

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Odstraňování reziduí léčiv z vodných roztoků pomocí nanofiltrace

Bc. Markéta Kašparová

Diplomová práce

2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Markéta Kašparová**
Osobní číslo: **C15599**
Studijní program: **N2807 Chemické a procesní inženýrství**
Studijní obor: **Ochrana životního prostředí**
Název tématu: **Odstraňování reziduí léčiv z vodných roztoků pomocí nanofiltrace**
Zadávací katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši na oblast tlakových membránových procesů a na jejich základní principy. Získané poznatky vyhodnoťte s ohledem na účinnost odstranění vybraných typů léčiv pomocí nanofiltrace v různých technologiích a při zpracování odpadních vod především z hlediska vlivu provozních podmínek separace.
2. Vyberte vhodné modelové systémy, stanovte jejich charakteristiky a experimentálně studujte vliv významných parametrů procesu, jako např. počáteční koncentrace léčiva v nástříku, tlakového rozdílu nad a pod membránou, na základní výkonové parametry nanofiltrace (intenzita toku permeátu, rejekce).
3. Výsledky experimentů vhodným způsobem zpracujte a proveďte jejich diskusi především z hlediska účinnosti odstranění reziduí léčiv při různých provozních podmínkách separace.
4. Diplomovou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu" v platném znění.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Konzultant diplomové práce:

Ing. Jiří Cuhorka


Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

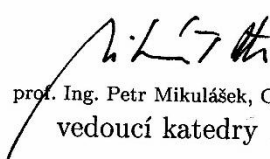
1. února 2017

Termín odevzdání diplomové práce:

12. května 2017


prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.


prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 1. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše. Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 11. 5. 2017

Bc. Markéta Kašparová

Děkuji prof. Ing. Petru Mikuláškoví, CSc. za vedení diplomové práce a pomoc při jejím dokončování; dále chci vyjádřit velké poděkování Ing. Jiřímu Cuhorkovi za odborné rady při řešení experimentální části v oblasti nanofiltrace a pomoc při zpracování experimentální části. Také děkuji Ing. Jaroslavě Kořínkové, Dr., Ing. Oldřichu Machalickému, Dr. a prof. Ing. Jaromíře Chýlkové, CSc. za zprostředkování a umožnění experimentů na HPLC a TOC analyzátoru a Ing. Jiřímu Palarčíkovi, Ph.D. za zapůjčení zařízení pro SPE. Děkuji také mé rodině a všem přátelům za všeobecnou podporu.

ANOTACE

Nanofiltrace ibuprofenu a diklofenaku, tedy léčiv, která jsou společností hojně užívána pro úlevu od bolesti, byla provedena na nanofiltračních membránách AFC 80 a AFC 40. Pro experimenty byl připraven modelový nástřik každého léčiva. Rejekce léčiv byla zkoumána při různých provozních podmínkách (tlakový rozdíl, pH, iontová síla a rychlost proudění nástřiku). Rostoucí tlakový rozdíl působil na rejekci léčiv na obou membránách pozitivně. Pokles pH nástřiku rejekci ibuprofenu u membrány AFC 80 snížilo zanedbatelně. Podobně působila i snižující se rychlost proudění nástřiku u membrány AFC 40, kde byl pozorován vliv o něco výraznější. Rostoucí iontová síla vedla ke snížení rejekce diklofenaku v případě membrány AFC 40. Experimentálně zjištěné rejekce byly porovnávány s teoreticky vypočtenými hodnotami pomocí modelu Spieglera-Kedemové. Hlavním mechanismem zádrže léčiv na membráně AFC 80 byl pravděpodobně sterický efekt, zatímco u membrány AFC 40 se především uplatnil elektrický efekt.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nanofiltrace, ibuprofen, diklofenak, modelování, model DSPM, Spieglerův-Kedemové model

TITLE

Removal of Drug Residues from Aqueous Solutions by Nanofiltration

ANNOTATION

Nanofiltration of ibuprofen and diclofenac, the pharmaceuticals used in large scale by public for pain relief, was carried out by membranes AFC 40 and AFC 80. A model feed of each of the pharmaceuticals was prepared for the purpose of the experiments. Drug rejection has been investigated under different operating conditions (transmembrane pressure, pH, ionic strength, and feed rate). The increasing transmembrane pressure has had a positive effect on drug rejection on both membranes. The decrease of feed pH the ibuprofen rejection of AFC 80 membrane was negligible. The decrease of flow rate caused a similar effect on rejection of the AFC 40 membrane, where the effect was slightly more significant. The increasing ionic strength led to a decrease in diclofenac rejection in case of the AFC 40 membrane. Experimentally detected rejections have been compared with the theoretically calculated values using the Spiegler-Kedem model. The major mechanism of drug retention on the AFC 80 membrane was probably a steric hindrance, whereas the AFC 40 membrane was primarily affected by the electrostatic repulsion.

KEYWORDS

Nanofiltration, ibuprofen, diclofenac, modelling, DSPM model, Spiegler-Kedem model

OBSAH

ÚVOD	15
1 TEORETICKÁ ČÁST	16
1.1 Léčiva	16
1.2 Ibuprofen a diklofenak	19
1.2.1 Terapeutické účinky ibuprofenu a diklofenaku	19
1.2.2 Fyzikálně-chemicko-toxikologické vlastnosti ibuprofenu.....	21
1.2.3 Fyzikálně-chemicko-toxikologické vlastnosti diklofenaku	22
1.2.4 Osud léčiva v životním prostředí	23
1.2.5 Způsoby předcházení a eliminace ibuprofenu a diklofenaku v ŽP.....	28
1.3 Odpadní vody	29
1.4 Metody odstraňování léčiv z OV	31
1.5 Tlakové membránové procesy	33
1.5.1 Charakterizace membrán	35
1.5.2 Koncentrační polarizace	36
1.5.3 Transport látek membránou	37
1.5.4 Odstraňování léčiv z OV pomocí membránových procesů	43
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	52
2.1 Použité chemikálie a standardy	52
2.1.1 Chemikálie	52
2.1.2 Standardy	52
2.2 Nanofiltrační membrány	53
2.3 Experimentální zařízení a pracovní postupy	53
2.3.1 Příprava nástřiků	53
2.3.2 Nanofiltrační aparatura, podmínky měření a odběru vzorků	54
2.3.3 Izolace analytů	57
2.3.4 Identifikace a kvantifikace analytů	58

2.3.5	Chromatografické podmínky pro stanovení analytů.....	59
3	VÝSLEDKY A DISKUSE	60
3.1	Charakteristika NF membrán	60
3.2	Stanovení chromatografických podmínek a optimalizace SPE techniky.....	66
3.3	Vliv experimentálních podmínek na rejekci ibuprofenu.....	68
3.3.1	Vliv pH a objemového průtoku nástřiku na rejekci ibuprofenu	72
3.4	Vliv experimentálních podmínek na rejekci diklofenaku	74
3.4.1	Vliv iontové síly roztoku na rejekci diklofenaku.....	77
3.5	Spieglerův-Kedemové (SK) model pro ibuprofen a diklofenak	79
4	ZÁVĚR	82
5	POUŽITÁ LITERATURA	84

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obr. 1	Strukturní vzorec IBU	21
Obr. 2	Strukturní vzorec sodné soli DIC	22
Obr. 3	Množství balení dodaných léčiv do lékáren a oblíbenost léčiv s obsahem IBU a DIC v roce 2016.....	23
Obr. 4	Hlavní cesta kontaminace ŽP léčivy	24
Obr. 5	Celková účinnost odstranění ibuprofenu a diklofenaku na vybraných ČOV v ČR.....	26
Obr. 6	Schématické znázornění <i>cross-flow</i> způsobu separace	33
Obr. 7	Schéma nanofiltrační aparatury FT18, Armfield, GB	55
Obr. 8	Závislost intenzity toku čisté vody na Δp pro membránu AFC 40 (a) a pro membránu AFC 80 (b).....	60
Obr. 9	Porovnání intenzity toku čisté vody a nenabitých látek v případě membrány AFC 40.. ..	61
Obr. 10	Porovnání skutečné (R_{Mi}) a pozorované (R_0) rejekce GLU, TG a GOL v případě membrány AFC 40.....	62
Obr. 11	Porovnání experimentálně získaných hodnot skutečných rejekcí nenabitých látek s modelovými hodnotami pro obě geometrie pórů	64
Obr. 12	Určení absorpčního maxima DIC	66
Obr. 13	Kalibrační přímky IBU (\circ) a DIC (Δ) pro kalibrační řadu 1 (a) a kalibrační řadu 2 (b)	67
Obr. 14	Porovnání hodnot J_w (— —) a hodnot J IBU (\circ) pro membránu AFC 40 (a) a pro membránu AFC 80 (b).....	68
Obr. 15	Kalibrační přímky IBU bez zkoncentrování na SPE (a), se zkoncentrováním na SPE (b).....	70
Obr. 16	Porovnání skutečné (\bullet) a pozorované (\circ) rejekce IBU pro membránu AFC 40	72
Obr. 17	Vliv pH a objemového průtoku na pozorovanou (\circ) a skutečnou (\bullet) rejekci IBU.....	73
Obr. 18	Porovnání hodnot J_w (— —) a hodnot J DIC (Δ) pro membránu AFC 40 (a) a membránu AFC 80 (b).....	74
Obr. 19	Kalibrační přímky DIC bez zkoncentrování na SPE (a) a se zkoncentrováním na SPE (b).....	75
Obr. 20	Porovnání skutečné (\blacktriangle) a pozorované (Δ) rejekce DIC při použití membrány AFC 40	77

Obr. 21 Porovnání vlivu iontové síly roztoku na pozorovanou rejekci DIC v závislosti na tlakovém rozdílu	78
Obr. 22 Porovnání vlivu iontové síly roztoku na pozorovanou rejekci DIC v závislosti na intenzitě toku permeátu.....	79
Obr. 23 Porovnání experimentálních hodnot skutečných rejekcí léčiv při pH 6,5 a teplotě 25 °C s modelem (—) pro membránu AFC 40.....	80
Tabulka 1 První úroveň ATC systému klasifikace léčiv	18
Tabulka 2 Typy ČOV, na kterých byly provedeny rozborů OV	25
Tabulka 3 Parametry tlakových membránových procesů	34
Tabulka 4 Rovnice pro výpočet stérických koeficientů pro konvekci a difuzi	39
Tabulka 5 Vlastnosti vybraných typů komerčních NF membrán.....	45
Tabulka 6 Charakteristiky zkoumaných léčiv	52
Tabulka 7 Charakteristiky zvolených membrán	53
Tabulka 8 Provedené experimenty na NF membránách.....	56
Tabulka 9 Příprava kalibračních řad 1 a 2	58
Tabulka 10 Intenzita toku čisté vody a permeabilita membrán AFC 40 a AFC 80 při různých Δp	60
Tabulka 11 Charakteristiky nenabitých látek	62
Tabulka 12 Strukturní parametry membrány AFC 40	64
Tabulka 13 Koncentrace a rejekce nenabitých látek v případě membrány AFC 40.....	65
Tabulka 14 Hodnoty rejekcí získané z DSPM modelu pro nenabitě látky v případě membrány AFC 40.....	65
Tabulka 15 Základní identifikační a kvantifikační charakteristiky léčiv	67
Tabulka 16 Kalibrační přímka IBU 1 (bez zkoncentrování)	69
Tabulka 17 Kalibrační přímka IBU 2 (se zkoncentrováním na SPE)	70
Tabulka 18 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejekce IBU při použití membrány AFC 80.....	71
Tabulka 19 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejekce IBU při použití membrány AFC 40.....	71
Tabulka 20 Vliv hodnot pH a objemového průtoku nástřiku na rejekci IBU.....	73
Tabulka 21 Kalibrační přímka DIC 1 (bez zkoncentrování)	75
Tabulka 22 Kalibrační přímka DIC 2 (se zkoncentrováním na SPE)	75

