Závěr.....	28
6 Seznam použité literatury	29
7 Přílohy	37

1 Úvod

Ve světě je syntetizováno stále více organických sloučenin a spolu s jejich rostoucí výrobou se objevuje problém znečištění odpadních vod těmito látkami. Léčiva používaná v lidské a veterinární medicíně se dostávají do odpadních vod z výrobních procesů, nemocnic i domácností, např. v důsledku nesprávné likvidace nepoužitých nebo starých léčiv^[1,2]. K rostoucím detekovaným koncentracím v přírodních vodách přispívá i fakt, že léčiva jsou navrhována tak, aby byla nejen biologicky aktivní ale zároveň i odolná vůči biodegradaci, čímž roste jejich persistence v přírodním prostředí^[3].

1.1 Verapamil

Verapamil patří k lékům ze skupiny blokátorů kalciových kanálů. Systematický název verapamilu se sumárním vzorcem $C_{27}H_{38}N_2O_4$ je (RS)-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-5-[[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl]-(methyl)amino]-2-prop-2-ylpentanitřil. Jeho relativní molekulová hmotnost je 454,6 g/mol. Kvůli přítomnosti terciární amino skupiny je verapamil slabou zásadou ($pK_a = 8,9$). Strukturní vzorec je zobrazen na Obr. 1^[4].

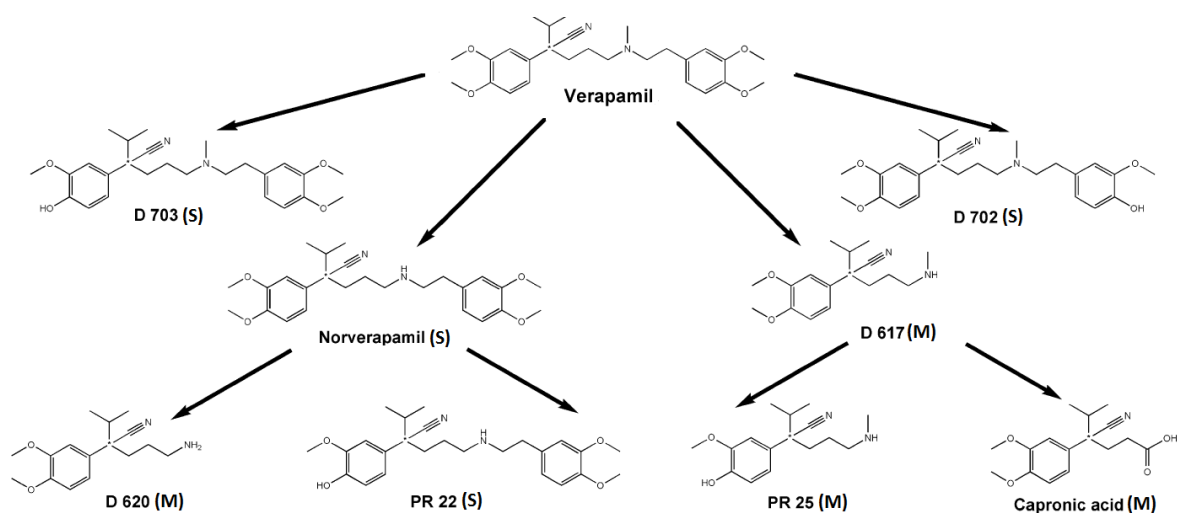


Obr. 1: Strukturní vzorec verapamilu^[4].

Verapamil je bílá krystalická látka, která je využívána jako lék na vysoký krevní tlak, anginu pectoris a poruchy srdečního rytmu^[5]. Verapamil omezuje vstup vápníku do buněk srdečního svalu a svalových vláken cév, tím vyvolává uvolnění cévní svaloviny, rozšíření cév a zlepšení prokrvení srdečního svalu^[6]. Řadí se mezi selektivní blokátory kalciových kanálů s přímým kardiálním účinkem a mezi fenylalkylaminové deriváty (společně s galopamilem). Jak je vidět z Obr. 1, verapamil obsahuje jedno centrum chiraloty. Jako lék je používána racemická směs (+)-(R)-verapamilu a (-)-(S)-verapamilu^[7]. Tyto enantiomery se liší svými farmakodynamickými a farmakokinetickými vlastnostmi. (S)-verapamil je až 20krát účinnější než (R)-verapamil, je však přednostněji metabolizován z dosud neznámého důvodu^[7].

Verapamil hydrochlorid se dodává buďto v tabletách s prodlouženým uvolňováním (např. Verogalid, Isoptin, Lekoptin retard) nebo okamžitým uvolňováním (např. Lekoptin, Staveran)^[8]. Důrazně se nedoporučuje užívání kombinace verapamilu s beta-blokátory, což je skupina látek schopných blokovat beta-receptory v srdci, na něž se za normálních okolností váží stresové hormony, protože kombinace obou typů látek představuje nebezpečí přílišného snížení krevního tlaku a zpomalení srdeční frekvence, tzv. bradykardie^[5]. Studie Fuhra a kol.^[9] uvádí, že pacienti léčení verapamilem by se měli vyvarovat grapefruitové šťávy, protože dochází ke zvýšení hladiny koncentrace verapamilu v plasmě v ustáleném stavu až o 50 %. Grapefruitový džus inhibuje CYP3A4, což je jeden z klíčových enzymů v metabolismu verapamilu, který stojí za tvorbou aktivního produktu norverapamilu^[10].

První studie o metabolismu verapamilu v lidském těle byla provedena v roce 1978 Eichelbaumem^[11]. Podle této studie je verapamil metabolizován za vzniku šesti hlavních a šesti stopových metabolitů, pouze 3 – 4 % verapamilu vycházejí nezměněny močí^[11]. Osm z těchto metabolitů uváděných Eichelbaumem bylo nalezeno i ve studii Reder-Hilze^[12] z roku 2004. Schéma metabolismu verapamilu v organismu a jeho exkrece ukazuje Obr. 2.



Obr. 2: Metabolity verapamilu in vivo a jeho exkrece dle Reder-Hilze^[12] - upraveno.
S – metabolity vylučovány stolicí a M – metabolity vylučovány močí.

Důležitou vlastností verapamilu je jeho nízká biologická dostupnost - přestože je prakticky úplně absorbován z gastrointestinálního traktu, dochází k rychlé metabolické přeměně v játrech a pouze 20 % se podílí na farmakologickém účinku^[11]. Hlavní metabolickou reakcí je štěpení vazby C – N – C v řetězci mezi aromatickými jádry. Přednostně dochází ke štěpení na atomu uhlíku patřícímu ke kratší straně řetězce, čímž vzniká nejvíce zastoupený metabolit

D-617 (2-(3,4-dimethoxyfenyl)-2-isopropyl-5-(methylamino)pentanitřil). Dalším významným metabolitem vznikajícím N-demetylací je norverapamil, který má dvacetiprocentní koronární vasodilatační účinnost verapamilu^[13]. Podle Andersona^[14] je obvyklá dávka verapamilu v klinické praxi 80 až 160 mg 3krát denně u tablet s okamžitým účinkem nebo 120 až 480 mg jednou denně u tablet s pomalým uvolňováním. Elliot^[15] uvádí, že při používání 80 – 120 mg dvakrát denně je eliminační poločas verapamilu 6 – 8 hodin, u tablet s prodlouženým uvolňováním při dávce 180 – 300 mg jednou denně se tento poločas prodlužuje na 24 hodin. U pacientů s omezenou funkcí jater nutno počítat se zpomalenou eliminací.

Existuje mnoho studií, které se zabývají různými analytickými metodami na stanovení koncentrace verapamilu v tělních tekutinách (krev, plasma, moč). Používány jsou chromatografické metody jako vysokoúčinná kapalinová chromatografie, micelární kapalinová chromatografie, plynová chromatografie, obvykle s detekcí hmotnostním spektrometrem. Koncentrace verapamilu v plasmě je důležitým ukazatelem v případě předávkování^[16]. Pro optimální léčebné výsledky se udává koncentrace verapamilu v plasmě v rozmezí 100,0 – 400,0 ng/ml^[17]. Nejvyšší nalezená koncentrace verapamilu v krevním vzorku dosahovala hodnot 5 610 ng/ml pro (R)-verapamil a 4 720 ng/ml pro (S)-verapamil^[18]; toto předávkování dotyčný pacient nepřežil. Studie Piekoszewski a kol.^[19] udává případ akutní otravy ženy, která užila 60 tablet Staveranu (verapamil s okamžitým účinkem) a přežila; v tomto případě byla naměřena koncentrace obou enantiomerů v plasmě 3 060 ng/ml, z toho 2 250 ng/ml pro (R)-verapamil a 810 ng/ml pro (S)-verapamil. V případech předávkování nastává u pacientů šok, akutní respirační tíseň, srdeční zástava, která může vést ke smrti^[16].

Metabolické cesty látek v lidském organismu jsou často zkoumány pomocí mikroorganismů, protože některé mikroorganismy dokáží metabolizovat léky podobným způsobem jako savci (lidé). Lu Sun a kol.^[20] studovali metabolismus verapamilu vláknitou houbou *Cunninghamella blakesleeana*. Při inkubaci této houby ve vodném roztoku verapamilu o koncentraci 500 µg/ml po 96 hodin nebyl přítomen v roztoku žádný verapamil a bylo identifikováno 23 metabolitů. Jako hlavní metabolické dráhy byly nalezeny reakce N-dealkylace a O-demetylace a navazování skupin SO₃H (tzv. sulfate conjugation). Sedm z dvanácti primárních metabolitů odpovídalo známým lidským metabolitům, jak je uvádějí studie Eichelbauma a Reder-Hilze^[11,12].

Verapamil je již dlouho užívaným lékem, poprvé byl představen roku 1962^[5] a od roku 1983 je na seznamu základních léčiv WHO. Vyráběná a předepisovaná množství se celosvětově pohybují řádově v tisících tun ročně. Podle prací Hummela a Trautweina^[21,7] uvádí ročenky vydávané pro účely zdravotního pojištění editované Schwabem a Paffrathem^[22,23], že například jen v Německu bylo v roce 2004 předepsáno cca 43 tun verapamilu^[22] a v roce 2005 prakticky stejné množství (41 tun)^[23]. Obě studie vycházejí z počtu předepsaných denních definovaných dávek (DDD – udržovací dávky léčiva na den u dospělé osoby, která činí 0,24 g). Jak uvádí již výše zmíněná studie Eichelbauma^[11], jsou 3 – 4 % verapamilu vylučovány nezměněné močí, z toho vyplývá, že do čističek odpadních vod (ČOV) v Německu může vstupovat kolem 1,5 tuny této látky ročně. Mnohaleté používání v lékařství způsobilo nejen kontaminaci vod verapamilem, ale do životního prostředí je uvolňováno i velké množství jeho metabolitů, hlavně metabolitu D 617 (2-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-isopropyl-5-(methylamino)pentanitřil)^[7].

V současné době se řada prací věnuje verapamilu jakožto zátěži pro životní prostředí (zejména vod) a jeho toxicitě pro vodní organismy.

Scharf a kol.^[24] provedli studii na přítocích a odtocích jedenácti městských čistíren odpadních vod v Rakousku. Mezi stanovovanými farmaceutickými produkty byl i verapamil. Ve většině čistíren byla koncentrace verapamilu pod 50 ng/l. Maximální koncentrace verapamilu na přítoku do jedné z čistíren činila 68 ng/l. Studie Hummela a kol.^[21] zkoumající vzorky vod z čistírny odpadních vod udává relativně vysoké koncentrace, 3 100 ng/l (přítok) a 510 ng/l (odtok).

Batt a kol.^[25] odebrali vzorky odpadní vody na odtoku ze sedmi ČOV v Novém Mexiku, stanovené koncentrace verapamilu byly v rozmezí 14 – 190 ng/l.

V roce 2015 byla sledována přítomnost verapamilu i v českých povrchových vodách^[26]. Na přítoku řeky Blanice (Živný potok) stanovené koncentrace činily 9 ng/l, 8 ng/l a 4 ng/l. Jednalo se o tři odběrová místa, 100 m od místa přítoku z prachatické ČOV, 1,5 km a 3 km dále po proudu.