Tabulka 23 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejeckce DIC při použití membrány AFC 80.....	76
Tabulka 24 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejeckce DIC při použití membrány AFC 40.....	77
Tabulka 25 Vliv koncentrace soli na rejeckci DIC při použití membrány AFC 40	78
Tabulka 26 Experimentálně stanovené a vypočtené hodnoty skutečných rejeckcí léčiv pro membránu AFC 40.....	80
Tabulka 27 Parametry modelu Spieglera-Kedemové pro obě léčiva	81

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

A_k	porozita membrány
AOPs	pokročilé oxidační procesy (Advanced Oxidation Processes)
c_{iF}	koncentrace rozpuštěné látky i v nástřiku
c_{iM}	koncentrace rozpuštěné látky i na membráně
c_{iP}	koncentrace rozpuštěné látky i v permeátu
ČOV	čistírna odpadních vod
ČR	Česká republika
D	rozdělovací koeficient 1-oktanol/voda, závislý na pH
Da	dalton – jednotka molekulové hmotnosti (1 Da = 1 gmol ⁻¹)
d_h	hydraulický průměr
$D_{i\infty}$	objemová difuze látky membránou
DIC	diklofenak
EC ₅₀	účinná koncentrace látky, která vyvolá změny v chování organismů
EU	Evropská unie
g	osmotický koeficient
G	Německo
GB	Spojené království Velké Británie
GC	plynová chromatografie
GCMS	plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostním detektorem
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IBU	ibuprofen
J	intenzita objemového toku permeátu
J_s	intenzita molárního toku rozpuštěné látky
J_w	intenzita objemového toku čisté vody
k	koeficient přestupu hmoty
K_{ic}	stérický koeficient pro konvekci i -té látky
K_{id}	stérický koeficient pro difuzi i -té látky
Komise	Evropská komise
K_{ow}	rozdělovací koeficient 1-oktanol/voda
LCMS	HPLC v kombinaci s hmotnostním detektorem
LD ₅₀	letální dávka látky, která zahubí 50 % zkoumaných organismů
LOD	mez detekce

LOEC	nejnižší koncentrace látky vyvolávající zřejmé účinky na organismu
LOQ	mez stanovitelnosti (kvantifikace) metody
MBR	membránový bioreaktor
MF	mikrofiltrace
MO	mikroorganismy
MOB	mobilní fáze pro HPLC
NEK	normy environmentální kvality
NF	nanofiltrace
NL	Nizozemí
OV	odpadní voda/y
p	tlak
P	permeabilita rozpuštěné látky
Pe	Pecletovo kritérium
pK_a	disociační konstanta kyseliny
PL	Polsko
POP	perzistentní organické polutanty
P_w	permeabilita čisté vody
R	plynová konstanta
R_0	pozorovaná rejekce
Re	Reynoldsovo kritérium
$r_{i,s}$	Stokesův poloměr látky i
R_M	odpor membrány
R_{Mi}	skutečná rejekce
RO	reverzní osmóza
r_p	poloměr pórů
Sc	Schmidtovo kritérium
Sh	Sherwoodovo kritérium
T	termodynamická teplota
TF	úprava aktivní vrstvy membrány technikou „thin film“
TMP	tlakové membránové procesy
u	rychlost proudění nástřiku
UF	ultrafiltrace
USA	Spojené státy americké
ŽP	životní prostředí

Řecké symboly:

Δx	délka póru, tloušťka aktivní vrstvy
$\Delta \pi$	osmotický tlak
η	dynamická viskozita vody
ρ	hustota
ϕ_i	sterický koeficient rozpuštěné látky
σ	reflexní koeficient
λ_i	poměr velikosti rozpuštěné látky i k poloměru velikosti pórů

ÚVOD

Mezi léčiva je možné řadit látky různých chemických struktur a fyzikálních vlastností. Tyto látky jsou navrhovány tak, aby měly vysokou biologickou aktivitu již v malých množstvích a byly rezistentní k biodegradaci. Do životního prostředí (ŽP) se primárně dostávají po použití konečnými spotřebiteli, nejčastěji prostřednictvím odpadních vod [1, 2].

Odpadní vody (OV) jsou v ČR převážně čištěny na čistírnách odpadních vod (ČOV), zahrnující standardní operace v rámci mechanického a biologického stupně čištění. Účinnost eliminace některých farmak v těchto zařízeních může při optimalizaci procesu čištění dosahovat až „100 %“. Žádný proces však není účinný pro všechna léčiva, která jsou běžně přítomná v OV. Během procesu odbourávání léčiv dochází k jejich transformaci na strukturně různé i podobné sloučeniny, které mohou mít stejnou, nižší nebo dokonce vyšší biologickou aktivitu, než původní molekula. Některá léčiva jsou díky svým vlastnostem a sklonem k bioakumulaci a perzistenci na ČOV odstraněna jen málo, nebo dokonce vůbec [3].

Pokud léčivo a jeho produkty rozkladu nejsou úplně eliminovány na ČOV, dostávají se v nižších koncentracích s „vyčištěnou“ vodou do říčního recipientu, kde primárně působí na vodní organismy a další složky ŽP. Zemědělskou výrobou a také upravováním povrchových vod na dolních tocích řek na pitnou vodu se dostávají zpět k člověku a tím se jejich koloběh uzavírá [3].

Problematikou co nejúčinnější eliminace léčiv z ŽP se v současnosti zabývá mnoho prací a je možné ji provádět mnoha technikami. Mezi nimi mají své místo membránové tlakové procesy, zvláště pak ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmóza. Nanofiltrace a reverzní osmóza se vyznačují vysokou účinností oddělení léčiv z OV (75 – 99 %). Nanofiltrace má proti reverzní osmóze přijatelnější náklady na provoz. V této práci byla nanofiltrace zvolena i z toho důvodu, že vyžaduje nižší tlakový rozdíl než reverzní osmóza, a díky tomu vykazuje i nižší spotřebu energie [4].

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Léčiva

Léčivý přípravek je podle zákona 378/2007 Sb. definován jako látka nebo kombinace látek, které mají léčebné nebo preventivní vlastnosti v případě onemocnění lidí nebo zvířat, nebo látka nebo kombinace látek, které mohou být podány lidem nebo zvířatům za účelem obnovy, úpravy či ovlivnění fyziologických funkcí prostřednictvím farmakologického nebo imunologického účinku nebo za účelem stanovení lékařské diagnózy. Podle Webstra [5] jsou léčiva látky používané k léčení nemocí nebo k úlevě od bolesti.

Od nepaměti byla léčiva získávána z přírody a i v dnešní době výroba „moderních“ léků z přírody vychází. Základy tradičního lékárenství formovaly zejména rostliny, o kterých jsou první zmínky již 2600 let př. n. l. z Mezopotámie a Číny. V Mezopotámii bylo v té době používáno přibližně tisíc látek získaných z rostlin (např. oleje) a asi 120 minerálních látek (např. vápno nebo kamenná sůl). Většinou se z nich připravovaly odvary, mastě, léčivá vína nebo klystýr. O dobré znalosti přírodních léků ve starověku svědčí i mnoho děl a teorií, např. teorie nákazy objevující se asi v 7. st. př. n. l. v Mezopotámii nebo egyptský „Eberův Papyrus“ z 15. st. př. n. l., dokumentující přes 850 léčiv (např. opium, aloe, česnek, konopí) nebo čínská díla *Chinese Materia Medica*, obsahující mnoho předpisů s prvními záznamy z 11. st. př. n. l. Také Řekové a Římané významně přispěli k používání rostlinných drog. Jedním z nich byl Hippokrates (4. st. př. n. l.), který je považován za otce západní medicíny díky spisu *Corpus Hippocratum*. Mezi významná řecká díla patří rozsáhlé dílo řeckého lékaře Dioscoridese nazvané *De Materia Medica* (z 1. st. n. l.), ve kterém byl přesně popsán sběr, skladování a používání léčivých rostlin a dílo *De Simplicibus*, napsané římským učitelem lékárenství a medicíny Galénem, ve kterém uvádí lékařské předpisy a jejich složení [6].

Ve středověku (5. – 12. století) řecko-římské znalosti přešly pod správu Arabů, kteří je rozšířili o své vlastní znalosti a čínské a indické znalosti. V 11. st. n. l. arabský lékař Avicenna shrnul dosavadní znalosti ve svém komplexním díle *Canon Medicinae*, které ovlivnilo léčitelství na dalších 600 let. Další významná díla napsal Arab Ibn al-Baitar na přelomu 12. a 13. st. Obě jeho díla byla později přeložena do západních jazyků [6].

V 15. st. byl západ ovlivněn Paracelsusem, především jeho pokusy o modernizaci předchozích starověkých a středověkých děl. S využitím alchymie se snažil o oddělení žádoucích účinků léků od nežádoucích. Mimo jiné se proslavil svojí léčbou syfilidy pomocí rtuti a vynálezem opiové tinktury. Farmacie stále zatím zůstává empirickou vědou [6, 7].

Další vývoj přípravy léků ovlivnily fyzikálně-chemické pokusy evropských lékárníků a vědců (Lavoisier, Proust, Dalton, Gay-Lussac atd., 18. – 19. st.), které vedly k získání čistých účinných látek. Byly objeveny postupy přípravy některých anorganických látek (hydroxidu sodného, peroxidu vodíku atd.). Toto byly pouze začátky chemické revoluce. Díky tvorbě Bernarda, Virchwa a Pasteura, byla chemie propojena s biologií, fyziologií a mikrobiologií. Tak byly položeny základy farmakologie. První polovina 19. st. byla typická získáváním účinných látek extrakcí a čištěním. Tak bylo např. v roce 1817 Setürnerem izolováno morfium z opia. Kromě prací zabývajících se extrakcemi a izolacemi se v této době objevila studie o tom, že látky se stejným počtem a druhem atomů mohou mít různé vlastnosti, a to kvůli různému vnitřnímu uspořádání atomů. Byly označeny jako izomery. K velkému obecnému překvapení byla v roce 1828 syntetizována první organická sloučenina (močovina) z anorganických látek¹. Ve druhé polovině 19. st. se s průmyslovým zpracováním uhlí a ropy rozvinula organická chemie a s ní organická syntéza léčiv. Léčiva se díky výnosům z prodeje stala strategickou položkou [6, 7].

Od poloviny 20. let 20. st. se autoři děl zaměřovali na různé typy nemocí a pro ně odpovídající léčiva. Do konce 21. st. tak vznikla skupina léků na tlášení bolesti, léků na srdce a krevní tlak, léků proti bakteriím a virům (éru antibiotik započal objev Penicilinu A. Flemingem), léčiv na potlačení imunitních reakcí, protirakovinných léčiv, léčiv na hormonální poruchy, léčiv na snižování cholesterolu a psychotropních léčiv [6, 7].