Santos a kol.^[27] zkoumali odpadní vody ze čtyř různých nemocnic v portugalském městě Coimbra: fakultní (1456 lůžek), všeobecná (350 lůžek), pediatrická (110 lůžek) a porodnice (96 lůžek). Společně s tím analyzovali vzorky vod na přítoku a odtoku městské čistírny odpadních vod, kam přitéká voda z nemocnic. Data o výskytu verapamilu v odpadních

vodách čtyř uvedených nemocnic a ČOV jsou shrnuta v Tab. I. Je zřejmé, že vstup léčiv do městské ČOV závisí na lůžkové kapacitě jednotlivých nemocnic.

Tab. I: Rozsah koncentrací verapamilu v odpadní vodě nemocnic a ČOV^[27].

Místo odběru	Rozsah koncentrací [ng/l]
Fakultní nemocnice	5,68-67,2
Všeobecná nemocnice	4,14-12,0
Pediatrická nemocnice	4,00-5,83
Porodnice	4,17-6,55
Přítok ČOV	2,83-4,88
Odtok ČOV	1,22-3,04

Na přítoku ČOV je nalezena menší koncentrace než v nemocničních odpadních vodách, což je zapříčiněno celkovým přítokem do ČOV, který nepředstavuje jen vodu z nemocnic, ale i z domácností. Největší zatížení pocházející z nemocnic však představují antibiotika, analgetika a protizánětlivé léky.

Autoři hodnotili rizika verapamilu pro životní prostředí pomocí kvocientu nebezpečnosti (HQ – hazard quotient, kvocient nebezpečnosti¹) a to vůči dafniím a rybám – podle uvedených hodnot nepředstavuje riziko pro dafnie a ryby.

Účinnost odstraňování látek v čistírnách odpadních vod je závislá na několika faktorech: fyzikálně-chemické vlastnosti sloučenin, klimatické podmínky (teplota, intenzita slunečního záření), provozní podmínky a další^[28]. Aby docházelo k optimalizaci čištění, jsou potřeba další analýzy na přítocích a odtocích odpadních vod z ČOV. Golovko a kol.^[29] vyhodnocovali sezonní výskyt koncentrací vybraných látek v odpadní vodě. Odběr vzorků probíhal na ČOV v Českých Budějovicích od března 2011 do února 2012. Účinnost eliminace (RE – removal efficiencies) verapamilu definovaná rovnicí (1) byla v průběhu jednoho roku velmi proměnlivá.

$$RE[\%] = \frac{\text{přítok} - \text{odtok}}{\text{přítok}} \cdot 100 \quad (1)$$

¹ Kvocient nebezpečnosti je využíván ke kvantitativnímu vyjádření zdravotního rizika toxického nekarcinogenního účinku škodlivin.

Kvocient nebezpečnosti vyjadřuje poměr mezi zjištěnou nebo předpokládanou expozicí či dávkou a referenční dávkou, kvocient nebezpečnosti vyšší než 1 je považován za reálné riziko toxického účinku.

Nejvyšší účinnost v odstranění verapamilu byla v březnu (80 %) a nejnižší byla v zimních měsících (30 %). Po zbytek roku se účinnost pohybovala průměrně kolem 50 %. Významné rozdíly mezi zimními a letními měsíci jsou pravděpodobně způsobeny nižší mikrobiální aktivitou v aktivovaném kalu v zimě^[29].

Při biodegradaci verapamilu v aktivovaném kalu v čistírně odpadních vod byl stanoven poločas rozpadu (tedy doba, za kterou je stanovovaná látka degradována mikroorganismy v kalu na ½) 119 hodin při koncentraci suspendovaných částic kalu 2000 mg/l^[30].

Při studiu toxického účinku verapamilu na různé druhy vodních organismů (řasy, ryby, koryši) jsou jako výsledek ekotoxikologických analýz udávány hodnoty LC₅₀, EC₅₀ a NOEC.

- LC₅₀ značí koncentraci látky, která je smrtelná pro 50% testovaných organismů vystavených této koncentraci stanovenou dobu.
- EC₅₀ je efektivní koncentrace, při které dochází k úhynu nebo imobilizaci 50 % organismů.
- NOEC, tzv. „No Observed Effect Concentration“ udává nejvyšší zkoušenou koncentraci vzorku, která nevyvolává žádný pozorovatelný účinek (nedochází např. k inhibičnímu efektu).

Studie Villegase-Navarra a kol.^[31] dokazují, že verapamil působí toxickým efektem na vodní organismy, např. na hrotnatku velkou (*Daphnia magna*). Toxicita byla prokázána i při použití malých dávek, hodnota LC₅₀ pro verapamil (při 48 hodinové expozici) je rovna 7,04 mg/l. Verapamil u nich způsobuje zrychlení srdeční frekvence a zesílení svalové kontrakce (pozitivní chronotropní a inotropní účinky), zatímco u lidí může na myokard působit opačně, tj. způsobovat pokles síly svalové kontrakce.

Další studie zjišťovaly vliv verapamilu přítomného ve vodním prostředí na ryby pomocí akutních a chronických testů toxicity. Li a kol.^[32] studovali vliv verapamilu na juvenilní jedince pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*, pomocí akutních testů toxicity. Studie udává hodnotu letální koncentrace verapamilu LC₅₀ po 96 hodinách expozice 2,72 mg/l, což je v porovnání s jejich dalšími výsledky na jiných polutantech, např. na carbamazepinu (lék používaný u epilepsie) a fungicidu propiconazolu relativně nízká hodnota. Dále udávají, že při krátkodobé expozici (96 hod) koncentrace 0,27 mg/l způsobuje oxidativní stres u pstruha duhového.

Verapamil je látka s nízkou biokonzentrací v rybách. Biokonzentrační faktor² verapamilu v homogenátech celého kapřího těla se pohyboval v rozmezí od 6,6 do 16,6 oproti okolní vodě. Verapamil dosahoval delšího biologického poločasu u kapra než u lidí (10,2 dne), za čímž může být nízká rychlost biotransformace anebo eliminace verapamilu u ryb^[33].

Výsledky několika studií tak, jak je shrnuje Godoy a kol.^[34], ukazuje Tab. II.

Tab. II: Ekotoxikologická data k posouzení rizika pro životní prostředí.

Druh	Použitý test	Ekotoxická koncentrace verapamilu [mg/l]
<i>R. subcapitata</i> – řasa	EC ₅₀ (test růstové inhibice – 72 hod)	4,01 ^[35]
<i>Spirostomum ambiguum</i> – prvok	EC ₅₀ (test morfologických změn – 48 hod)	5,1 ^[36]
<i>D. magna</i> – korýš	NOEC (reprodukce – 21 dní)	1,1 ^[37]
	EC ₅₀ (imobilizace – 48 hod)	21,66 ^[35]
<i>O. mykiss</i> – ryba	LC ₅₀ (úhyn – 96 hod)	2,72 ^[32]
<i>Cyprinus caprio</i> – ryba	NOEC (malformace a otok s hromaděním krve v tělní dutině – 31 dní)	0,0046 ^[33]

² Biokonzentrační faktor je definován jako poměr koncentrace látky v organismu ku koncentraci látky ve vodě.

1.2 Možnosti degradace polutantů - pokročilé oxidační procesy (AOP)

Mnoho sloučenin je chemicky i biologicky rezistentních, proto stále větší pozornost získávají tzv. pokročilé oxidační procesy (Advanced oxidation processes - AOP). Tyto procesy se zdají být účinné při degradaci toxických sloučenin z vody. AOP jsou používány pro odstranění mnoha znečišťujících látek včetně léčiv, barviv, pesticidů, herbicidů, z nichž mnohé mají účinky endokrinních disruptorů atd.^[38]. Během těchto procesů vznikají velmi reaktivní a neselektivní hydroxylové radikály ($\bullet\text{OH}$), které mohou oxidovat téměř všechny organické molekuly a přeměnit je případně až na oxid uhličitý a anorganické ionty^[39]. Možností, jak připravit hydroxylové radikály *in situ* (tedy v místě reakce), je celá řada. Některé techniky používají UV záření a oxidační činidla jako ozón či peroxid vodíku (light oxidation processes).

Ozón je silné oxidační činidlo a může atakovat v molekulách místa s vysokou elektronovou hustotou. Verapamil má těchto míst hned několik: 4 methoxy skupiny, 2 benzenová jádra a terciární amino skupinu. Reaktivita molekulárního ozónu vůči organickým sloučeninám je velmi malá ve srovnání s reaktivitou hydroxylových radikálů, to znamená, že reakce hydroxylových radikálů s organickými sloučeninami je hlavním mechanismem systému UV/O₃^[40]. Zjednodušeně lze systém UV/O₃ popsat rovnicemi (2, 3).



Peroxid vodíku s UV zářením představují další alternativu k degradaci organických sloučenin, která se může vyskytovat i v přírodě^[41]. Působením UV záření může být peroxid vodíku rozložen na hydroxylové radikály. Tvorba hydroxylových radikálů může být podpořena přidáním peroxidu vodíku do systému UV/O₃, protože ozón je schopen rozložit peroxid vodíku na hydroxylové radikály.

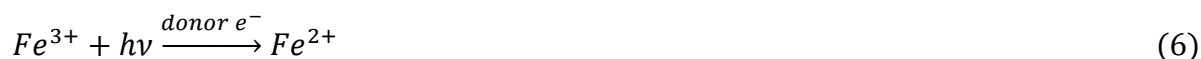
Oxidační procesy lze provádět i bez ozařování. Tyto procesy, tzv. dark oxidation processes, jsou v průmyslovém využití velmi běžné.

Patří sem například Fentonův proces, který využívá k tvorbě hydroxylových radikálů železnaté ionty a peroxid vodíku v kyselém prostředí^[42,43]. Fentonovou reakcí byla na konci 19. století oxidována kyselina vinná v přítomnosti železa. Hydroxylové radikály jsou produkovány rozkladem peroxidu vodíku podle rovnice (4), zatímco železnaté ionty mohou být v malé míře částečně regenerovány reakcí podle rovnice (5)^[44].



Nevýhodou Fentonovy reakce je skutečnost, že dvojmocné železo se v oxidačním prostředí nevratně oxiduje (reakce 4 probíhá ve výrazně větším rozsahu než reakce 5) a peroxid vodíku se spotřebovává, takže oba reaktanty musí být průběžně doplňovány.

Foto-Fentonova reakce je proces spojený s UV ozařováním. Železité ionty jsou UV zářením o vlnové délce kratší než 365 nm redukovány na železnaté ionty v přítomnosti vhodného donoru elektronu (organické látky vázané na železo jako ligand). Podle rovnice (6) tak fotochemicky vznikají katalyticky aktivní železnaté ionty, které poté mohou s peroxidem vodíku tvořit hydroxylové radikály, jak ukazuje rovnice (7). Přímá fotolýza peroxidu vodíku je též možná, ale probíhá za použití UV záření o vlnové délce kratší než 285 nm.



Výhodou foto-Fentonova procesu je obnovování redukované formy katalyzátoru *in situ*.

Železité ionty přítomné ve vodném roztoku obsahujícím rozpuštěný kyslík a organické látky mohou působit oxidaci organických látek umožněním katalyzované reakce kyslíku s organickým substrátem.

Tato reakce je za normálních okolností tzv. spinově zakázaná, protože organické látky v základním stavu mají všechny elektrony spárované a jsou tedy v tzv. singletovém stavu. Molekulární kyslík má v základním stavu dva nespárované elektrony, tento stav se nazývá tripletový. Přímá reakce singletového substrátu s kyslíkem v tripletovém stavu je tzv. spinově zakázaná (proto molekulární kyslík i přes vysoký oxidační potenciál neoxiduje ve svém základním stavu organické substráty).

Tento spinový zákaz se dá obejít několika způsoby, jedním z nich je překonání spinového zákazu prostřednictvím katalýzy kovovými ionty, která umožní reakci organického substrátu s molekulárním kyslíkem. Katalyticky účinnější pro tento typ reakce jsou železnaté ionty než ionty železité. První krok tohoto mechanismu je shodný s fotochemickou tvorbou železnatých iontů u foto-Fentonova reakce.

Fotochemicky vytvořené železnaté ionty tedy účinně katalyzují reakci kyslíku s organickým substrátem. Reakční schéma zachycují rovnice (8, 9).



Ve výše uvedených metodách (Fentonova reakce, foto-Fentonova reakce i katalyzovaná oxidace molekulárním kyslíkem) jsou všechny reagující komponenty rozpuštěné v roztoku, reakce tedy probíhá v homogenní fázi.