Dnešní směry ve vývoji léčiv vycházejí z objevení struktury DNA (1953, Crieckův-Watsonův model), jednosměrného přenosu informace z genu do bílkoviny, struktury bílkovin a následné syntézy terapeutických bílkovin. Později vznikla technika PCR, která byla použita pro diagnostiku genetických nemocí, určení bakterií a virů (např. diagnostika HIV) atd. Všechny úžasné objevy na poli genetiky vedly ke genové a buněčné terapii. Propojení tohoto a dalších oborů umožňuje poznat vývoj nemocí na biochemické úrovni, a dokonce modelovat jejich vývoj. Jedním z konečných cílů vývoje léčiv je poskytnout porozumění všem molekulárním mechanismům probíhajících v organismu [7].

Nejčastěji používaná klasifikace léčiv je pomocí mezinárodního anatomicko-terapeuticko-chemické klasifikace léčiv (ATC systém), který od roku 1982 spravuje Spolupracující centrum světové zdravotnické organizace pro statistickou metodologii léčiv. ATC systém přiděluje léčivům pětimístný kód na základě:

¹ V té době panovalo přesvědčení, že organické látky nemohou vznikat z anorganických, slovo organické označovalo látky vznikající v organismech [78].

- orgánu nebo systému, který ovlivňují,
- terapeutických a farmakologických vlastností,
- chemických vlastností [7].

První symbol kódu je písmeno a představuje orgán (anatomickou soustavu) – viz Tabulka 1. Druhý symbol je dvojčíslí a odpovídá terapeutickému účinku na konkrétní soustavu, třetí symbol je písmeno a popisuje terapeuticko-farmakologickou podskupinu léčiva, čtvrtý symbol je písmeno a popisuje chemickou podstatu léčiva a pátý symbol je dvojčíslí, které odpovídá konkrétnímu chemickému vzorci léčiva. V případě, že léčivo ovlivňuje více orgánů, má podle ATC systému přiřazeno více kódů [7, 8].

Tabulka 1 První úroveň ATC systému klasifikace léčiv [8]

Symbol	Anatomická soustava
A	Trávicí trakt a metabolismus
B	Krev a krevtovorné orgány
C	Kardiovaskulární systém
D	Dermatologika
G	Urogenitální trakt a pohlavní orgány
H	Systémová hormonální léčiva kromě pohlavních hormonů a inzulínu
J	Antiinfektiva pro systémovou aplikaci
L	Cytostatika a imunomodulační léčiva
M	Muskuloskeletární systém
N	Nervový systém
P	Antiparazitika, insekticidy a repelenty
Q	Veterinární přípravky
R	Respirační systém
S	Smyslové orgány
V	Různé přípravky

V České republice jsou veškeré činnosti s léčivými přípravky ukotveny v zákonu o léčivech (378/2007 Sb.) a dalších souvisejících předpisech. Hlavní výkony v oblasti zabezpečování léčiv má Ministerstvo zdravotnictví (MZ) a Státní ústav pro kontrolu léčiv (SUKL).

1.2 Ibuprofen a diklofenak

Kapitola je v první části věnována vlastnostem ibuprofenu (IBU) a diklofenaku (DIC). Na ni navazují další kapitoly, ve kterých jsou popsány možnosti vniknutí IBU a DIC do ŽP, způsoby ovlivnění složek ŽP a na závěr je pozornost věnována způsobům předcházení a eliminaci jejich průniku do ŽP.

1.2.1 Terapeutické účinky ibuprofenu a diklofenaku

Ibuprofen byl objeven S. Adamsem jako alternativní lék na revmatickou artritidu a v roce 1961 byl patentován [9]. Diklofenak byl patentován o něco později, poprvé pravděpodobně v roce 1969 A. Sallmannem a R. Pfisterem [10]. Podle klasifikace ATC má IBU účinky na kardiovaskulární systém, urogenitální trakt a pohlavní orgány, muskuloskeletární systém a respirační systém. Diklofenak působí na kožní a muskuloskeletární systém a na smyslové orgány [11].

Na základě účinku jsou IBU a DIC zařazeny do skupiny neopioidních analgetik, podskupiny kyselá antipyretická analgetika (nebo také nesteroidní antirevmatika [12], popř. nesteroidní protizánětlivá léčiva – NSAID [13]). Léčiva z této podskupiny mají schopnost tlumit bolest, snižovat teplotu a působit proti zánětům. Ve vodném prostředí se chovají jako slabé kyseliny. V krvi se váží na plazmatické bílkoviny, které je rozvádí po těle. V tkáni, kde je zánět, je nižší pH, díky kterému se léčivo uvolní z plazmy; z té pak proniká do buněk [12].

Princip účinku antipyretických analgetik je inhibice enzymu cyklooxygenáza. Tato inhibice může být provedena různým způsobem. Ibuprofen ji inhibuje reverzibilně. Substrátem pro cyklooxygenázu je kyselina arachidonová, ze které působením enzymu vznikají prostaglandiny, prostacykliny a tromboxany (tkáňové hormony), které mají vliv na tonus hladké svaloviny, agregaci trombocytů, tvorbu žaludečních kyselin, aktivitu endokrinních orgánů a v neposlední řadě na signalizaci bolesti a termoregulaci. Jejich zvýšená tvorba je obvykle způsobena poškozením tkání a projevuje se jako zánět [12].

Cyklooxygenáza je v těle v různých isoformách. Cyklooxygenáza-1 je některými buňkami tvořena trvale a je zodpovědná za správnou funkci žaludku, dvanáctníku a ledvin. Pokud je snížena účinnost této formy pomocí léčiv, projevují se nežádoucí účinky v oblasti zažívacího traktu a ledvin. Přítomnost druhé formy (cyklooxygenáza-2) je částečně podmíněna přítomností zánětlivých faktorů, ale v některých orgánech je její tvorba stálá a žádoucí (např. ledviny). Kyselá antipyretika působí na obě isoformy [12].

Blokáda cyklooxygenázy působí i snížení horečky, kterou tělo reaguje přímo na mikroorganismy (MO) a viry nebo na cizorodé látky pocházející z nich [12].

Mimo pozitivní účinky mají kyselá analgetika i nežádoucí účinky. Při dlouhodobém užívání vyvolávají postižení zažívacího traktu, jater, ledvin a kostní dřene. Poškození zažívacího traktu se nejprve projevuje mírně, např. jako tlak za prsní kostí, později vážně, např. vznikem vředů. Nežádoucí účinky mají i na střeva, kdy se např. projevují jako průjem a/nebo jako nevolnost. S poškozením ledvin souvisí horší vylučování sodíku, větší zádrž tekutin v těle (riziko hypertenze), vyšší zádrž dusíkatých látek, nebo mohou způsobit až odumírání ledvinové tkáně. Aby se nežádoucí účinky těchto léčiv omezily, byly např. vyvinuty tablety s postupným uvolňováním léčiva, nebo tablety, které obsahují pro-léčivo, ze kterého účinná forma vznikne až po jeho metabolizaci [12].

V porovnání s kyselinou acetylsalicylovou má IBU silnější analgetické, antipyretické i antiflogistické účinky, ale pomalejší vstřebání po perorálním podání. V těle je IBU odbouráván v játrech a metabolity se z těla vylučují převážně močí. Analgetické účinky má již od 200 mg, denní dávka pro dospělé se pohybuje v rozmezí od 1200 do 1600 mg (v těchto dávkách je považován za nejšetrnější léčivo k trávicímu traktu z celé skupiny NSAID). Pro dosažení antiflogistického účinku je dávkování až 2400 mg na den. Kromě výše popsaných negativních účinků, působí i proti shlukování trombocytů a tím prodlužuje krvácení. Přesto je v některých případech cílené zabránění agregace bráno pozitivně [12].

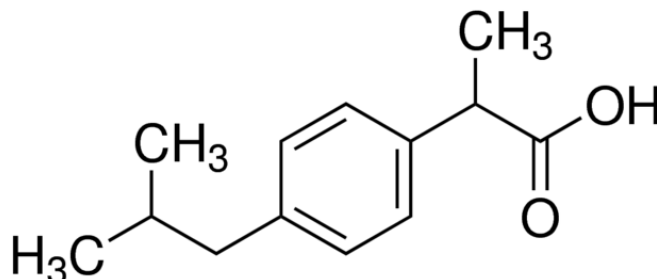
Na závěr je vhodné uvést, že popisované terapeutické účinky má pouze S forma IBU. Naše tělo si neaktivní R formu, která při výrobě vzniká, dokáže převést na aktivní, což je pro výrobu tohoto léčiva velkou výhodou [14].

Diklofenak se používá pro léčení akutní bolesti (např. ledvinová kolika). V běžných dávkách je silnější než kyselina acetylsalicylová a IBU. Pro ekvivalentní analgetický účinek 50 mg DIC je potřeba 400 mg IBU. Po perorálním podání se vstřebává přibližně stejně rychle jako IBU. Diklofenak je metabolizován v játrech, část metabolitů odchází močí, část ve stolici. Při dlouhodobějším užívání má negativní vliv na trávicí ústrojí, ledviny, játra a kostní dřeň. Doporučená denní dávka se pohybuje od 100 do 150 mg (max. dávka je 200 – 300 mg, záleží na přípravku, farmaceutovi, lékaři) [12].

Při celkovém porovnání žádoucích a nežádoucích účinků léčiv ze skupiny NSAID, jsou IBU a DIC považovány za nejšetrnější k lidskému organismu [12].

1.2.2 Fyzikálně-chemicko-toxikologické vlastnosti ibuprofenu

Ibuprofen je možné nalézt pod chemickými vzorci α -metyl-4-(isobutyl)fenyloctová kyselina nebo (\pm)-2-(4-isobutylfenyl)propanová kyselina (viz Obr. 1). Sumární vzorec IBU je $C_{13}H_{18}O_2$, molekulová hmotnost $206,28 \text{ g mol}^{-1}$ a CAS číslo [15687-27-1] [15].



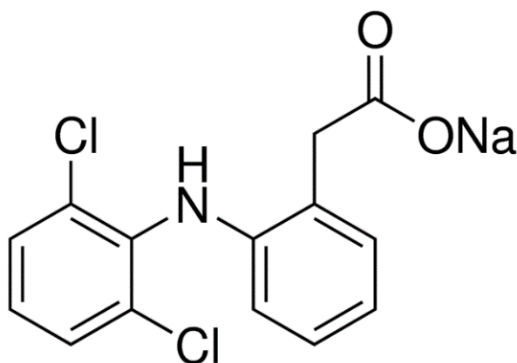
Obr. 1 Strukturální vzorec IBU [15]

Ibuprofen má dle klasifikace (ES) 1272/2008 přiřazeno signální slovo varování, je zdraví škodlivý při požití (H 302). Jedná se o pevnou bílou látku s charakteristickým zápachem, s bodem tání $77 - 78 \text{ }^\circ\text{C}$ [16] a hustotou $\rho_{\text{ibuprofen}} = 1,118 \text{ g cm}^{-3}$ při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ [17]. Nalezená pK_a IBU je 4,47, $\log K_{ow}$ má 3,97 a $\log D$ má 1,44 [18]. Rozpustnost IBU je ve vodě nízká (46 mg l^{-1} [19], jiný zdroj uvádí 21 mg l^{-1} při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ [20]). Rozpustnost léčiva se relativně dramaticky zvýší po jeho převedení na sodnou sůl (rozpustnost ve vodě při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ vzroste na 100 g l^{-1} [21]). Za běžných podmínek nedochází k rozkladu. Nesmí se dostat do kontaktu s oxidačními činidly a ohněm. Při vysoké teplotě se může rozkládat na CO [16].