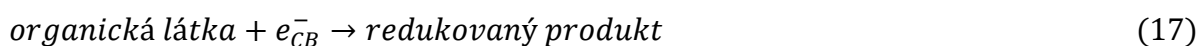
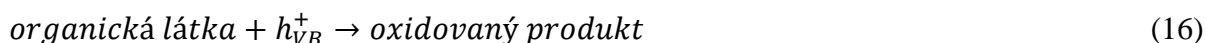
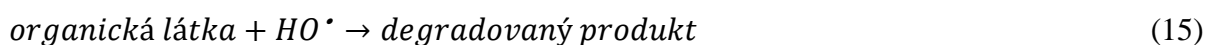
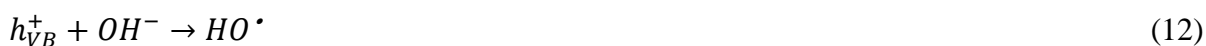
Heterogenní fotokatalýza na polovodiči je uspořádání, při kterém jsou reagující látky v různém skupenském stavu, přesněji probíhá fotokatalýza na rozhraní dvou fází (reaktanty a produkty v plynné nebo kapalně fázi a katalyzátor v pevné fázi). Nejčastěji používaným katalyzátorem je oxid titaničitý TiO_2 , ale mezi další katalyzátory patří například ZnO , ZnS a další^[45]. Oxid titaničitý je polovodič, jehož valenční a vodivostní pás odděluje pás zakázaných energií (rozdíl mezi HOMO – nejvyšší obsazený molekulový orbital a LUMO – nejnižší prázdný molekulový orbital). Energie potřebná k excitování elektronů z valenčního pásu (valence band, VB) do vodivostního pásu (conductivity band, CB), tedy energie zakázaného pásu, je důležitou charakteristikou polovodičů. K aktivaci oxidu titaničitého je potřeba energie větší než 3,2 eV, což odpovídá energii o vlnové délce kratší než 388 nm. V tom případě dojde ke vzniku dvojice elektron-díra, e_{CB}^- ve vodivostním pásu a díra h_{VB}^+ ve valenčním pásu. Po aktivaci polovodiče zářením o dostatečné vlnové délce (rovnice 10) následují reakce s molekulami vody nebo s rozpuštěným kyslíkem. Může se také stát, že elektron a díra rekombinují za uvolnění tepla.

Oxid titaničitý je pevná, bílá látka. Jeho výhodou je, že je levný a může být nanesen v tenké vrstvě na nosiči, např. na skle. Imobilizovaná forma se jeví jako značně výhodnější než prášková forma katalyzátoru, kterou je nutno následně odstranit z vody. Oxid titaničitý se vyskytuje ve třech alotropických modifikacích, anatas, rutil a brookit. Nejvýhodnější formou pro fotokatalýzu je anatas, protože rychlost rekombinace páru elektron-díra je pomalejší než u zbývajících modifikací. Komerčně dostupná forma oxidu titaničitého je prášek P-25 (Degussa), který obsahuje anatas a rutil v poměru 3 : 1^[46].

Mechanismus heterogenní fotokatalýzy na polovodiči lze popsat následovně:

1. Transport reaktantů k povrchu fotokatalyzátoru difúzí.
2. Adsorpce reaktantů na povrch fotokatalyzátoru.
3. Aktivace fotokatalyzátoru a reakce spojené s přenosem elektronů.
4. Desorpce produktů z povrchu fotokatalyzátoru.
5. Odstranění produktů difúzí.

Během třetího kroku se odehrává řada reakcí, které popisují následující rovnice^[47,48]:



Při reakcích jsou produkovány hydroxylové radikály, superoxidové anionradikály a hydroperoxidové radikály, které pak reagují s organickými substráty. Výsledkem je tvorba oxidačních produktů látek až jejich úplná mineralizace na vodu a oxid uhličitý.

Představené procesy (TiO₂/UV, UV/O₃, H₂O₂/UV/O₃, Fentonova a foto-Fentonova reakce) lze označit souhrnným označením AOP – pokročilé oxidační procesy, který byl zaveden již v roce 1987^[49]. Tyto procesy se využívají při čištění odpadních vod a jejich společným cílem je odstranění veškerého znečištění, které je způsobeno pesticidy, farmaky, prostředky osobní péče a dalšími látkami, prostřednictvím hydroxylových radikálů. Různé AOP techniky byly použity i na degradaci verapamilu.

Degradace verapamilu při vystavení UV záření (nízkotlaká Hg lampa 4 W) byla studována Bingem Zhu^[50] v souvislosti s bezpečností pro životní prostředí. Podle této studie odpovídá degradace verapamilu kinetice pseudoprvního řádu s rychlostní konstantou 0,011 min⁻¹. Autoři uvádějí, že k odstranění verapamilu z cca 50 % bylo potřeba 60 minut ozařování.

Horáková a kol.^[51] použili atmosférický plazmový výboj k degradaci verapamilu a to jednak samotný a jednak v kombinaci s TiO₂. V této studii je uváděný poločas rozpadu verapamilu 1,5 hodiny pro samotný plazmový výboj, zatímco při kombinaci plazmového výboje s TiO₂ v roztoku se poločas snížil na 0,8 hod. Na práci Horákové a kol. navazuje studie Krishny a kol.^[52], ve které byly zkoumány kromě účinnosti odstranění verapamilu plazmovým výbojem i transformační produkty pomocí HPLC-MS. Pro počáteční koncentrace 5·10⁻⁴ M a 5·10⁻⁵ M bylo během 80 minut odstraněno 37 % a 97 % verapamilu. Reakce byla popsána kinetikou 1. řádu s rychlostními konstantami 0,01 min⁻¹ a 0,026 min⁻¹ pro počáteční koncentrace 5·10⁻⁴ M a 5·10⁻⁵ M.

Krishna a kol.^[53] poprvé úspěšně použili plazmu generovanou dielektrickým bariérovým výbojem k odstranění verapamilu z vody. Provedli analýzu produktů verapamilu po oxidaci stanovením rozsahu mineralizace na CO₂. Hlavním oxidačním činidlem je v tomto případě ozón a po 5 hodinách bylo dosaženo mineralizace 98 % verapamilu.

Oksana Golovko^[54] ve své disertační práci uvádí, že při umělém zdroji záření (300 – 400 nm) je verapamil stabilní a při vystavení slunečnímu záření je verapamil odbouráván s poločasem rozpadu 8,24 hod a rychlostní konstantou 0,084 hod⁻¹. Experiment byl prováděn v červnu ve Švédsku, kde se intenzita slunečního záření pohybovala v rozmezí 521 – 722 W/m².

George Lunn^[55] zjistil, že zředěný vodný roztok verapamilu, může být dekontaminován za použití adsorpce na polymerní pryskyřici Amberlit. Dále zkoumal fotolýzu verapamilu (středotlaká Hg lampa 200 W) bez přítomnosti a s přídavkem peroxidu vodíku ve vztahu k tvorbě mutagenních produktů. Verapamil je degradován i bez přídavku peroxidu (kinetické parametry studie neuvádí), při degradaci nevznikají mutagenní produkty.

2 Materiály a metody

Verapamil hydrochlorid ($M = 491 \text{ g/mol}$) v čistotě $\geq 99 \%$ byl zakoupen od firmy Sigma-Aldrich. Zásobní roztok verapamilu byl připraven rozpuštěním 10,9 mg verapamilu ve 200 ml deionizované vody. Roztok byl uchováván v temnu při pokojové teplotě. Stabilita roztoku byla ověřena pomocí HPLC.

FeCl_3 byl zakoupen u firmy Lachema. Pro přídavky Fe^{3+} do reakčních směsí byl FeCl_3 rozpuštěn v 0,2 M HCl na roztok o koncentraci 0,16 mol/l.

UV-VIS spektra byla měřena přístrojem UV-VIS spectrophotometer SHIMADZU typu UV-1601 s použitím softwaru UV Probe.

Chromatografická stanovení pomocí HPLC byla prováděna na přístroji Thermo Scientific Dionex Ultimate system (USA) s kolonou Phenomenex Luna C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm).

Jako mobilní fáze byla použita směs 20 mM KH_2PO_4 ve vodě a acetonitrilu v poměru 60:40, která byla odplyněna pomocí ultrazvukové lázně Netz K2. Eluce byla prováděna isokraticky. Průtok mobilní fáze byl 1 ml/min, nastříkovaný objem vzorku byl 20 μl . Pro zpracování chromatografických dat byl použit program Chromeleon.

Pro detekci byly použity detektory – spektrofotometrický s diodovým polem PDA 3000RS a fluorescenční FLD 3000RS s excitační vlnovou délkou 231 nm a emisní vlnovou délkou 328 nm. Vlnové délky spektrofotometrické detekce byly 254 nm a 278 nm, 3D spektrum 190 – 450 nm.

Při stanovení hmotnostních spekter (systém složený z LC-DAD-MS: kapalinový chromatograf se spektrofotometrickou a tandemovou hmotnostní detekcí, ionizace pomocí elektrospreje) byly zachovány všechny parametry jako u HPLC kromě mobilní fáze. Mobilní fáze byla směs 0,1% HCOOH ve vodě a acetonitrilu v poměru 66,7:33,3.

Pro filtraci vzorků před HPLC byly testovány filtry Nylon, velikost pórů 0,20 μm , acetát celulózy (CA), velikost pórů 0,22 μm a PTFE velikost pórů 0,2 μm (vše od Millipore, USA). Kvůli absorpci verapamilu na Nylonu a PTFE byly k filtraci vzorků ozářených v přítomnosti TiO_2 použity filtry s acetátem celulózy.

Při reakci v homogenní fázi byly ozařovány vzorky o objemu 3 ml. Pokud bylo přidáváno Fe^{3+} , bylo odměřeno 25 ml roztoku verapamilu, k němu přidáno příslušné množství zásobního roztoku FeCl_3 , z tohoto roztoku pak byly pipetovány vždy 3 ml pro ozařování.

Ozařování bylo prováděno ve skleněných kyvetách s víčkem ve fotochemickém reaktoru Rayonet s lampami RPR 3000Å, které emitují světlo v rozmezí 254 – 350 nm; použitím skleněných kyvet byly odstraněny vlnové délky kratší než 300 nm. Kyvety s roztokem verapamilu a roztokem FeCl₃ byly ozařovány po dobu 0, 1, 2, 3, 5, 10, 20 minut. Teplota v reaktoru byla 32 až 35 °C. Konkrétní koncentrace přidaného Fe³⁺ a molární poměry jsou shrnuty v Tab. III.

Tab. III: Koncentrace přidaného Fe³⁺ a molární poměry verapamil : Fe pro homogenní fotokatalýzu.

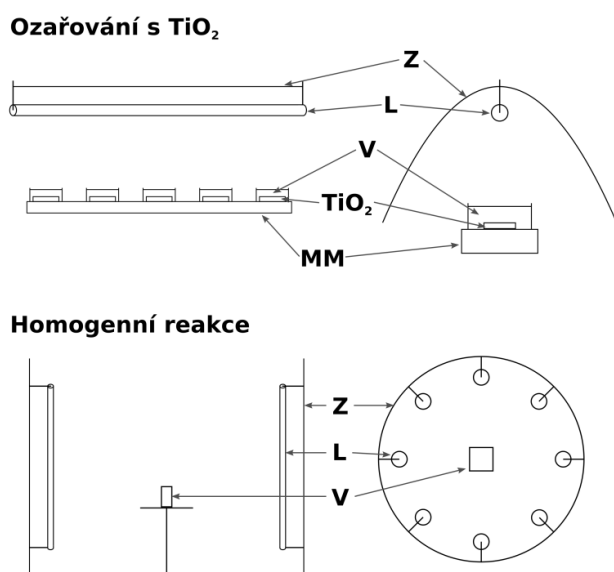
Koncentrace přidaného Fe ³⁺ [mol/l]	Koncentrace přidaného Fe ³⁺ [mg/l]	Molární poměr verapamil : Fe
3,2·10 ⁻⁵	1,8	1:0,3
8·10 ⁻⁵	4,5	1:0,7
16·10 ⁻⁵	8,9	1:1,4

Pro stanovení redukované frakce přidaného Fe³⁺ bylo použito spektrofotometrické stanovení Fe²⁺ v komplexu s 1,10-fenantrolinem. Roztok verapamilu s Fe³⁺ v molárním poměru 1:0,7 byl ozařován po dobu 0, 10, 20, 30, 60, 120, 180, 300 sekund. Po ozáření bylo ke každému vzorku přidáno 200 µl 1,10-fenantrolinu a po 10 minutách uchování ve tmě byla měřena absorbance při 510 nm. Koncentrace Fe²⁺ byla stanovena pomocí kalibrační křivky.

Heterogenní fotokatalýza byla prováděna na imobilizovaném TiO₂. Do pěti krystalizačních misek s plochým dnem bylo odpipetováno po 5 ml zásobního roztoku verapamilu. V každé misce bylo umístěno mikroskopické podložní sklo s vrstvou TiO₂ (0,5 mg · cm⁻²) a magnetické míchadlo tak, aby se nedotýkaly. Vzorky byly ozařovány na pětimístné magnetické míchače IKA RO 5. Jako zdroj záření byla použita lampa Philips TL-D 15W/08, která emituje záření 350 – 410 nm. Teplota během ozařování byla cca 32 °C. Vzorky byly ozařovány po dobu 0, 20, 40, 50, 80 a 120 minut. Ozářené vzorky byly kvantitativně převedeny do odměrných baněk (10 ml) a poté přefiltrovány (acetát celulózy 0,22 µm) pro HPLC analýzu.

Zářivý tok byl měřen pomocí Lutron UV A, celkový zářivý tok v oblasti vlnových délek 320 – 390 nm (rozsah přístroje) vyzářený za jednotku času byl spočítán pro ozařovanou plochu; jeho hodnota pro reaktor Rayonet byla 4,5 W, pro lampu Phillips TL-D 15W/08 byla 9,3 W.

Schéματα aparatur používaných k ozařování jsou zobrazena na Obr. 3.

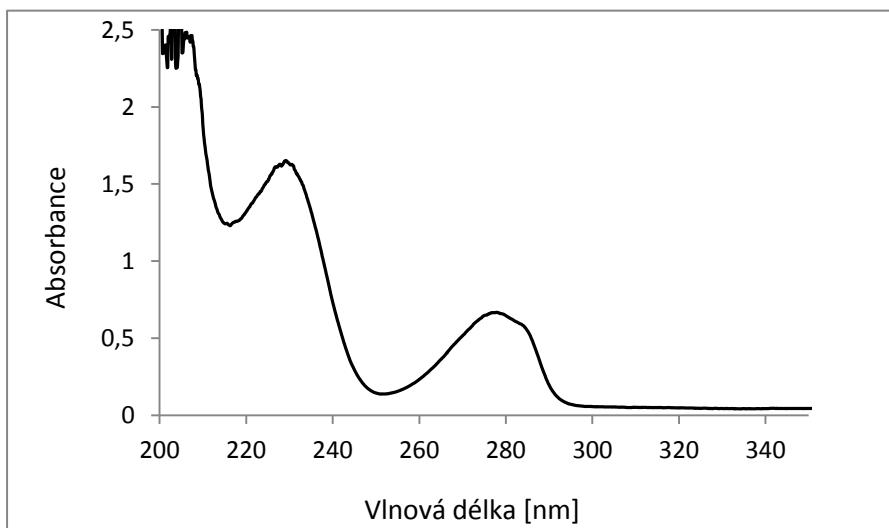


Obr. 3: Schémata aparatur na ozařování s TiO_2 a pro homogenní reakci: Z – zrcadlo, L – lampa, V – vzorek k ozáření, TiO_2 – vrstva TiO_2 imobilizovaná na skle, MM – magnetická míchačka.

TOC analýza byla provedena s použitím reaktoru Elementar Vario TOC Cube (Německo), v němž byl vzorek spálen v oxidačním prostředí při $850\text{ }^\circ\text{C}$ s použitím platiny ke katalytickému štěpení. Množství uhlíku ve formě CO_2 je stanoveno pomocí IČ spektra.

3 Výsledky

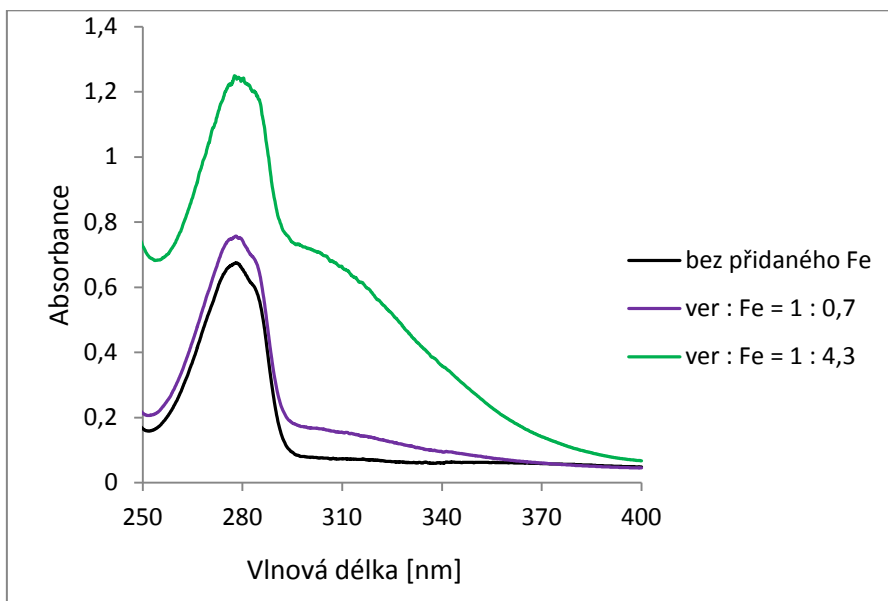
Verapamil vykazuje absorpční maxima v ultrafialové oblasti při vlnových délkách 230 a 278 nm a při vlnové délce 254 nm dosahuje minima. Verapamil neabsorbuje záření vlnových délek nad 300 nm, jak je vidět z Obr. 4.



Obr. 4: Absorpční spektrum zásobního roztoku verapamilu.

Pro analytické stanovení pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) byly použity detekční vlnové délky 254 a 278 nm.

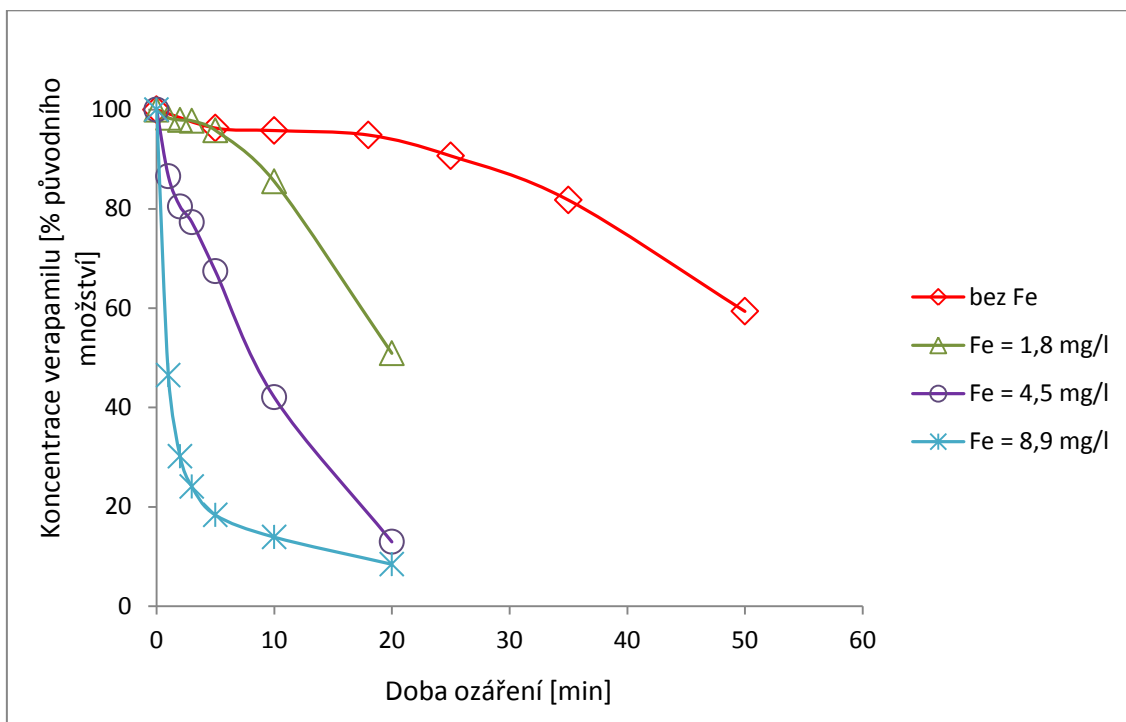
Z Obr. 5, kde je zobrazeno absorpční spektrum verapamilu s Fe (III) v různém molárním poměru verapamil : Fe, je patrné, že vzniklé komplexy absorbují i záření o vlnové délce větší než 300 nm.



Obr. 5: Absorpční spektra roztoku verapamilu bez přidaného Fe (III) a s přidavkem Fe (III) v molárním poměru k verapamilu 1:0,7 a 1:4,3. Koncentrace verapamilu $1,11 \cdot 10^{-4}$ mol/l.

Na Obr. 5 je černě absorpční spektrum verapamilu, fialově spektrum verapamilu s Fe (III) o koncentraci 0,08 mmol/l a zeleně spektrum verapamilu s Fe (III) o koncentraci 0,48 mmol/l. U křivky s menším obsahem železitých kationtů je vidět nárůst absorbance nad 300 nm. U křivky s vyšším obsahem železitých kationtů vzrostla absorbance nad 300 nm velmi výrazně. Potvrzuje se, že verapamil tvoří s železitým kationtem komplex, který již může absorbovat záření dopadající na zemský povrch.

Při ozařování roztoku verapamilu a roztoků verapamilu s přidaným Fe docházelo k úbytku verapamilu v reakčních směsích. Výsledky této reakce v homogenní fázi jsou znázorněny na Obr. 6.

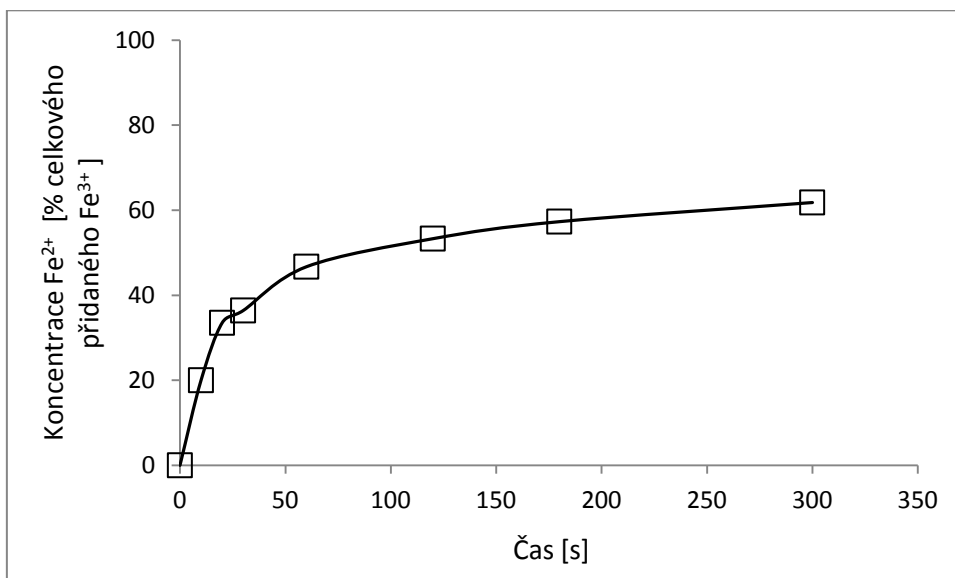


Obr. 6: Pokles verapamilu při ozařování v homogenní fázi s Fe (III). Koncentrace verapamilu $1,11 \cdot 10^{-4}$ mol/l.

Obr. 6 ukazuje, že rychlost degradace verapamilu závisí významně na koncentraci železitých iontů v reakční směsi. V roztoku samotného verapamilu bez přidaného Fe nedochází v prvních dvaceti minutách ozařování k poklesu koncentrace verapamilu; při delším ozařování ale je pozorovatelný pokles koncentrace, po 50 minutách je odbouráno cca 60 % počátečního množství verapamilu. Podobný průběh, ale s kratší počáteční fází, kdy není pozorovatelná degradace, má i reakce s nejnižší koncentrací Fe^{3+} , tj. 1,8 mg/l ($0,32 \cdot 10^{-4}$ mol/l). S vyšší koncentrací přidaných železitých kationtů probíhá reakce bez počáteční prodlevy. Při koncentraci 8,9 mg/l je rychlost degradace tak vysoká, že v průběhu 4 minut je odbouráno více než 80 % verapamilu přítomného na počátku reakce.