Akutní toxicita IBU pro krysou orálně je $LD_{50} = 636 \text{ mg kg}^{-1}$, dále byla prokázána dráždivost na kůži a oči. Látka není klasifikována jako nebezpečná pro ŽP [16], nicméně při úniku do vody a dostatečné expozici, nižší koncentrace působí reprodukční problémy u bezobratlých [22] a vyšší koncentrace ($17,1 - 132,6 \text{ mg l}^{-1}$, 48 - 72 h) vyvolávají úhyn bezobratlých [22, 23].

1.2.3 Fyzikálně-chemicko-toxikologické vlastnosti diklofenaku

Diklofenak je k dispozici ve formě draselné nebo sodné soli. Sodnou sůl DIC je možné nalézt pod chemickým vzorcem sodné soli kyseliny 2-[(2,6-dichlorofenyl)amino]benzenoctové (viz Obr. 2). Sumární vzorec DIC je $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, molekulová hmotnost $318,13 \text{ g mol}^{-1}$ a CAS číslo [15307-79-6]. Draselná sůl má obdobný chemický a sumární vzorec, molekulovou hmotnost $405,16 \text{ g mol}^{-1}$ a CAS číslo [15307-81-0] [24].



Obr. 2 Strukturální vzorec sodné soli DIC [24]

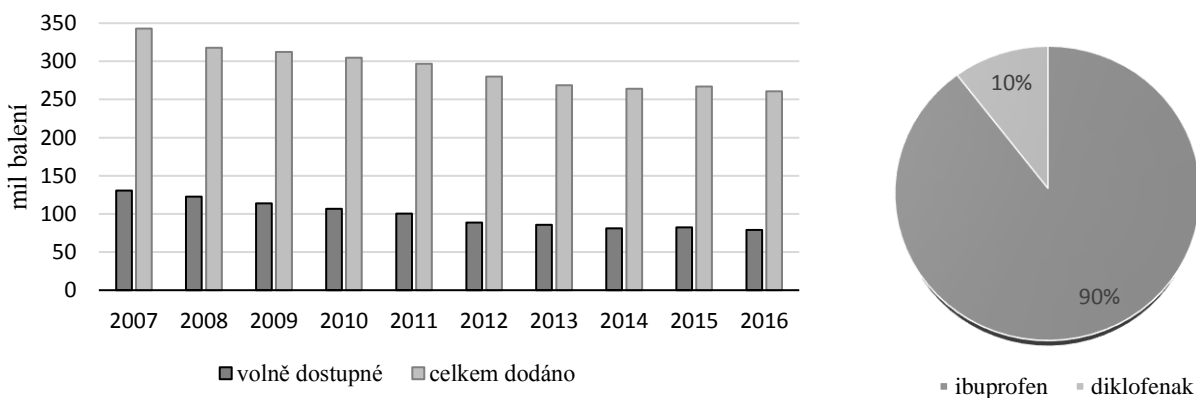
Sodná sůl DIC má celkovou klasifikaci dle (ES) 1272/2008 jako látka nebezpečná, která je toxická při požití (H 301). Jedná se o bělavý krystalický prášek bez zápachu, s bodem tání $275 - 277 \text{ }^\circ\text{C}$ a hustotou $\rho_{\text{diklofenak}} = 0,6 \text{ g cm}^{-3}$ při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ [25]. Nalezena pK_a DIC je 4,08, $\log K_{ow}$ má 4,51 a $\log D$ má 1,59 [18]. Rozpustnost DIC (sodné soli) ve vodných roztocích je závislá na pH. V kyselé oblasti ($\text{pH} = 3$, HCl) má rozpustnost $0,28 \text{ g l}^{-1}$, v neutrální oblasti ($\text{pH} = 7$, fosfátový pufr) má rozpustnost $1,36 \text{ g l}^{-1}$. V čisté vodě má rozpustnost $14,18 \text{ g l}^{-1}$, nejvyšší rozpustnost má v alkalické oblasti ($\text{pH} = 8$, borátový pufr) s hodnotou $17,17 \text{ g l}^{-1}$ při cca $25 \text{ }^\circ\text{C}$ [26]. Za běžných podmínek nedochází k rozkladu. Nesmí se dostat do kontaktu s oxidačními činidly a ohněm. Při vysoké teplotě se může rozkládat na CO, HCl a NO_x [25].

Akutní toxicita DIC pro krysou orálně je $\text{LD}_{50} = 53 \text{ mg kg}^{-1}$. Dráždivé účinky na kůži a oči nemá. Látka není klasifikovaná jako nebezpečná pro ŽP [25], nicméně při úniku do vody a dostatečné expozici působí fytotoxicky na vodní rostliny (EC_{50} již od $7,5 \text{ mg l}^{-1}$) [27] a vyšší koncentrace ($80,1 \text{ mg l}^{-1}$, 48 h) vyvolávají úhyn bezobratlých. V testu chronických účinků na dafnie bylo zjištěno, že toxicita DIC je vyšší, než toxicita IBU [23].

1.2.4 Osud léčiva v životním prostředí

Dlouho se léčivům a jejich účinkům a dopadům na ŽP nevěnovala pozornost. Až s vývojem analytických metod schopných detekce a identifikace organických polárních látek ve stopových množstvích, byla v ŽP objevena. Léčiva patří od r. 1999 do široké skupiny zahrnující přípravky osobní péče a přípravky farmaceutické (PPCP), které jsou specifické v tom, že se do odpadních vod dostávají až po použití spotřebiteli. Nedávno však byla některá léčiva zařazena mezi perzistentní organické polutanty (POP) [1, 3, 28, 29].

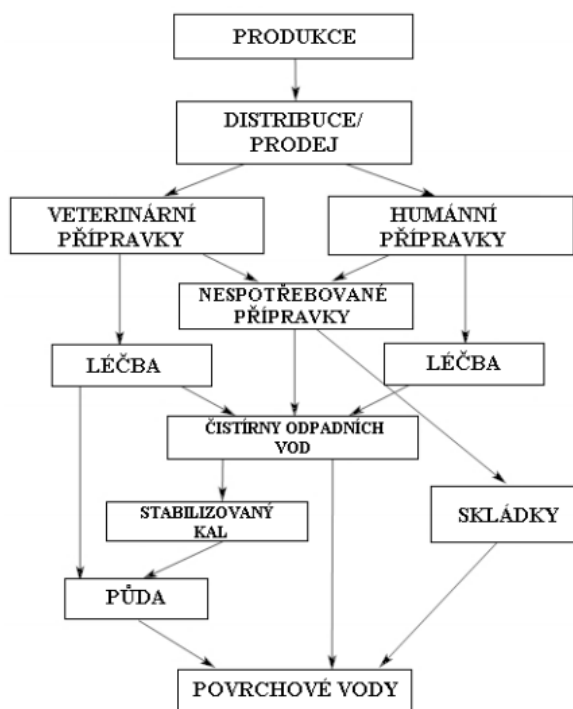
Hlavní cestou vstupu léčiv do ŽP je prostřednictvím jejich uživatelů. Jak lidských, tak i zvířecích. Množství spotřebovaných léčiv je do značné míry ovlivněno lékaři, lékárníky, dietology a dalšími odborníky, ale i módou a přístupem jednotlivců k životu. Momentálně není možné přesně určit spotřebované množství léčiv, tzn. zjistit, kolik léčiv se dostává do ŽP. Toto je možné pouze odhadovat z distribučních údajů. Na Obr. 3 vlevo je znázorněno, že množství dodaných léčiv do lékáren v ČR má klesající trend a že větší polovinu tvoří léčiva předepisovaná od lékaře. Na Obr. 3 vpravo je pak uvedeno procentuální zastoupení počtu dodaných balení léčiv s obsahem DIC a IBU v 50 nejoblíbenějších přípravcích v roce 2016 v ČR. Celkem bylo dodáno 4 218 000 balení obsahující IBU a 491 000 balení obsahující DIC [3, 28, 30].



Obr. 3 Množství balení dodaných léčiv do lékáren a oblíbenost léčiv s obsahem IBU a DIC v roce 2016 [30]

Po použití se léčiva dostávají na ČOV jako součást výkalů a moči buď přímo v nezměněné podobě, nebo jako metabolity (viz Obr. 4). U DIC podaného orálně je téměř 65 % vyloučeno močí, ve které jsou přítomny především 4'-hydroxy-diklofenak a 4',5-dihydroxy-diklofenak. Diklofenak se také vylučuje ve formě glukuronidů (např. β -O-acyl glukuronid, který se na ČOV může transformovat zpět na DIC). Ibuprofen je v těle téměř úplně přeměněn na hydroxyl-ibuprofen a karboxy-ibuprofen. Odstranění léčiv na ČOV závisí na jejich chemických vlastnostech a čisticím procesu. Na ČOV jsou zneškodněny především

sorpci a biodegradaci. Diklofenak je na ČOV v lepším případě odbourán ze 70 %, v horším ze 40 %. Hlavní mechanismus odbourávání je sporný. Starší zdroj [13] uvádí jako hlavní mechanismus biodegradaci, novější zdroj [3] adsorpci na aktivovaný kal. Ibuprofen může být na běžné ČOV (primární stupeň je sedimentace, sekundární stupeň je aktivovaný kal) téměř úplně odbourán (záleží i na ročním období, čistící technologii). Při pokusu v Itálii bylo zjištěno, že odbourání IBU je velmi závislé na ročním období. V létě byl odstraněn z 93 %, zatímco v zimě z pouhých 39 %. Čistírna odpadních vod tedy léčiva nedokáže vždy dokonale odbourat, a tak v nižších koncentracích postupují dál do říčního recipientu, kde mohou neblaze ovlivňovat vodní organismy. Některá léčiva se mohou kumulovat v těchto organismech (např. metabolity DIC) nebo v čistírenském kalu. Pak takový aktivovaný kal aplikovaný na zemědělské plochy kontaminuje půdu [3, 13, 28].



Obr. 4 Hlavní cesta kontaminace ŽP léčivy [28]

Druhou významnou cestou vnášení léčiv do ŽP je prostřednictvím průsaků ze skládek, na kterých jsou uložena prošlá léčiva. Dalšími menšími zdroji jsou např. odpadní proudy z farmaceutické výroby. Jakmile se léčiva nacházejí v půdě a v povrchové vodě, snadno se rozšiřují prostřednictvím predátorského řetězce do dalších složek ŽP. Míra rozšíření je evidována v databázi spravované americkým *National Centres for Coastal Ocean Science*, ze které vyplývá rozšíření léčiv téměř po celém světě. Nejvyšší koncentrace (do 1 mg l^{-1}) jsou dosaženy v místech s jejich nejvyšším prodejem (resp. užíváním) [1, 28].