Pro nejvyšší použitou koncentraci přidaného Fe (III) (8,9 mg/l) byly počáteční hodnoty proloženy exponenciální křivkou k vyhodnocení kinetikou 1. řádu, stanovená rychlostní konstanta má hodnotu $0,632 \text{ min}^{-1}$. Pro degradaci verapamilu s koncentrací přidaného železa 4,5 mg/l poskytlo vyhodnocení s počátečními třemi hodnotami hodnotu rychlostní konstanty $0,116 \text{ min}^{-1}$.

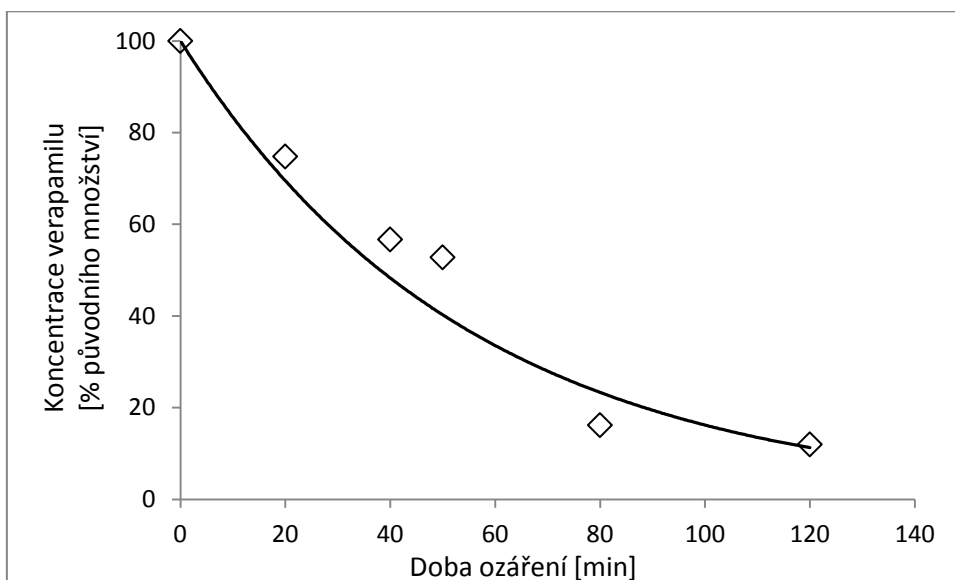
Protože v reakční směsi s přidanými železity ionty může docházet k redukci železitých iontů na železnaté, bylo provedeno stanovení vznikajících železnatých iontů; průběh této fotochemické redukce v reakční směsi verapamilu s přidaným Fe o koncentraci 4,5 mg/l je ukázán na Obr. 7.



Obr. 7: Fotoredukce železitého kationtu v reakční směsi s verapamilem + Fe o koncentraci 4,5 mg/l.

Z Obr. 7 vyplývá, že k fotoredukci dochází relativně rychle – po přibližně 2 minutách je dosaženo ustáleného stavu, v němž je cca 60 % veškerého přidaného železa v redukované formě.

Ozařování verapamilu v heterogenní směsi s TiO₂ jako fotokatalyzátorem ukazuje Obr. 8.

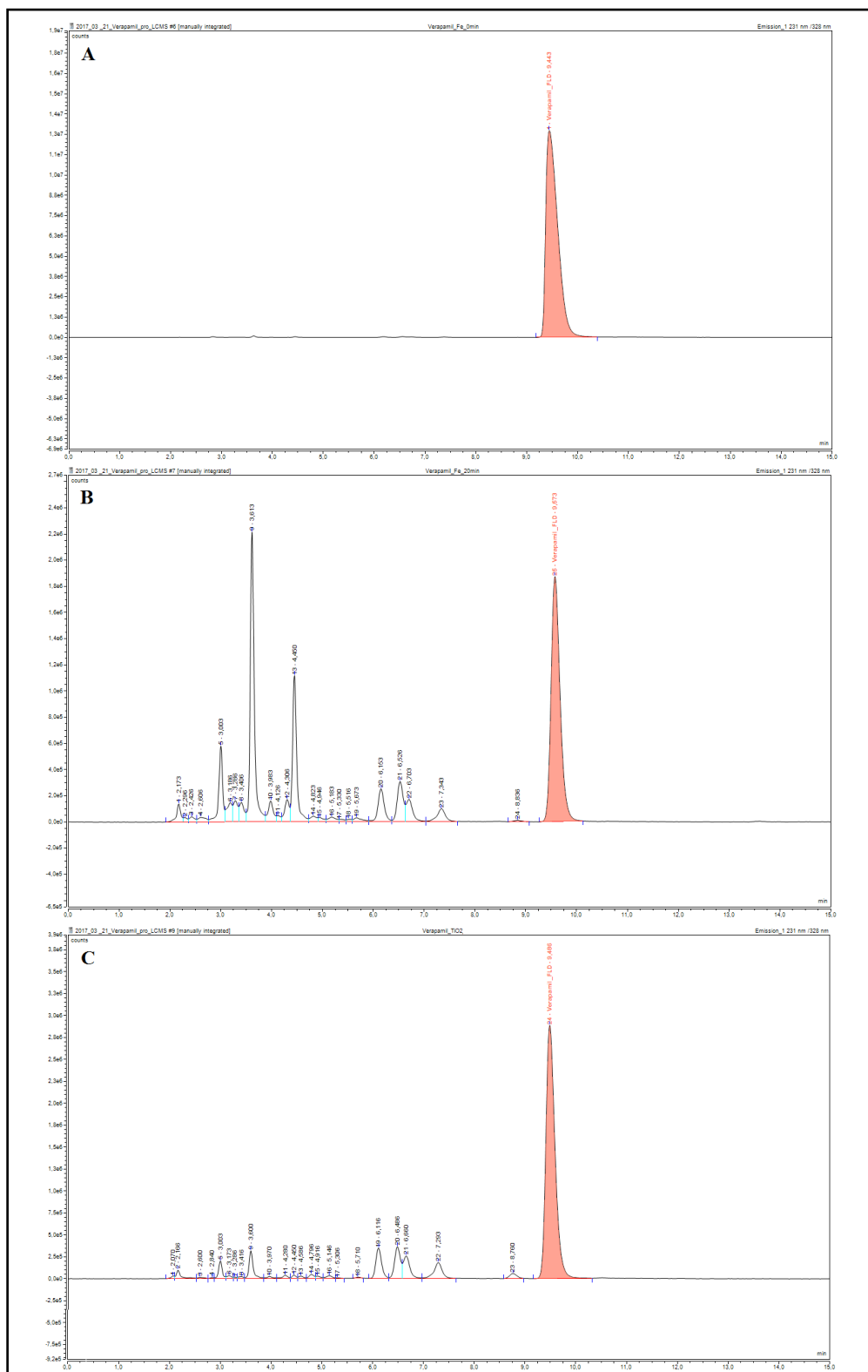


Obr. 8: Úbytek verapamilu při ozařování na TiO₂.

Jak je patrné z Obr. 8, po dvou hodinách ozařování zbývá v reakční směsi 12 % původního množství verapamilu.

Naměřené hodnoty byly proloženy exponenciální křivkou, z níž byla stanovena hodnota rychlostní konstanty 0,018 min⁻¹.

Na Obr. 9 jsou zobrazeny HPLC chromatogramy získané při fluorescenční detekci.



Obr. 9: Chromatogramy vzorků po degradaci: A – verapamil bez Fe neozářený; B – reakce v homogenní fázi s Fe (III) po 20 minutách ozáření (ver : Fe = 1:0,7); C – reakce na TiO₂ po 90 minutách ozáření. Zvětšené verze chromatogramů A, B, C viz Příloha 1.

Na chromatogramu v části A je přítomen pouze pík verapamilu, v části B je reakční směs verapamil + Fe, v části C pak reakční směs ozařovaná v přítomnosti TiO₂. Jak je z obrázku patrné, při ozařování oběma způsoby vzniká řada produktů; mnohé z těchto produktů lze (při větším rozlišení) nalézt v obou reakčních směsích, liší se ale intenzitou signálu (tedy množstvím) a vzájemným poměrem. Přehled intenzit píků při jednotlivých retenčních časech je shrnut v Tab. IV:

Tab. IV: Intenzita píků při jednotlivých retenčních časech pro homogenní a heterogenní směs.

Retenční čas [min]	Intenzita signálu	
	Homogenní reakční směs	Heterogenní reakční směs s TiO ₂
3,003	vysoká intenzita	střední intenzita
3,186	nízká intenzita	nedetekován
3,286	nízká intenzita	nedetekován
3,406	nízká intenzita	nedetekován
3,613	vysoká intenzita	střední intenzita
3,983	nízká intenzita	velmi nízká intenzita
4,306	nízká intenzita	velmi nízká intenzita
4,450	vysoká intenzita	velmi nízká intenzita
4,823	velmi nízká intenzita	velmi nízká intenzita
4,946	velmi nízká intenzita	velmi nízká intenzita
5,183	velmi nízká intenzita	velmi nízká intenzita
5,673	velmi nízká intenzita	velmi nízká intenzita
6,153	střední intenzita	střední intenzita
6,526	střední intenzita	střední intenzita
6,703	nízká intenzita	střední intenzita
7,343	nízká intenzita	střední intenzita
8,836	velmi nízká intenzita	velmi nízká intenzita

Největší zastoupení v homogenní směsi mají produkty s retenčními časy 3,003 min, 3,613 min a 4,450 min. Píky s retenčními časy 4,306 min a 4,450 min nejsou ve směsi s TiO₂ prakticky rozpoznatelné v porovnání s homogenní směsí verapamilu s Fe, kde jsou tyto píky poměrně intenzivní. Píky s retenčními časy 6,153 min, 6,526 min, 6,703 min a 7,343 min jsou podobně intenzivní v obou metodách, zatímco píky 3,003 min, 3,186 min, 3,286 min, 3,406 min, 3,613 min a 3,983 min jsou velmi výrazné u provedení v homogenní fázi oproti

degradaci na TiO₂; další produkty s retenčními časy v rozmezí 2,173 – 4,306 min jsou při degradaci na TiO₂ zastoupeny v téměř nedetekovatelných množstvích.

Protože zjevně nevznikají ozařováním v obou případech odlišné produkty, byla změřena hmotnostní spektra pouze pro reakční směs verapamilu v homogenní fázi.

Výsledky hmotnostní detekce verapamilu po 20 minutách ozařování v homogenní reakci jsou shrnuty v Tab. V.

Tab. V: Hodnoty m/z vybraných retenčních časů pro ver : Fe = 1:0,7.

Retenční čas [min]	m/z
3,003	309,3; 277,2; 393,3
3,613	291; 402; 471
4,450	427,4
6,153	441,4
6,526	441,4
6,703	441,3
7,343	433,5
8,836	440,6

Tab. V uvádí výrazné hodnoty m/z pro vybrané intenzivní či dobře oddělené píky z fluorescenční detekce.

Hodnoty m/z 277, 427, 441 a 471 odpovídají hodnotám m/z sloučenin detekovaných Krishnou^[52].

Pro zjištění, zda při reakcích v homogenní a v heterogenní fázi dochází k případné mineralizaci (tj. oxidaci uhlíku až na CO₂), byl v reakční směsi z obou typů ozařování stanoven přítomný organický uhlík (TOC = total organic carbon). Pro stanovení byly vybrány reakční směsi se stejným rozsahem degradace verapamilu, tj. verapamil s přidávanými železitými ionty v koncentraci 8,9 mg/l ozářený 20 minut a verapamil v přítomnosti TiO₂ ozářený 120 minut. Výsledky TOC analýzy jsou shrnuty v Tab. VI.

Tab. VI: Výsledky TOC analýzy: verapamil + Fe (8,9 mg/l) – ozářený 20 minut, verapamil + TiO₂ – ozářený 120 minut.