V ČR bylo v rámci projektu „Možnosti odstraňování vybraných specifických polutantů (PPCP) v ČOV“, realizovaného v letech 2009 – 2013, sledováno pět nejvýznamnějších farmak. Mezi nimi byl sledován IBU a DIC na různě velkých ČOV s různou technologií čištění (viz Tabulka 2). Vzorkeby vod byly odebrány na vstupu a výstupu z ČOV a také mezi významnými čisticími kroky, tj. za mechanickým stupněm (kromě ČOV D, která má pouze česle) a jednotlivými stupni biologického čištění. Zjištěné koncentrace DIC na vstupu do ČOV byly v rozsahu 190 – 1000 ngl⁻¹ a koncentrace IBU byly v rozsahu 4500 – 22000 ngl⁻¹. Bylo zjištěno, že IBU je nejlépe odstraňován na biologickém stupni a na všech čtyřech ČOV byl odstraněn z 95 % a více. Stabilita jeho odstraňování byla potvrzena opakovaným měřením. Vzorkeby byly odebrány z jedné ČOV dvakrát nebo třikrát. Úplně jiné výsledky byly pozorovány u DIC. Jen v málo případech bylo jeho množství sníženo (účinnost odstranění byla do 33 %). Ve většině případů naopak docházelo k nárůstu jeho koncentrace po průchodu ČOV (viz Obr. 5). Podle autorů výzkumu byl tento jev způsoben pomalou dekonjugací metabolitů, které v přítoku nebyly stanovovány, zpět na původní látku (případně desorpce DIC z pevných částic) a dlouhou dobou zdržení v zařízení [31].

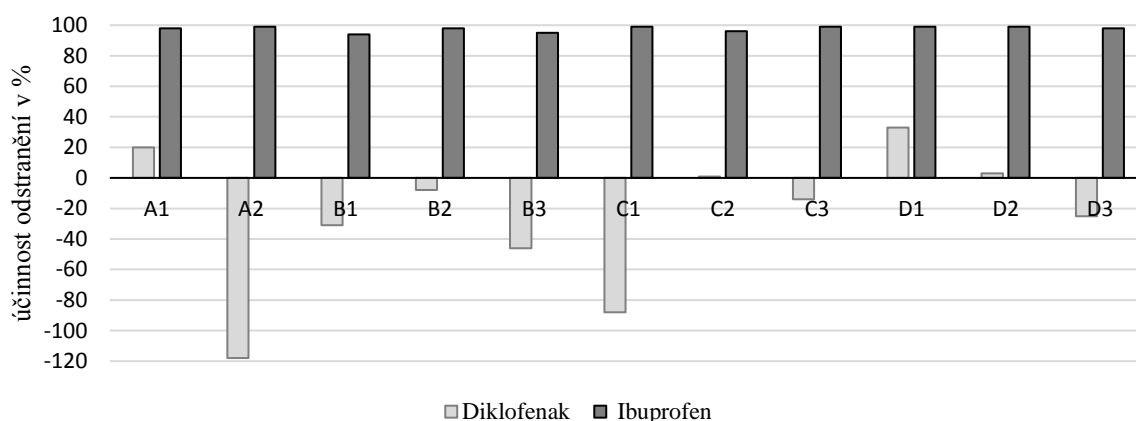
Autoři [31] tímto měřením potvrdili, že pro odstranění léčiv z OV je mechanické předčištění naprosto nedostačující. Biologický stupeň některá léčiva dokáže odstranit relativně dobře, např. IBU, některá špatně nebo vůbec, např. DIC. I při účinnosti odstranění „100 %“ mateřské sloučeniny, může voda obsahovat významné koncentrace jejich reziduí, metabolitů a degradačních produktů s podobnou biologickou aktivitou.

Tabulka 2 Typy ČOV, na kterých byly provedeny rozbory OV [31]

ČOV	Počet EO	Technologické uspořádání
A	nad 80 000	mechanicko-biologická ČOV s biologickým odstraňováním dusíku a fosforu, anaerobní stabilizace kalu
B	10 000 – 50 000	mechanicko-biologická ČOV (biofiltry), chemické srážení, aerobní stabilizace kalu
C	50 000 – 80 000	mechanicko-biologická ČOV s odstraňováním dusíku a fosforu, anaerobní stabilizace kalu (UN – R – N – D – DN)
D	10 000 – 50 000	mechanicko-biologická ČOV typu oběhová aktivace s biologickým odstraňováním dusíku, aerobní stabilizace kalu

Z Obr. 4 je patrné, že léčivy jsou nejvíce zasaženy povrchové vody. Mateřské molekuly a metabolity v nich mohou být dále adsorbovány na suspendovaných nebo koloidních částicích nebo podléhají biologické, chemické nebo fyzikálně-chemické přeměně.

Tak např. hlavní mechanismus odbourání DIC z povrchových vod je fotodegradací. Přitom je DIC přeměněn na karbazol-1-octovou kyselinu, 8-chlorokarbazol-octovou kyselinu, atd. Naopak, IBU podléhá fotodegradaci mnohem hůř, vyšší účinnost degradace je dosažena radikálovým mechanismem. Je zřejmé, že rychlost odbourávání záleží na struktuře a vlastnostech léčiva [3, 13, 28].



*A1 = písmeno označuje typ ČOV, číslice označuje pořadovou číslici odběr

Obr. 5 Celková účinnost odstranění ibuprofenu a diklofenaku na vybraných ČOV v ČR [31]

Kontaminace podzemních vod je nižší pravděpodobně z důvodu výskytu vrstev s dobrou sorpční schopností a vrstev s nízkým koeficientem propustnosti. Znečištění je tak spíše lokální, pocházející z bodových zdrojů znečištění (kromě znečištění DIC, jehož přítomnost je globální). Pokud tento trend bude pokračovat dál, koncentrace léčiv v podzemních vodách budou nadále narůstat. Podobným způsobem je ohrožena i pitná voda [28].

V roce 2013 bylo zkoumáno zasažení pitné vody léčivy v ČR. Z analýz vyplývá, že nejvíce ohroženy jsou aglomerace, které pitnou vodu připravují ze surové povrchové vody z dolních toků řek, do kterých ústí „vyčištěné“ OV z ČOV. V rámci této studie byl zkoumán IBU i DIC. Mez stanovení u těchto léčiv byla $0,5 \text{ ng l}^{-1}$. V první sadě měření bylo hodnoceno zamoření pitných vod na celém území ČR a jednotlivá odběrová místa byla volena tak, aby byly poměrně zastoupeny zdroje podzemní a povrchové vody. Ani v jednom vzorku nebyla nalezena koncentrace IBU a DIC větší než $0,5 \text{ ng l}^{-1}$. V druhém souboru měření byla pozornost zaměřena právě na výstupy z úpraven vod, používající k přípravě pitné vody surovou povrchovou vodu z dolních toků řek, zatížených OV. Zde již byl IBU detekován (12krát), v rozmezí $0,7 - 20,7 \text{ ng l}^{-1}$, nejčastěji však 2 ng l^{-1} , a DIC (2krát z 23 sledovaných lokalit) v koncentracích $0,6$ a $3,9 \text{ ng l}^{-1}$. Následně byl zkoumán obsah léčiv v distribuční síti. V této vodě však byla koncentrace IBU a DIC pod detekčním limitem [32].

K zasažení orné půdy léčivy může dojít prostřednictvím použití upravených čistírenských kalů² jako hnojiva nebo při závlahách vyčištěnými OV. Na základě svých vlastností se léčiva v půdě různě zachycují. Míra jejich sorpce může být odvozena z log K_{ow} , kde se NSAID, především DIC, sorbují do půdy s vysokým podílem organické složky a do spodních vod pronikají pomalu. Pro představu je log K_{ow} DIC 4,51 a IBU 3,97. Sorbované NSAID pak v půdě relativně dobře podléhají biodegradaci (poločas rozpadu DIC je méně než 5 dní) [2, 3, 13, 18, 28].

V ČR byly v rámci projektu „Optimalizace nakládání s kaly komunálních čistíren odpadních vod“ stanoveny koncentrace farmak v kalu z ČOV. U IBU a DIC byly předpokládány nízké koncentrace v kalu, protože se jedná o slabé kyseliny (pK_a od 4,1 – 4,9), které se při neutrálním pH ve vodě vyskytují převážně jako ionty s nízkou tendencí k adsorpci na kal. Při klesajícím pH tendence k adsorpci sice vzrůstá, přesto není považována za významnou pro jejich eliminaci z OV. Vzorky byly odebrány dvakrát (od května do října), zvláště malé a zvláště velké ČOV. Zjištěné koncentrace DIC v kalech z velkých čistíren (připojeno více než 40 000 ekvivalentních obyvatel (EO)) byly v rozmezí 5 – 35 μgkg^{-1} sušiny kalu. Opakovaně byla jeho koncentrace zjištěna na ČOV v Jihomoravském a Libereckém kraji. Koncentrace DIC v kalech z malých čistíren (připojeno 2 000 – 15 000 EO) byly v rozmezí 5 – 75 μgkg^{-1} . Nejvyšší koncentrace byla zjištěna na ČOV ve Středočeském kraji. Diklofenak byl detekován u kalů jak z malých, tak i velkých ČOV skoro ve všech krajích (v 11). Koncentrace IBU byly v kalech z velkých ČOV v rozsahu 15 – 70 μgkg^{-1} . Jeho přítomnost v kalu byla opakovaně zjištěna v Jihomoravském kraji. Koncentrace IBU v kalech z malých čistíren byly v rozmezí 15 – 70 μgkg^{-1} . Nejvyšší koncentrace byla zjištěna na ČOV na Vysočině. Celkově byl DIC detekován v 68 % vzorků, zatímco IBU pouze v 39 % všech odebraných vzorků. Vzhledem k jeho vyprodukovanému množství se na kal váže pravděpodobně mnohem méně než DIC. Podle autorů této studie je sledování farmak v kalech relevantní a je potřeba stanovit vhodné markéry [2].

Vznikající kaly na ČOV je možné upravovat a zpracovávat různými způsoby. Mezi ně patří i jejich anaerobní stabilizace spojená s produkcí bioplynu. Při anaerobní stabilizaci kalů byl sledován a zjištěn různý vliv léčiv na produkci bioplynu. Významný inhibiční vliv byl pozorován u DIC nebo amoxicilinu a karbamezapinu. Zatímco IBU nebo tramadol na produkci bioplynu působil spíše stimulačně. Z výzkumu je patrné, že léčiva z jedné skupiny (IBU a DIC) mohou na MO působit naprosto odlišně [33].

² Dle zákona č. 185/2001 Sb. a vyhlášky 437/2016 Sb.

Vliv léčiv na složky ŽP je specifický. Léčiva se vyznačují vysokou biologickou aktivitou již při nízké koncentraci (koncentrace ve vodách je do 1 mg l^{-1}). Během jejich přeměny na metabolity se může biologická aktivita snížit nebo naopak ještě zvýšit. Pro pochopení reálného dopadu léčiv na ŽP nestačí sledovat pouze mateřskou sloučeninu, ale také její produkty rozkladu. Z těchto důvodů nízká koncentrace a velké spektrum sledovaných látek znesnadňují určení jejich vlivu a dopadů na ŽP. Dobrým příkladem, se zásadními expozičními důsledky, jsou antibiotika. Jejich nízké koncentrace umožňují přežití bakterií a zvýšení jejich odolnosti. Podobně i perorální hormonální léčiva, která negativně působí na pohlavní vývoj a rozmnožování vodních organismů [3, 28].

Pokud by bylo léčivo v recipientu obsaženo samo, není možné mluvit o jeho akutních účincích, protože se projevují až při mnohem vyšších koncentracích. Přesto se jejich toxicita může projevit díky tomu, že se v recipientu nenacházejí sama, ale společně s dalšími léčivy tvoří směs. Jejich vliv se navzájem doplňuje a účinky se sčítají, nebo naopak svými účinky mohou působit proti sobě. Vždy záleží na výsledné směsi a koncentraci přítomných biologicky aktivních složek. Druhou záležitostí je pak jejich chronická toxicita. Tak např. vystavením duhového pstruha účinkům DIC ($5 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$, 28 dní) pravděpodobně způsobilo změny na ledvinách a játrech. V jiné studii byla pro tuto rybu určena LOEC (DIC) = $1 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ s pozorovatelnými změnami na játrech, ledvinách a žábřácích. Kromě výše zmíněného, byla u této ryby pozorována i bioakumulace DIC a IBU v krvi [13].

1.2.5 Způsoby předcházení a eliminace ibuprofenu a diklofenaku v ŽP

Při omezování množství uvolněných léčiv do ŽP hrají důležitou roli lékaři, kteří předepisují daná léčiva, lékárníci a další autority. Snížení množství užívaných léčiv by se mohlo podařit díky změně přístupu, tj. např. k přístupu holistickému. Tím by se předešlo vzniku farmaceutického odpadu a nutnosti řešit, v jakých zařízeních (a jak) ho likvidovat [3].

Další možností jak snížit zatížení ŽP (hlavně OV) je kontrola zdrojů znečištění. Jedná se například o správné zacházení s prošlými léčivy nebo odstranění léčiv z moči pacientů hospitalizovaných v nemocnici [28].

Snaha o eliminaci nebezpečných látek ve vodách je pozorovatelná i ze strany EU. Členské státy se zavázaly k plnění směrnice 2000/60/EC ze dne 23. 10. 2000, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky. Tato směrnice byla několikrát aktualizována (směrnicí 2008/105/ES ze dne 11. 3. 2008, směrnicí 2013/39/EU ze dne 12. 8. 2013 a prováděcím rozhodnutím (EU) 2015/495 ze dne 20. 3. 2015). Tento rámec

vodní politiky se týká povrchových, brakických, pobřežních a podzemních vod a slouží k udržení a zlepšení jakosti vod (pro ČR konkrétně jakosti povrchových vod) pro jejich možné znovuvyužití, ochranu vodních ekosystémů a zmírnění účinků povodní a sucha. Pro zajištění dostatečné kvality je dán soubor maximálních koncentrací (NEK, neboli normy environmentální kvality) pro obzvláště perzistentní, toxické a kumulující se látky v ŽP, tzv. prioritní látky³. Mezi těmito prioritními látkami nejsou nyní léčiva zahrnuta, nicméně v návrhu Evropské komise 2011/0429 (COD) ze dne 31. 1. 2012 byl DIC zařazen mezi prioritní látky s NEK – roční průměr ve vnitrozemních povrchových vodách 100 ng l⁻¹. Tento návrh zatím nebyl přijat. V roce 2013 byl DIC zařazen mezi sledované látky. O dva roky později (viz (EU) 2015/495) zůstává na seznamu sledovaných látek pro vyhodnocení jeho nebezpečnosti na ŽP. Pokud se prokáže jeho nebezpečnost, může být v roce 2018 během aktualizace seznam prioritních látek přidán a bude mu přiřazena určitá hodnota NEK [3].

V tomto ohledu legislativa ČR vychází ze směrnic EU a limity pro léčiva nejsou nařízena pro žádný z typů vod (viz zákon č. 250/2016 Sb., vyhláška č. 252/2004 Sb., nařízení vlády 401/2015 Sb. a 57/2016 Sb.) a ani v roce 2015 nebyla monitorována v povrchových vodách [34].

Jiná eliminace léčiv není dost dobře možná a vzhledem k tomu, že nejsou zařazeny mezi látky nebezpečné pro ŽP, pro ně nelze aplikovat obecné nebo modifikované legislativní podklady, např. omezení jejich předepisování (lidské zdraví je postaveno výše, než ochrana ŽP) [1].

1.3 Odpadní vody

Průmyslové odpadní vody vznikají při těžbě nerostného bohatství, v zemědělství nebo v průběhu výrobního procesu [35]. Do výroby vstupují suroviny a pomocné látky, např. ve formě různých rozpouštědel, a z výroby vystupují produkty, meziprodukty a odpady, např. ve formě matečných louhů, kondenzátů, oplachových vod, atd. [36]. Jejich charakter je dán typem průmyslu. Organické látky, které znečišťují průmyslové OV, mohou být netoxické a dobře biologicky rozložitelné (např. sacharidy), látky netoxické a špatně biologicky rozložitelné (např. ligninsulfonany), látky toxické a biologicky rozložitelné (např. fenoly) a látky toxické a špatně biologicky rozložitelné (např. chlorované uhlovodíky) [35].

³ Konečným cílem směrnice 2000/60/EC je odstranění prioritních nebezpečných látek (v příloze X, označeny křížkem) a dosažení jejich koncentrací v mořské vodě blízké hodnotám jejich přirozeného výskytu, u syntetických pak blízké nule. K tomu je Komise oprávněna učinit omezující opatření.

Příkladem speciální skupiny velmi špatně biologicky odbouratelných a potenciálně toxických (některé jsou prokazatelně toxické) látek jsou POP. Jejich výroba se řídí Stockholmskou úmluvou, nyní „Aktualizovaným národním implementačním plánem Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech na léta 2012 – 2017“⁴. Problém u POP je jejich účinné rozložení (resp. běžné ČOV si s nimi nejsou schopné poradit). Existuje zde tedy patrný zájem o vyvinutí technologií, které by je byly schopné efektivně odstranit [37].

Druhým typem OV jsou vody splaškové, vznikající v domácnostech, sociálních zařízeních, atd. Organické látky obsažené ve splaškových vodách jsou obvykle dobře biologicky rozložitelné a jejich závadnost je způsobena hlavně patogenními organismy [35]. Přesto se v posledních letech začínají objevovat studie, zabývající se vlivem biologicky aktivních mikropolutantů, což jsou látky, které se ve vodách obvykle vyskytují v množstvích $\mu\text{g l}^{-1}$ až ng l^{-1} , a i přesto se objevují názory na jejich škodlivost pro ŽP a možné ovlivnění zdraví člověka. Mezi tyto látky mohou patřit prostředky osobní péče, jako jsou různé vůně, kosmetika, opalovací krémy, léčiva (např. diagnostické látky, léky volně prodejné nebo na předpis, hormony), atd. [38].

Vypouštění průmyslových OV do kanalizací je možné pouze na základě povolení vodoprávního úřadu, které se řídí vodním zákonem⁴. Limity jsou stanoveny nařízením vlády 401/2015 Sb. a mohou být určeny smluvně. Tak např. odpadní voda vypouštěná do kanalizace města Havířov smí mít CHSK_{Cr} max. 1000 mg l^{-1} a RAS 1200 mg l^{-1} . Je sledováno mnoho dalších ukazatelů⁵, mezi nimi těžké kovy, ropné látky (NEL), adsorbovatelné organicky vázané halogenidy (AOX), atd. Zdá se, že nejhorší průmyslové znečištění z 90. let bylo pravděpodobně zvládnuto [39], nicméně pokračují stále snahy o zlepšení kvality vodních toků, např. v Operačním programu ŽP 2014 – 2020 je jednou z prioritních os (prioritní osa 1) zlepšit kvalitu vody pocházející z komunální sféry a snížit rizika povodní [40].

V současnosti je Komisi kladen stále větší důraz na znovupoužití vyčištěných OV. Podklady Evropské unie (EU) k vodohospodářství popisující možnost využití OV jako dalšího vodního zdroje, byly vydány již v roce 2013. V roce 2015 bylo v návaznosti s tím zahájeno sestavování minimálních požadavků na kvalitu vyčištěných OV na zemědělské závlahy a obnovování podzemních zdrojů vod v Evropě. Prakticky se opětovně využívání OV v Evropě již děje, především na dolních tocích řek, kde se z ní připravují i vody pitné.

⁴ Vodní zákon (254/2001 Sb.)

⁵ Podmínky pro vypouštění odpadních vod, Havířov (2012), dostupné z: <http://www.tsh.cz/doc/limity-vypousteni-kanalizace-Havirov.pdf> (cit. 21. 4. 2016)

Do ledna 2017 probíhaly konzultace Komise k zvažovaným opatřením pro stanovení minimálních parametrů vyčištěných OV k recyklaci. V budoucnosti se dostupné vody budou pravděpodobně upravovat na kvalitu vyžadovanou konkrétním výrobním procesem. U vyčištěné OV určené k recyklaci se budou muset kontrolovat jak běžné parametry popisující znečištění, tak i různé specifické polutanty, včetně jejich meziproductů [41].

1.4 Metody odstraňování léčiv z OV

Většina OV je v ČR čištěna na dvoustupňových ČOV (mechanicko-biologických [42]), a proto je pozornost primárně zaměřena na mechanismy degradace léčiv v těchto zařízeních a na možnosti zvýšení jejich účinnosti. Účinnost samotného procesu čištění na množstvím odbouraných léčiv se v jednotlivých zařízeních liší nezávisle na chemických vlastnostech léčiv. Jejich odbourávání na ČOV ovlivňuje mnoho faktorů, jako je konstrukce a technologie čištění, doba zdržení, roční období, výkon ČOV, ale i teplota okolí nebo množství srážek [28, 29].

Hlavními mechanismy degradace léčiv na běžné ČOV jsou:

- sorpce na aktivovaný kal,
- biotická degradace,
- abiotická degradace včetně hydrolýzy a fotodegradace [28].

Právě fotodegradace je považovaná za nejvýznamnější mechanismus odbourání léčiv ve vodách. Byly zjištěny dva typy mechanismů. Pokud léčivo může přímo interagovat s elektromagnetickým zářením, absorbovat ho a následně se rozpadat na jednodušší sloučeniny, mluvíme o fotolýze. Náchylnost léčiv a jejich metabolitů k fotolýze určuje do značné míry jejich struktura (absorpční spektrum), dále také intenzita záření, kterou ovlivní hloubka, ve které se daná látka nachází, a další znečištění OV, zeměpisná šířka a roční období. Druhým mechanismem je radikálový rozpad léčiva způsobený silnými oxidovadly, např. hydroxylovým radikálem ($\bullet\text{OH}$), který ve vodě vzniká interakcí slunečního záření s dalšími látkami [28, 29].

U sorpce léčiv se podle jejich fyzikálně-chemických vlastností uplatňují dva hlavní mechanismy – absorpce a adsorpce. Absorpce probíhá na základě interakce hydrofobních skupin s lipofilními částmi kalu (např. buněčné membrány MO). K adsorpci léčiv dochází prostřednictvím vzniku elektrostatických sil mezi kladně nabitými molekulami léčiv a záporně nabitou biomasou [28].

Působením MO dochází k úplnému nebo částečnému rozkladu léčiv. Účinnost biodegradace pravděpodobně záleží na stáří aktivovaného kalu, dostupnosti léčiv z vody, oxidačně-redukčních podmínkách, sorpci (kompetiční proces), pH a na celkovém uspořádání příslušné technologie [28]. Na biologickou rozložitelnost léčiv má příznivý vliv vyšší doba zdržení a především vyšší stáří aktivovaného kalu [29]. Při stáří aktivovaného kalu 15 – 20 dní je uváděna účinnost odstranění většiny farmak, kromě karbamezapinu, DIC a kyseliny klofibrové, přes 90 %. Maximální redukce DIC (z 50 %) byla dosažena při stáří aktivovaného kalu 20 – 50 dní. Z tohoto pohledu je pak zřejmé, proč membránové bioreaktory (MBR), které umožňují udržovat vysoké stáří aktivovaného kalu, obvykle vykazují vyšší účinnost při eliminaci farmak [1]. Pro některá léčiva byla popsána biologická degradační konstanta popisující jejich eliminaci na aktivovaném kalu. Pro DIC byla určena rychlostní konstanta biodegradace $k_{\text{biol}} < \text{než } 0,1 \text{ Lg}_{\text{ss}}^{-1}\text{d}^{-1}$, což odpovídá degradaci léčiva méně než z 20 % jak klasickým aktivovaným kalem, tak i v MBR. Pro IBU byla určena $k_{\text{biol}} = 21 - 35 \text{ Lg}_{\text{ss}}^{-1}\text{d}^{-1}$ a $9 - 22 \text{ Lg}_{\text{ss}}^{-1}\text{d}^{-1}$ klasickým aktivovaným kalem a MBR, což odpovídá střednímu stupni odstranění (méně než 90 %) [43].