Vzorek	Koncentrace [% počáteční koncentrace]	Obsah TOC [% počátečního množství]
Neozářený	100	100
Ozářený s Fe (doba ozařování 20 minut)	13	96
Ozářený s TiO ₂ (doba ozařování 120)	12	82

Z tabulky je patrné, že zatímco v uvedených ozařovacích časech poklesla hodnota koncentrace na prakticky tutéž hodnotu (13 % původního množství verapamilu v homogenní reakční směsi a 12 % ve směsi s TiO₂), snížila se hodnota obsahu organického uhlíku jen o 4 % v případě ozařování v homogenní fázi s přidanými Fe (III) ionty, zatímco při ozařování na TiO₂ poklesl obsah organického uhlíku o 18 %.

4 Diskuze

Verapamil absorbuje záření vlnových délek kratších než 295 nm (Obr. 4), tedy nemůže absorbovat sluneční záření dopadající na zemský povrch a podléhat tak přímé fotochemické přeměně. Zajímavé výsledky z tohoto hlediska uvádí Golovko^[54], kde sice v souladu s očekáváním byl verapamil stabilní při umělém ozáření v rozsahu vlnových délek 300 – 400 nm, ale při vystavení slunečnímu záření došlo k odbourávání s poločasem rozpadu 8,24 hod. Experiment byl prováděn ve Švédsku v červnu roku 2012. Autorka práce vysvětluje rozdíl mezi reaktivitou při umělém osvětlení a při vystavení slunečnímu světlu intenzitě světelného toku; takové vysvětlení ale není pravděpodobné, protože pokud byly všechny ostatní parametry stejné, nemohlo by dojít k reakci při vystavení slunečnímu světlu, neboť tam se vlnové délky pod 300 (resp. 295 nm) nevyskytují. Jediným možným vysvětlením je, že v době, kdy byl experiment prováděn, došlo k situaci, při níž zeslabená vrstva ozónu ve stratosféře umožnila pronikání záření kratších vlnových délek na zemský povrch.

Je-li v reakční směsi verapamilu přítomno železo ve formě železitých iontů, tvoří tyto ionty s verapamilem komplex, jehož absorpce je výrazně posunuta do oblasti delších vlnových délek a tento posun je tím výraznější, čím více železitých iontů je do systému přidáno (Obr. 5).

V přírodních vodách, kde jsou železité ionty přítomné^[56,57], může tedy přímá fotochemická přeměna následkem absorpce komplexem verapamil-Fe představovat jeden z možných mechanismů přeměny verapamilu.

Jak ukazuje Obr. 6, fotochemická degradace verapamilu silně závisí na koncentraci přidávaných železitých iontů, nicméně k degradaci ale dochází i v systému, kam železo nebylo přidáno. V tomto případě ovšem reakce nezačíná probíhat ihned po zahájení ozařování, ale se zpožděním cca 20 minut; jakmile ale reakce začne probíhat, dochází k významnému (v daném časovém rozsahu lineárnímu) poklesu koncentrace verapamilu. Časovou prodlevu na začátku reakce je možné vysvětlit hypotézou o pomalé tvorbě meziprojektu či produktu s fotosensitizačními vlastnostmi, kdy až nahromadění určité koncentrace tohoto produktu umožní pozorovatelný pokles koncentrace verapamilu.

K vysvětlení „zpožděné“ reaktivity verapamilu by bylo možné vyslovit analogickou hypotézu o pomalé tvorbě fotokatalyticky aktivní formy katalyzátoru, v našem případě redukované formy železa. Obr. 7 ale dokládá, že k fotochemické redukci železitých iontů

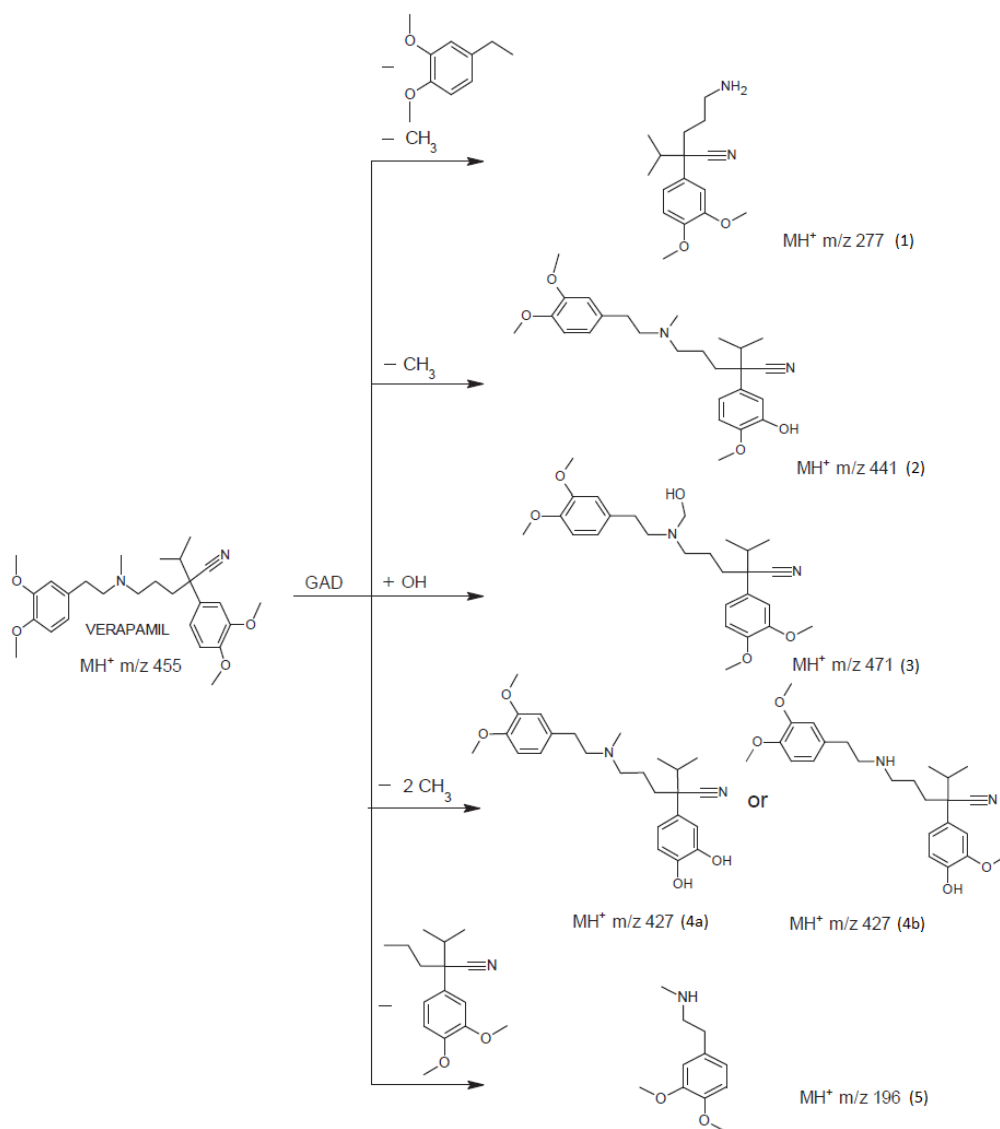
dochází rychle, 55 % Fe je přítomno v redukované formě již po dvou minutách ozařování, v ustáleném stavu je v redukované formě přítomno cca 60 % přidaného Fe (III).

Vzhledem k těmto hodnotám lze katalýzu fotochemicky vznikající redukovanou formou Fe předpokládat u reakčních směsí verapamilu s přidavkem železitých iontů, protože katalyzátor je v dostatečném množství tvořen velmi rychle. Výsledek je v souladu s pracemi, které se zabývaly fotochemickou oxidací organických substrátů^[58] včetně polutantů^[59.60]

Počáteční reakční rychlosti silně závisí na koncentraci přidaného Fe, pro koncentraci 8,9 mg/l je v počátečním stádiu reakce rychlostní konstanta reakce $0,632 \text{ min}^{-1}$, pro koncentraci prakticky poloviční, 4,5 mg/l, klesne 5,5krát, na $0,116 \text{ min}^{-1}$. Velmi podobnou rychlostní konstantu degradace verapamilu uvádí Bing Zhu^[50], hodnota rychlostní konstanty však byla získána za jiných podmínek; verapamil o koncentraci 1,0 mg/l byl ozařován nízkotlakou rtuťovou lampou po dobu 60 minut.

Degradace v přítomnosti TiO_2 probíhala ve zvoleném uspořádání výrazně pomaleji než degradace v homogenní fázi. Úbytek substrátu sleduje exponenciální křivku, jde tedy o reakci 1. řádu (resp. pseudoprvního řádu, protože lze předpokládat, že $\bullet\text{OH}$ radikály jsou tvořeny v přebytku a rychlost reakce závisí jen na okamžité koncentraci degradovaného substrátu^[61]). Stanovená rychlostní konstanta pro fotokatalytickou heterogenní degradaci na TiO_2 je $0,018 \text{ min}^{-1}$. Rychlostní konstanta podobné hodnoty byla získána v experimentech s plasmovým výbojem^[52].

Jak ukazuje chromatogram na Obr. 9, v obou uspořádáních, tedy v homogenní fázi s přidavkem Fe (III) i v heterogenní fázi v přítomnosti TiO_2 , se tvoří řada produktů, většina z nich je totožná v obou uspořádáních. Vzhledem k tomu, že Krishna^[52] a kol. udávají podrobné schéma možné degradace verapamilu v plasmovém výboji podložené měřeními MS spekter (Obr. 10), byl učiněn pokus zjistit, zda některé z jimi prokázaných produktů se vyskytují i v reakční směsi verapamilu s přidaným Fe (verapamil s TiO_2 testován nebyl, retenční časy produktů byly stejné jako v systému s Fe (III), jen s tím rozdílem, že celkové signály byly nižší a dva ze signálů ve směsi s TiO_2 chyběly oproti směsi s přidaným Fe).



Obr. 10: Degradační cesty verapamilu v plasmovém výboji s udanými m/z hodnotami jednotlivých produktů^[52].

S prací Krishny a kol.^[52] se shodují hodnoty m/z 277, 427, 441 a 471.

Produkt (1) s $m/z = 277$ odpovídá produktu vzniklému rozštěpením molekuly u aminového dusíku tak, že aminová skupina zůstává na delším alkylovém řetězci.

Produkt (2) s $m/z = 441$ vzniká odštěpením jedné metylové skupiny, na benzenovém jádře blíže nitrilové skupiny.

Produkt (3) s $m/z = 471$ je tvořen nahrazením metylové skupiny na dusíku terciárního aminu hydroxyskupinou.

Produkt (4) s $m/z = 427$ odpovídá dvojnásobné demetylaci molekuly a vzniku dihydroxyderivátu na benzenovém jádře umístěném blíže nitrilové skupiny či vzniku

monohydroxyderivátu na tomtéž jádře a sekundárního aminu z původního terciárního – jsou možné dva isomery (4a, 4b), jak ukazuje schéma na Obr. 10.

Dle prací Trautweina a Krishny^[7,53] odpovídá nalezená hodnota $m/z = 291$ lidskému metabolitu, kterým je sekundární amin D 617.

Hmotnostní detekce ukázala, že jedna hodnota m/z se vyskytuje u různých retenčních časů ($m/z = 441$). Je možné usuzovat, že 3 produkty s různými retenčními časy, ale stejnou hodnotou m/z jsou izomery^[20].

Potvrzení, zda dochází k mineralizaci, bylo provedeno pomocí metody stanovení celkového organického uhlíku v reakčních směsích. Jak ukazuje Tab. VI, v obou reakčních směsích byla konverze verapamilu prakticky stejná, ale rozsah mineralizace se výrazně liší: ve směsi verapamilu s přidaným Fe (III) došlo jen k nevýrazné mineralizaci, 96 % organického uhlíku zůstalo přítomno ve formě organických sloučenin; v reakční směsi verapamilu s TiO_2 došlo při stejné konverzi substrátu k mineralizaci 18 % organického uhlíku. Krishna a kol.^[53] uvádějí ve své práci 98% mineralizaci reakční směsi po degradaci verapamilu plasmovým výbojem, jejich výsledky se výrazně odlišují od výsledků této práce.

5 Závěr

Degradace verapamilu v homogenní fázi silně závisí na množství přidaných železitých iontů, čím vyšší je koncentrace přidaného Fe (III), tím je degradace rychlejší. Proces homogenní fotokatalytické reakce v přítomnosti železitých iontů může být způsob, jak je verapamil odbouráván v přírodních vodách.

Degradace verapamilu na imobilizovaném TiO₂ byla popsána kinetikou 1. řádu s hodnotou rychlostní konstanty $k = 0,018 \text{ min}^{-1}$.

Hodnoty rychlostních konstant v homogenní fázi byly stanoveny pro počáteční stádium reakce, činí $0,116 \text{ min}^{-1}$ pro reakční směs s koncentrací přidaného Fe (III) 4,5 mg/l a $0,632 \text{ min}^{-1}$ pro koncentraci přidaného Fe (III) 8,9 mg/l. Pro reakce při nižších koncentracích Fe (III) nebyly rychlostní konstanty stanoveny z důvodu přítomnosti počáteční prodlevy.

Odbouráváním verapamilu v obou uspořádáních vznikají podobné produkty, ale při reakci v heterogenní fázi jsou detekovány v menším množství.

Analýza mineralizovaného podílu ukázala, že k vyšší mineralizaci organického uhlíku na CO₂ dochází při reakci na TiO₂.

6 Seznam použité literatury

1. Kümmerer K.: Pharmaceuticals in the Environment: sources, fate, effects and risks, Berlin: Springer, ISBN: 978-3-540-74663-8, 2008.
2. Lindberg R. H., Wennberg P., Johansson M. I., Tysklind M., Andersson B. A. V.: Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environmental Science and Technology* **39**, 3421–3429, 2005. Staženo dne 2017-03-27 z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es048143z>.
3. Klavarioti, M., D. Mantzavinos, D. Kassinos. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International* **35**(2), 402–417, 2009. Staženo dne 2017-03-24 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412008001268>.
4. Wikipedia: strukturní vzorec verapamilu [online]. Staženo dne 2017-03-31 z: https://en.wikipedia.org/wiki/Verapamil#/media/File:Verapamil_structure.svg.
5. Singh B. N., Ellrodt G., Peter C.T.: Verapamil: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use. *Drugs* **15**(3), 169–197, 1978. Staženo dne 2017-03-06 z: <https://link.springer.com/article/10.2165%2F00003495-197815030-00001>.
6. Verapamil AL 240 retard: příbalový leták, výrobce: Stada Arzneimittel AG, Německo. Staženo dne 2017-01-10 z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=PI90509.pdf&type=pil&as=verapamil-al-240-retard-pil>.
7. Trautwein C., Kümmerer K, Metzger J. W.: Aerobic biodegradability of the calcium channel antagonist verapamil and identification of a microbial dead-end transformation product studied by LC – MS/MS. *Chemosphere* **72** (3), 442–540, 2008. Staženo dne 2017-02-14 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653508002014>.
8. International Drug Names: Verapamil. *Drugs* [online]. Staženo dne 2017-02-10 z: <https://www.drugs.com/international/verapamil.html>.

9. Fuhr U., Müller-Peltzer H., Kern R., Lopez-Rojas P., Jünemann M., Harder S., Staib H. A.: Effects of grapefruit juice and smoking on verapamil concentrations in steady state. *European Journal of Clinical Pharmacology* **58**(1), 45–53, 2002. Staženo dne 2017-03-27 z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00228-002-0436-7>.
10. Kroemer H. K., Gautier J. Ch., Beaune P., Henderson C., Wolf C. R., Eichelbaum M.: Identification of P450 enzymes involved in metabolism of verapamil in humans. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **348**(3), 1993. Staženo dne 2017-03-27 z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fbfb00169164>.
11. Eichelbaum M., Ende M., Remberg G., Schomerus M., Dengler H. J.: The metabolism of DL-[¹⁴C]verapamil in man. *Drug Metabolism and Disposition* **7**, 145–148, 1978.
12. Reder-Hilz B., Ullrich M., Ringel M., Hewitt N., Utesch D., Oesch F., Hengstler J. G.: Metabolism of propafenone and verapamil by cryopreserved human, rat, mouse and dog hepatocytes: comparison with metabolism in vivo. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **369**(4), 408–417, 2004. Staženo dne 2017-04-06 z: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00210-004-0875-z>.
13. Singhal P., Yadav M., Winter S., Guttikar S., Patel D., Mills M., Shrivastav P. S.: Enantiomeric Separation of Verapamil and its Active Metabolite, Norverapamil, and Simultaneous Quantification in Human Plasma by LC–ESI-MS-MS. *Journal of Chromatographic Science* **50**, 839–848, 2012. Staženo dne 2017-04-06 z: <https://academic.oup.com/chromsci/article-lookup/doi/10.1093/chromsci/bms080>.
14. Anderson J. L., et al.: ACCF/AHA Focused Update Incorporated Into the ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* **123**(18), 426–579, 2011. Staženo dne 2017-03-26 z: <http://circ.ahajournals.org/content/123/18/e426>
15. Elliott W. J., Ram C. Venkata S.: Calcium Channel Blockers. *The Journal of Clinical Hypertension* **13**(9), 687-689, 2011. Staženo dne 2017-04-06 z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-7176.2011.00513.x>.

16. Mégarbane B., Karyo S., Abidi K., Delhotal-Landes B., Aout M., Sauder P., Baud F. J.: Predictors of Mortality in Verapamil Overdose: Usefulness of Serum Verapamil Concentrations. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **108**(6), 385–389, 2011. Staženo dne 2017-03-17 z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1742-7843.2010.00666.x>.
17. Shukla U. A., Stetson P. L., Ensminger W. D.: Rapid gas—liquid chromatographic method for plasma verapamil level determination. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **342**, 406–410, 1985. Staženo dne 2017-03-21 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378434700845351>.
18. Wilimowska J., Piekoszewski W., Florek E.: Methodology of stereoselective determination of verapamil in serum. *Problems of Forensic Sciences* LXI, 64–71, 2005.
19. Piekoszewski W., Wilimowska J., Krzyzanowska-Kierepka E., Florek E.: Determination of enantiomers of verapamil in a case of acute poisoning. *Problems of Forensic Sciences* LVIII, 112–120, 2004.
20. Lu Sun, Hai-Hua Huang, Lei Liu, Da-Fang Zhong: Transformation of Verapamil by *Cunninghamella blakesleeana*. *Applied and Environmental Microbiology* **70**(5), 2722–2727, 2004. Staženo dne 2017-03-16 z: <http://aem.asm.org/content/70/5/2722>.
21. Hummel D., Löffler D., Fink G., Ternes T. A.: Simultaneous Determination of Psychoactive Drugs and Their Metabolites in Aqueous Matrices by Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology* **40**(23), 7321–7328, 2006. Staženo dne 2017-02-17 z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es061740w>.
22. Schwabe U., Paffrath D.: *Arzneimittelerordnungsreport 2005*, Springer Medizin Verlag: Heidelberg, 2005. [Převzato z: Hummel D. a kol., 2006].
23. Schwabe U., Paffrath D.: *Arzneimittelerordnungsreport 2006*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, ISBN 3-540-34369-5, 2006. [Převzato z: Trautwein C. a kol., 2008].
24. Scharf S., Gans O., Sattelberger R.: *Arzneimittelwirkstoffe im Zu- und Ablauf von Kläranlagen*. Wien: Umweltbundesamt, ISBN 3854576242, 2002.

25. Batt A. L., Kostich M. S., Lazorchak J. M.: Analysis of Ecologically Relevant Pharmaceuticals in Wastewater and Surface Water Using Selective Solid-Phase Extraction and UPLC–MS/MS. *Analytical Chemistry* **80**(13), 5021–5030, 2008. Staženo dne 2017-04-01 z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac800066n>.
26. Grabicová K., Grabic R., Bláha M., Kumar V., Cerveny D., Feredova G., Randak T.: Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant. *Water Research* **72**, 145–153, 2015. Staženo dne 2017-04-01 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135414006472>.
27. Santos L., Gros M., Rodriguez-Mozaz S., Delerue-Matos C., Pena A., Barceló D., Montenegro M.: Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of The Total Environment* **461-462**, 302–316, 2013. Staženo dne 2017-03-16 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713005111>.
28. Le-Minh N., Khan S. J., Drewes J. E., Stuetz R. M.: Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Research* **44**(15), 4295–4323, 2010. Staženo dne 2017-04-01 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135410003970>.
29. Golovko O., Kumar V., Feredova G., Randak T., Grabic R.: Removal and seasonal variability of selected analgesics/anti-inflammatory, anti-hypertensive/cardiovascular pharmaceuticals and UV filters in wastewater treatment plant. *Environmental Science and Pollution Research* **21**(12), 7578–7585, 2014. Staženo dne 2017-03-10 z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-014-2654-9>.
30. Khan S. J., Ongerth J. E.: Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere* **54**(3), 355–367, 2004. Staženo dne 2017-03-31 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565350300777X>.
31. Villegas-Navarro A., Rosas-L E., Reyes J. L.: The heart of *Daphnia magna*: Effects of four cardioactive drugs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **136**(2), 127–134, 2003. Staženo dne 2017-02-21 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045603001728>.

32. Li Z. H., Li P., Randak T.: Ecotoxicological effects of short-term exposure to a human pharmaceutical Verapamil in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **152**(3), 385–391, 2010. Staženo dne 2017-02-02 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045610001183>.
33. Steinbach C., Feredova G., Prokes M., Grabicova K., Machova J., Grabic R., Valentova O., Kocour Kroupova H.: Toxic effects, bioconcentration and depuration of verapamil in the early life stages of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Science of The Total Environment* **461-462**, 198–206, 2013. Staženo dne 2017-02-01 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713005457>.
34. Godoy A. A., Kummrow F., Pamplin P. A. Z.: Occurrence, ecotoxicological effects and risk assessment of antihypertensive pharmaceutical residues in the aquatic environment – A review. *Chemosphere* **138**, 281–291, 2015. Staženo dne 2017-02-19 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653515006438>.
35. Minguéz L., Pedelucq J., Farcy E., Ballandonne C., Budzinski H., Halm-Lemeille M. P.: Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. *Environmental Science and Pollution Research* **23**(6), 4992–5001, 2016. Staženo dne 2017-02-10 z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-014-3662-5>.
36. Nalecz-Jawecki G., Sawicki J.: Influence of water hardness on the toxicity of selected pharmaceuticals and metals to the protozoa *Spirostomum ambiguum* and *Tetrahymena thermophila*. *Fresenius Environmental Bulletin* **14**(10), 873–877, 2005. [Převzato z: Godoy, A. A. a kol., 2015].
37. Le T. H., Lim E. S., Lee S. K., Park J. S., Kim Y. H., Min J.: Toxicity evaluation of verapamil and tramadol based on toxicity assay and expression patterns of Dhb, Vtg, Arnt, CYP4, and CYP314 in *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology* **26**(5), 515–523, 2011. Staženo dne 2017-03-01 z: <http://doi.wiley.com/10.1002/tox.20665>.
38. Olushola S. Ayanda, Oghenechuko U. Oputu, Olalekan O. Fatoki, Cecilia O. Akintayo, Emmanuel G. Olumayede, Olusola Solomon Amodu: Water Treatment Technologies: Principles, Applications, Successes and Limitations of Bioremediation, Membrane Bioreactor and the Advanced Oxidation Processes. OMICS Group, USA, ISBN: 978-1-63278-058-4, 1–30, 2015.