Protože zbytkové koncentrace léčiv a jejich metabolitů v tocích mohou ovlivňovat vodní ekosystémy a zdroje pitné vody i při účinnostech čištění 99 %, je rozumné uvažovat o metodách, které by účinnost vyčištění vody na ČOV zvýšily. V praxi je toto často řešeno přidáním dalšího čistícího stupně. Tím může být chemická oxidace, adsorpce na aktivní uhlí, membránové separační metody nebo jejich kombinace [1, 3, 28].

Chemická oxidace představuje reakci léčiva se silnými oxidačními činidly, jako je např. $\bullet\text{OH}$, který může být ve vodě generován interakcí UV záření s H_2O_2 , Fentonovou reakcí nebo dalšími technikami patřící do skupiny AOPs. Mezi tato činidla patří také O_3 , který dokáže i přes svoji vyšší selektivitu účinně odstranit relativně široké spektrum látek. Vhodnost této techniky byla zkoumána pro DIC, IBU a další látky. Původní koncentrace DIC (313 ng l^{-1}) v pitné vodě byla snížena během 2 min o více než 99 % s použitím jak O_3 v kombinaci s peroxidem vodíku ($1,25 \text{ mg l}^{-1} \text{ O}_3 + 0,25 \text{ mg l}^{-1}$ peroxid), tak i samotného ($1,25 \text{ mg l}^{-1}$) O_3 . Původní koncentrace IBU (363 ng l^{-1}) ve stejné vodě byla snížena v případě použití O_3 samotného ($1,25 \text{ mg l}^{-1}$) po 2 min pouze o 31 %. V případě kombinace ozonu a peroxidu vodíku, při stejných podmínkách jako u DIC, byla jeho koncentrace snížena o 51 %. Prodloužení reakční doby působení této kombinace na IBU zvýšilo jeho degradaci (po 24 min) na 65 %. Dvojnásobná koncentrace O_3 a peroxidu způsobila odstranění IBU z 89 % po 6 min. Dalším prodlužováním reakční doby se účinnost degradace již nezvyšovala.

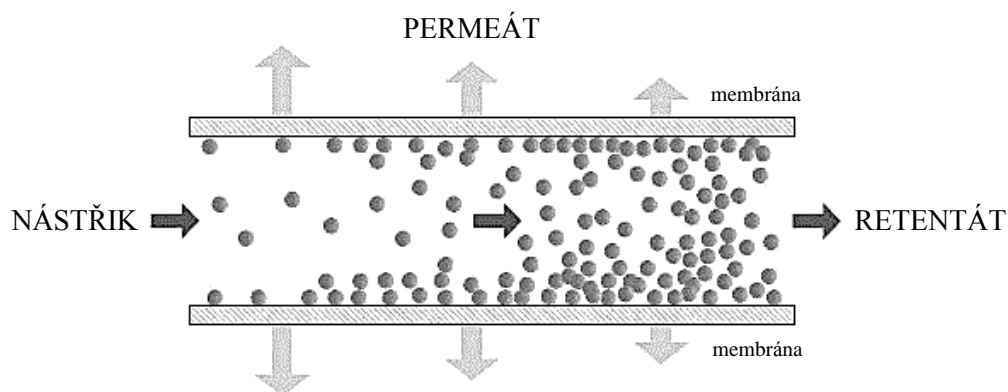
Výhodou ozonizace jsou nižší náklady, než tomu je např. u membránové separace a adsorpce [28, 44].

Membránové separace využívají polopropustnou přepážku, která zabraňuje průchodu léčiva z nátoky a vyznačují se vysokou účinností. V současné době jsou používány pro úpravu pitné vody [45], nicméně se objevují práce popisující jejich použití i pro čištění OV [45, 46]. Náklady na provoz membránové separační jednotky jsou o něco nižší než u adsorpce. Při porovnávání nákladů velmi záleží na použitém tlaku a požadovaném průtoku [28].

Adsorpce na aktivní uhlí je využíváno pro odstranění organických, převážně nepolárních látek. Použití aktivního uhlí skýtá velkou výhodu pro léčiva, která se jiným způsobem odstraňují velmi obtížně. Rozšíření adsorpce pro čištění OV zabraňují vysoké náklady na provoz [1, 28].

1.5 Tlakové membránové procesy

Tlakové membránové procesy (dále jen TMP) slouží ke koncentrování nebo čištění zředěných roztoků a disperzí. Jejich základním separačním elementem je selektivní, polopropustná (semipermeabilní) membrána, která má aktivní vrstvu. Na tu je tzv. *cross-flow* způsobem (příčný tok – viz Obr. 6) přiváděna zpracovávaná surovina (nástřík). Membránou některé komponenty procházejí (permeát) a jiné zůstávají v nástřiku, kde se postupně zvyšuje jejich koncentrace (retentát). Selektivita membrány je dána mírou průniku dané komponenty a záleží na velikosti pórů membrány, na jejich povrchových vlastnostech (náboj, smáčivost, atd.) a rozdílné difuzi nebo rozpouštění určitých komponent v materiálu membrány [45].



Obr. 6 Schematické znázornění *cross-flow* způsobu separace [47]

Výkon dané membrány je určen selektivitou membrány a intenzitou toku permeátu membránou. Intenzita toku permeátu (J) je definována jako objem permeátu (V_P), který projde membránou za jednotku času (τ) vztažený na jednotku plochy membrány (A = separační plocha membrány) – viz rovnice (1) [45]:

$$J = \frac{1}{A} \cdot \frac{dV_P}{d\tau} \quad (1)$$

Projevem selektivity membrány je skutečnost, že je během separace určitá komponenta částečně nebo zcela zachycena a zůstává v nástríku, zatímco molekuly rozpouštědla (vody) procházejí membránou do permeátu. Míra zachycení složky může být popsána součinitelem rejekce (R_0), který vyjadřuje poměr koncentrace látky v permeátu (c_P) ke koncentraci látky v nástríku (c_F) – viz rovnice (2) [45].

$$R_0 = \frac{c_{iF} - c_{iP}}{c_{iF}} = 1 - \frac{c_{iP}}{c_{iF}} \quad (2)$$

Hodnota R_0 se pohybuje v intervalu od 0 do 1. Nulová hodnota znamená, že daná komponenta úplně prochází do permeátu. Rejekce rovná 1 znamená přesný opak, tj. že daná komponenta vůbec neprochází membránou a zůstává v nástríku [45].

Průchod komponent membránou je způsoben tlakovým rozdílem, který je nad membránou a pod ní. Díky němu procházejí membránou nízkomolekulární látky, zatímco větší částice a molekuly jsou zachyceny. Podle aplikovaného tlakového rozdílu, vlastností použité membrány a převažujícím transportním mechanismu jsou TMP rozděleny na následující základní techniky:

- mikrofiltrace (MF),
- ultrafiltrace (UF),
- nanofiltrace (NF),
- reverzní osmóza (RO) [45].

Parametry jednotlivých technik jsou přehledně shrnuty v Tabulce 3 [45].

Tabulka 3 Parametry tlakových membránových procesů [45]

Mikrofiltrace	Ultrafiltrace	Nanofiltrace/Reverzní osmóza
separace částic, bakterií, kvasinek	separace koloidních částic, makromolekul	separace nízkomolekulárních látek (solí, glukóza, laktóza)
osmotický tlak zanedbatelný	osmotický tlak zanedbatelný	osmotický tlak vysoký
nízký rozdíl tlaků ($< 0,4$ MPa)	nízký rozdíl tlaků ($0,1 - 1$ MPa)	vysoký rozdíl tlaků ($1 - 10$ MPa)
struktura membrány symetrická nebo asymetrická	struktura membrány asymetrická	struktura membrány asymetrická
tloušťka aktivní vrstvy: symetrické cca $10 - 150 \mu\text{m}$ asymetrické cca $1 \mu\text{m}$	tloušťka aktivní vrstvy: asymetrické cca $0,1 - 1 \mu\text{m}$	tloušťka aktivní vrstvy: asymetrické cca $0,1 - 1 \mu\text{m}$
separace založená na rozdílné velikosti částic	separace založená na rozdílné velikosti částic	separace založena na rozdílné rozpustnosti a difuzivitě

Vhodnými technikami pro odstraňování léčiv jsou NF nebo RO [45]. NF jsou oddělovány nízkomolekulární látky (200 – 1000 Da) a vícevalentní soli od jednovalentních a od molekul rozpouštědla. Použité tlakové rozdíly se pohybují v rozmezí 1 – 4 MPa. NF membrány představují předěl mezi mikroporézními a neporézními membránami. Pro NF se používají kompozitní membrány, které mají aktivní vrstvu o velmi malé tloušťce spojenou s podpurnou vrstvou o větší tloušťce, která může být tvořena různými materiály. Je žádoucí, aby při zajištění dostatečné selektivity membrány byla tloušťka aktivní vrstvy co nejnižší, a tak byl i co nejnižší hydraulický odpor proti toku permeátu. Tloušťka aktivní vrstvy NF membrán je menší než 1 μm a tloušťka nosiče obvykle v rozmezí 50 – 150 μm . Vhodnými materiály pro separaci vodných systémů jsou hydrofilní polymery s nízkou propustností pro separovanou složku. Mohou jimi být estery celulózy, tj. např. di- nebo triacetát celulózy, nebo aromatické polyamidy [45].

Separční vlastnosti membrán jsou dány jejich dělicí schopností. Dělicí schopnost vyjadřuje, jak velké částice membrána zadrží. V případě NF membrán je jejich dělicí schopnost závislá na velikosti pórů, kdy se uplatňuje tzv. sterický efekt, a na druhé straně na jejich náboji (uplatňuje se zde tzv. Donanův (elektrický) efekt). Náboj pozitivně ovlivňuje separaci ionizujících organických látek. Jak náboj membrány, tak částic, je závislý na pH prostředí. Kompozitní membrány s polyamidovou selektivní vrstvou mají díky obsahu malého množství karboxylových skupin slabě záporný náboj. Kompozitní membrány s kationtově selektivní polysulfonovou vrstvou nesou silný záporný náboj. V některých případech, kdy proces klade na membrány požadavky z hlediska vysokoteplotní a mechanické odolnosti nebo odolnosti v korozivním prostředí, jsou používány membrány z anorganických materiálů. NF membrány mohou být vyráběny na bázi amorfních oxidických fází, zeolitů nebo mikroporézního uhlíku [45].