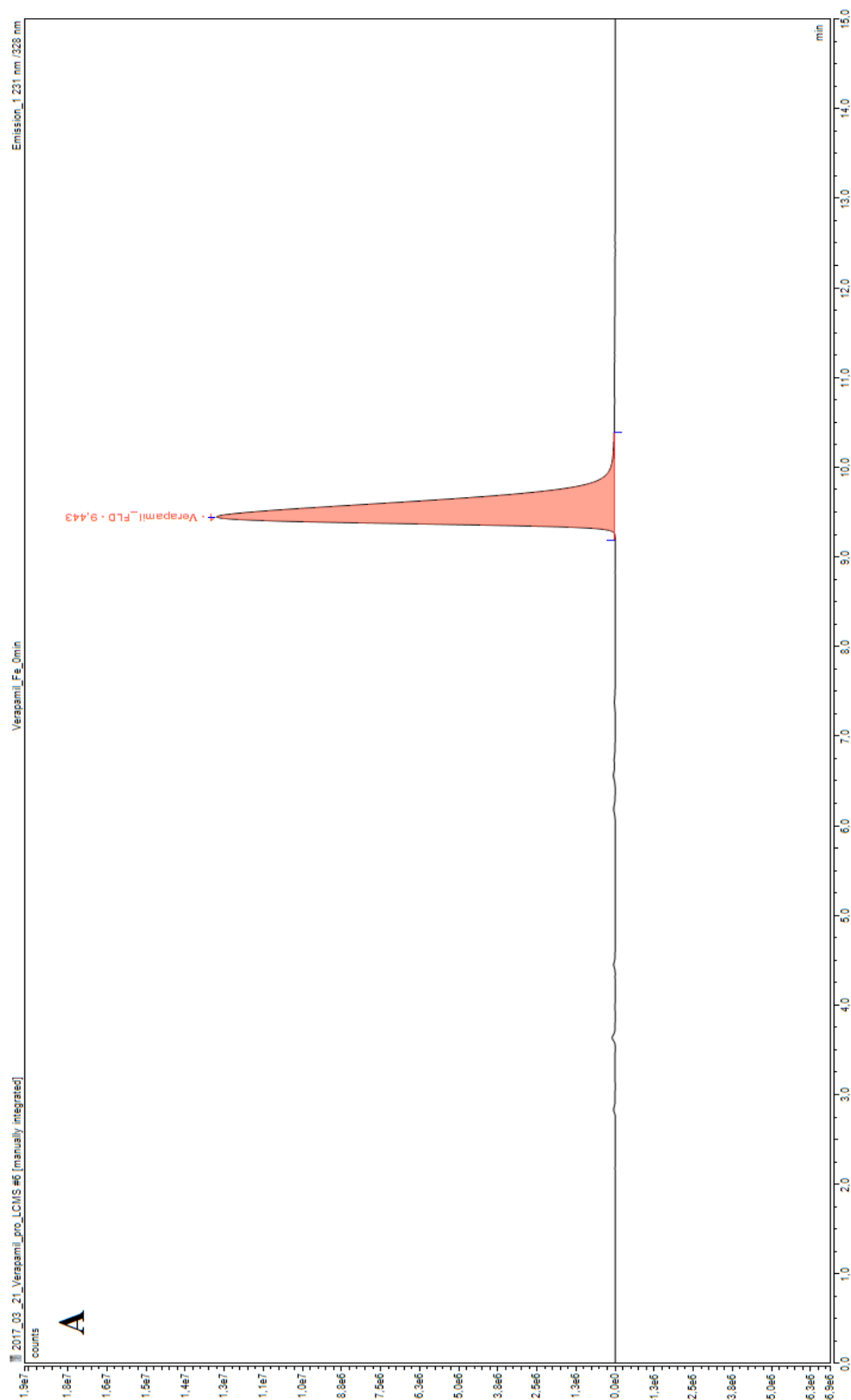
39. Esplugas S., Bila D. M., Krause L. G. T., Dezotti M.: Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials* **149**(3), 631–642, 2007. Staženo dne 2016-12-01 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389407011028>.
40. Garoma T., Gurol M. D.: Degradation of *tert*-butyl alcohol in dilute aqueous solution by an O₃/UV process. *Environmental Science and Technology* **38**(19), 5246–5252, 2004.
41. Catalkaya E.C., Kargi F.: Color, TOC and AOX removals from pulp mill effluent by advanced oxidation processes: A comparative study. *Journal of Hazardous Materials*, **139**, 244–253, 2007.
42. Valentine R. L., Wang H. C. A.: Iron Oxide Surface Catalyzed Oxidation of Quinoline by Hydrogen Peroxide. *Journal of Environmental Engineering* **124**(1), 31–38, 1998. Staženo dne 2017-02-21 z: <http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%290733-9372%281998%29124%3A1%2831%29>.
43. Gurol M. D., Shu-Sung Lin: Hydrogen Peroxide/Iron Oxide -Induced Catalytic Oxidation of Organic Compounds. *Journal of Advanced Oxidation Technologies* **5**(2), 147–154, 2002. Staženo dne 2017-02-21 z: <http://www.degruyter.com/view/j/jaots.2002.5.issue-2/jaots-2002-0204/jaots-2002-0204.xml>.
44. Wang Jian Long, Le Jin Xu: Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: Formation of Hydroxyl Radical and Application. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **42**(3), 251–325, 2012. Staženo dne 2016-04-06 z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2010.507698>.
45. Canle L. M., Fernandez M. I., Santaballa J. A.: Developments in the mechanism of photodegradation of triazine-based pesticides. *Journal of Physical Organic Chemistry* **18**, 148–155, 2005. Staženo dne 2017-01-10 z: <http://doi.wiley.com/10.1002/poc.874>.
46. Ohno T., Sarukawa K., Tokieda K., Matsumura M.: Morphology of a TiO₂ Photocatalyst (Degussa, P-25) Consisting of Anatase and Rutile Crystalline

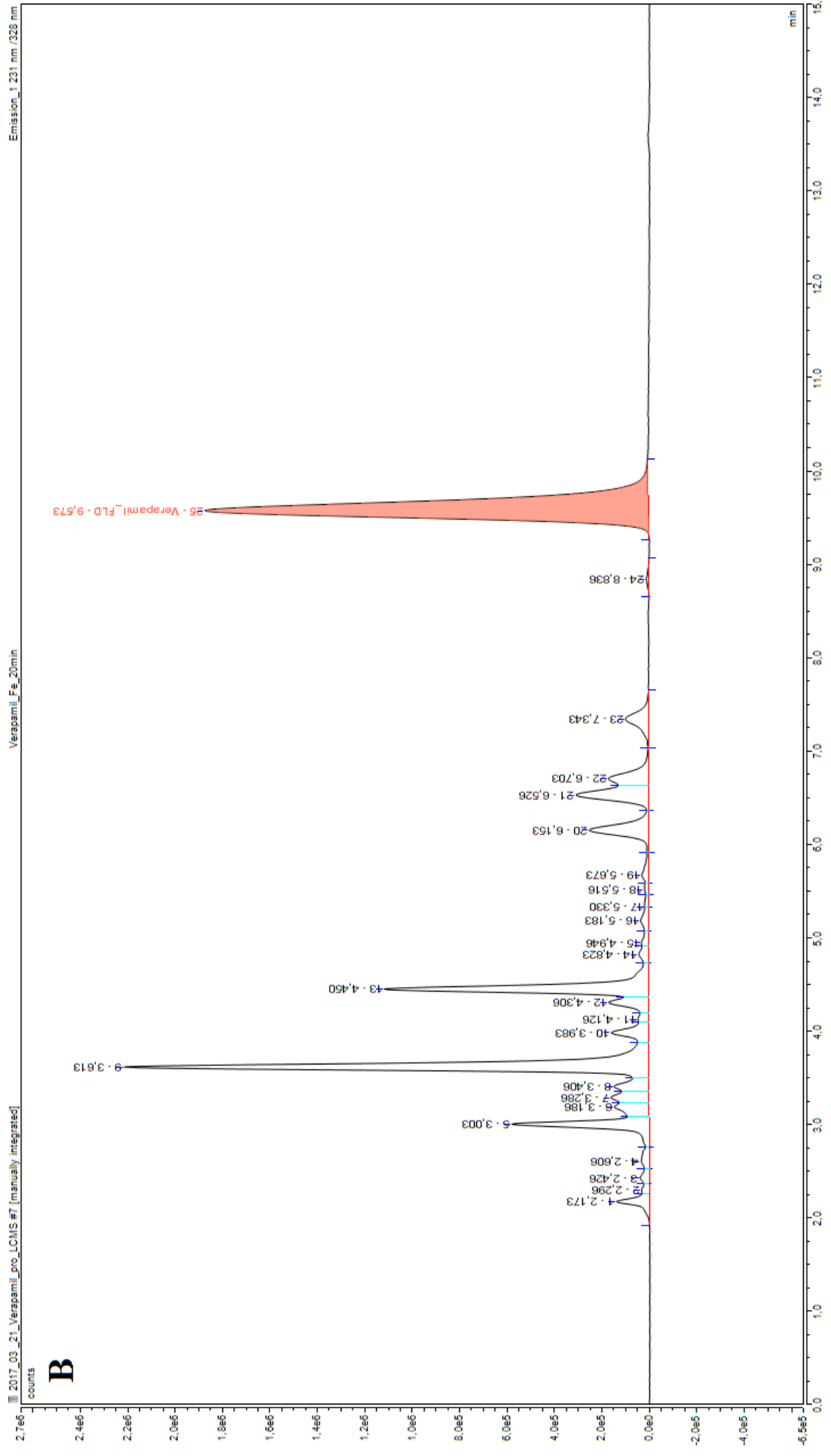
- Phases. *Journal of Catalysis* **203**(1), 82–86, 2001. Staženo dne 2016-10-09 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021951701933160>.
47. Gaya U. I., Abdullah A. H.: Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **9**, 1–12, 2008. Staženo dne 2016-11-08 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1389556708000300>.
48. Konstantinou I. K., Albanis T. A.: Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: intermediates and degradation pathways. *Applied Catalysis B: Environmental* **42**, 319-335, 2003.
49. Glaze W. H., Kang J. W., Chapin D. H.: The chemistry of water treatment involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation. *Ozone Science and Engineering* **9**, 335–342, 1987.
50. Bing Zhu, Bozo Zonja, Gonzalez O., Sans C., Pérez S., Barceló D., Esplugas S., Ke Xu, Zhimin Qiang: Degradation kinetics and pathways of three calcium channel blockers under UV irradiation. *Water Research* **86**, 9–16, 2015. Staženo dne 2017-01-25 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135415300129>.
51. Horáková M., Klementová Š., Kříž P., Syam Krishna Balakrishna, Špatenka P., Golovko O., Hájková P., Exnar P.: The synergistic effect of advanced oxidation processes to eliminate resistant chemical compounds. *Surface and Coatings Technology* **241**, 154–158, 2014. Staženo dne 2017-02-06 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0257897213010025>.
52. Krishna S., Maslani A., Izdebski T., Horakova M., Klementova S., Špatenka P.: Degradation of Verapamil hydrochloride in water by gliding arc discharge. *Chemosphere* **152**, 47–54, 2016. Staženo dne 2017-01-10 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653516302442>.
53. Krishna S., Ceriani E., Marotta E., Giardina A., Špatenka P., Paradisi C.: Products and mechanism of verapamil removal in water by air non-thermal plasma treatment. *Chemical Engineering Journal* **292**, 3541, 2016. Staženo dne 2017-01-10 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716300766>.

54. Golovko O.: Pharmaceuticals and other human used chemicals in water environment – stability and fate, *Ph.D. thesis*. Vodňany: Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of South Bohemia in České Budějovice, 2014. ISBN 978-80-7514-003-6.
55. Lunn G., Rhodes S. W., Sansone E. B., Schmuff N. R.: Photolytic Destruction and Polymeric Resin Decontamination of Aqueous Solutions of Pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **83**(9), 1289–1293, 1994. Staženo dne 2017-02-10 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354915495759>.
56. Dojlido J. R., Best G. A.: Chemistry of Water and Water Pollution, Ellis Horwood Limited, Chichester, UK, 1993.
57. Brezonik P. L., Arnold W. A.: Water Chemistry: An Introduction to the Chemistry of Natural and Engineered Aquatic Systems. Oxford University Press, Inc., Oxford, UK, 2011.
58. Klementová Š., Wagnerová D. M.: Photocatalytic Effect of Fe(III) on Oxidation of Two-Carbon Organic Substances Related to Natural Waters, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **59**(6), 1066–1076, 1994.
59. Klementová Š., Hamsová K.: Catalysis and Sensitization in Photochemical Degradation of Triazines. *Research Journal of Chemical & Environmental Sciences* **4**(2), 7–12, 2000.
60. Klementová Š., Zemanová M.: UV Photochemical Degradation of a Phenyl-Urea Herbicide Chlorotoluron. *Research Journal of Chemical & Environmental Sciences* **12** (4), 5–11, 2008.
61. Yang Q., Liao Y., Mao L.: Kinetics of Photocatalytic Degradation of Gaseous Organic Compounds on Modified TiO₂/AC Composite Photocatalyst. *Chinese Journal of Chemical Engineering* **20**(3), 572–576, 2012.

7 Přílohy

Příloha 1: Chromatogramy vzorků po degradaci: A – verapamil bez Fe neožářený; B – reakce v homogenní fázi s Fe (III) po 20 minutách ozáření (ver : Fe = 1:0,7); C – reakce na TiO₂ po 90 minutách ozáření.





B