1.5.1 Charakterizace membrán

Pro předpověď výkonu membrány u konkrétní aplikace je nutná její charakterizace. Membrány jsou charakterizovány strukturálními parametry (jako je velikost pórů, distribuce velikosti pórů), volným objemem (mezerovitostí), tloušťkou aktivní vrstvy a separačními vlastnostmi. Charakterizace vede k určení strukturálních a morfologických vlastností dané membrány. U separačních vlastností se na výkonu membrány podílí např. koncentrační polarizace a zanášení membrán. Pro charakterizaci NF membrán platí, že se jedná o asymetrické membrány, u kterých je hlavní odpor proti přestupu hmoty soustředěn v aktivní

vrstvě. Přestože mají NF membrány póry (průměr kolem 2 nm), jejich mechanismus separace je založen i na principech typických pro neporézní membrány [45].

U porézních membrán je předmětem charakterizace tloušťka aktivní vrstvy, distribuce velikosti pórů a povrchová mezerovitost (typicky pro UF, částečně pro NF membrány). Tyto charakteristiky je možné určit metodami permporometrie, termoporometrie, metodou vytlačování kapaliny nebo retenčním měřením. Retenčním měřením je určována tzv. hodnota *cut-off*. Popisuje molekulovou hmotnost látky, která je z 90 % zadržena v nástřiku. Tato hodnota závisí na více parametrech, jako je tvar a povaha látky, interakce s membránou, výskyt koncentrační polarizace, a však také na experimentálních podmínkách, jako je tlakový rozdíl, rychlost proudění nástřiku, koncentrace a typ rozpuštěné látky, atd. Pro testování membrány na její *cut-off* se používají různé látky i s přesně definovanou molekulovou hmotností (M_i) [45].

Mezi faktory charakterizující neporézní membrány patří chemická povaha a morfologie polymeru či rozsah interakcí mezi polymerem a komponentami. Přejít hmoty v neporézní membráně probíhá rozpouštěním a difuzí, tzn. na základě rozličných rozpustností nebo difuzních koeficientů komponent v materiálu membrány. Při charakterizaci neporézních membrán se tedy jedná o určení fyzikálních vlastností vztažených k chemické struktuře, které je možné určit metodami měření permeability plynů a kapalin, stanovením dalších fyzikálních vlastností (teplota skelného přechodu, krystalinita a hustota) nebo metodami povrchové analýzy [45].

1.5.2 Koncentrační polarizace

Koncentrační polarizace je jev, který je způsoben akumulací separovaných látek u povrchu membrány. Vyšší koncentrace látek u povrchu membrány působí na výkonnost procesu (snížení J , zvýšení koncentrace látky v permeátu). Její negativní působení se nejvíce projevuje při MF a UF. U NF je její vliv nízký, a u RO je možné ho dokonce zanedbat [45].

Pozorovaná (zdánlivá) rejekce R_o je definována jako poměr koncentrace rozpuštěné látky i v permeátu (c_{iP}) ke koncentraci této látky v nástřiku (c_{iF}) (viz rovnice (2)). Její hodnota je závislá na procesním uspořádání, zejména na poměru J/k [45, 48].

Pro každou membránu může být stanovena i její skutečná (vlastní) rejekce R_{Mi} , která je definována jako poměr koncentrace látky v permeátu ke koncentraci této látky na povrchu membrány (c_{iM}) (viz rovnice (3)). Koncentraci c_{iM} není možné měřit přímo, dopočítává se z rovnic popisujících koncentrační polarizaci [45, 48].

$$R_{Mi} = 1 - \frac{c_{iP}}{c_{iM}} \quad (3)$$

Vliv koncentrační polarizace lze podle filmového modelu charakterizovat pomocí rovnice (4), kde k je koeficient přestupu hmoty v polarizační vrstvě [48].

$$c_{iM} = c_{iP} + (c_{iF} - c_{iP}) \times e^{(J/k)} \quad (4)$$

Koeficient přestupu hmoty pro turbulentní tok v tubulárních membránách z rovnice (4) může být vypočten pomocí Sherwoodova vztahu s Deisslerovou kolerací (rovnice (5)), kde je Reynoldsovo (Re), Schmidtovo (Sc) a Sherwoodovo (Sh) kritérium vyjádřeno rovnicemi (6), u je rychlost proudění nástřiku membránou, d_h je hydraulický průměr (v našem případě průměr tubulární membrány) a $D_{i\infty}$ je objemová difuze rozpuštěné látky i a μ a ρ je dynamická viskozita a hustota vodného roztoku [48].

$$Sh = 0,023 Re^{0,875} Sc^{0,25} \quad (5)$$

$$Re = \frac{u\rho d_h}{\eta}, Sc = \frac{\eta}{\rho D_{i\infty}} \text{ a } Sh = \frac{k d_h}{D_{i\infty}} \quad (6)$$

1.5.3 Transport látek membránou

Transport látek NF membránou (nebo také tok rozpouštědla membránou) se popisuje různými modely s rozdílnou představou o struktuře membrány (porézní, neporézní) [45].

Pro neporézní membrány se odvíjí od propustnosti materiálu membrány pro komponenty při aplikaci gradientu teploty, tlaku, koncentrace, příp. vlivem vnějšího silového pole. Základní model pro neporézní polymerní membrány je model rozpouštění-difuze, probíhající ve třech krocích. Nejprve sorpce komponenty na povrch membrány, difuze materiálem membrány a následně desorpce s povrchu druhé strany membrány [45].

Druhá skupina modelů zahrnuje i porozitu membrány a tím tyto modely respektují tzv. síťový jev. Příkladem takového modelu může být modifikovaný porézní model nebo modely založené na rozšířené Nernst-Planckově rovnici (DSPM, SEDE, atd.) [45].

Třetí skupinou jsou modely založené na nerovnovážné termodynamice. Tyto modely nepředpokládají žádné strukturní parametry membrány. Membránu považují za „černou skříňku“. Do této skupiny patří např. model Kedemové-Katchalského nebo model Spieglerův-Kedemové [45].

DSPM model pro nenabité látky

Donnanův sterický model (DSPM) vychází z představy porézního, homogenního a nabitého povrchu membrány. NF membrána je v tomto případě popsána jako svazek válcovitých trubiček – pórů (mající poloměr r_p a délku Δx , kdy jejich $\Delta x \gg r_p$) nebo jako svazek štěrbin s délkou Δx a poloviční šířkou r_p . Rejekce nenabité látky je dána pouze sterickým efektem. Poloměr r_p a poměr tloušťky k porozitě membrány ($\Delta x/A_k$) je možné popsat jako součást rovnice (7) [45, 48]:

$$R_{Mi} = 1 - \frac{c_{iP}}{c_{iM}} = 1 - \frac{\phi_i K_{i,c}}{1 - [(1 - \phi_i K_{i,c}) \times e^{-Pe}]} \quad (7)$$

kde Pecletovo kritérium (Pe) je definováno jako:

$$Pe = \frac{K_{i,c} J}{K_{i,d} D_{i,\infty}} \times \frac{\Delta x}{A_k} \quad (8)$$

a ϕ_i je sterický koeficient rozpuštěné látky i , $K_{i,d}$ a $K_{i,c}$ jsou koeficienty, vyjadřující zabránění prostupu látek membránou konvekcí a difuzí, A_k je porozita membrány a Δx je efektivní tloušťka membrány. Výrazy pro $K_{i,d}$ a $K_{i,c}$ jsou rozdílné pro různou geometrii pórů. Dechadilokem a Deenem byly pro tyto koeficienty odvozeny rovnice, které jsou vhodné pro celý rozsah poměru velikosti rozpuštěné látky i k velikosti pórů (λ_i) v rozsahu 0 – 1 (viz Tabulka 4) [48].

Porovnáním vypočtené rejekce R_{Mi} nenabité látky a hodnoty získané na základě změřené pozorované rejekce přepočítané filmovým modelem na skutečnou rejekci, je možné dopočítat velikost pórů membrány [48].

Poměr Δx k A_k může být vypočten z J_w pomocí Hagen-Poiseuilleových rovnic lišících se v závislosti na geometrii pórů. Rovnice (9) je určena pro válcovité póry a rovnice (10) je určena pro štěrbinové póry. P_w je permeabilita čisté vody [48].

$$J_w = P_w \Delta p = \frac{r_p^2}{8\eta \frac{\Delta x}{A_k}} \Delta p \quad (9)$$

$$J_w = P_w \Delta p = \frac{r_p^2}{3\eta \frac{\Delta x}{A_k}} \Delta p \quad (10)$$

Substitucí výrazu $\Delta x/A_k$ ve vztahu (8) rovnicemi závislých na geometrii pórů (rovnice (9) a (10)) a dosazením upraveného vztahu (8) do rovnice pro výpočet reálné rejekce (7), je možné vypočítat r_p . Dosazením r_p do rovnic (9) a (10) je možné dopočítat $\Delta x/A_k$ [48].

Tabulka 4 Rovnice pro výpočet sterických koeficientů pro konvekci a difuzi

Štěrbínovité póry	Válcovité póry
$\phi = 1 - \lambda_i$	$\phi = (1 - \lambda_i)^2$
$\lambda_i = \frac{r_{i,s}}{r_p}$	$\lambda_i = \frac{r_{i,s}}{r_p}$
Sterický koeficient pro difuzi $K_{i,d}$	
$K_{i,d} = \frac{H(\lambda_i)}{\phi_i}$	$K_{i,d} = \frac{H(\lambda_i)}{\phi_i}$
$H(\lambda_i) = 1 + \frac{9}{16}\lambda_i \ln \lambda_i - 1,19358\lambda_i + 0,4285\lambda_i^3 - 0,3192\lambda_i^4 + 0,08428\lambda_i^5$	$H(\lambda_i) = 1 + \frac{9}{8}\lambda_i \ln \lambda_i - 1,56034\lambda_i + 0,528155\lambda_i^2 + 1,91521\lambda_i^3 - 2,81903\lambda_i^4 + 0,270778\lambda_i^5 + 1,10115\lambda_i^6 - 0,435933\lambda_i^7$
Sterický koeficient pro konvekci $K_{i,c}$	
$K_{i,c} = \frac{W(\lambda_i)}{\phi_i}$	$K_{i,c} = \frac{1 + 3,867\lambda_i - 1,907\lambda_i^2 - 0,834\lambda_i^3}{1 + 1,867\lambda_i - 0,741\lambda_i^2}$
$W(\lambda_i) = 1 - 3,02\lambda_i^2 + 5,776\lambda_i^3 - 12,3675\lambda_i^4 + 18,9775\lambda_i^5 - 15,2185\lambda_i^6 + 4,8525\lambda_i^7$	

Spieglerův-Kedemové model

Pro výpočet rejekce léčiv lze využít Spieglerův-Kedemové model. V tomto modelu je transport rozpuštěné látky membránou vyjádřen jako součet difuzního a konvektivního toku. Hnací silou difuzního toku je koncentrační rozdíl a hnací silou konvektivního toku je aplikovaný tlakový rozdíl nad a pod membránou. Vlastní intenzitu lze popsat rovnicemi (11) a (12) [45]:

$$J_w = P_w(\Delta p - \sigma \Delta \pi) \tag{11}$$

$$J_s = P(c_{iM} - c_{iP}) + (1 - \sigma)J_w c \tag{12}$$

kde J_w je intenzita objemového toku čisté vody, J_s je intenzita molárního toku rozpuštěné látky, P je permeabilita membrány pro rozpuštěnou látku, σ je reflexní koeficient, c je hmotnostní koncentrace a $\Delta\pi$ je rozdíl osmotických tlaků mezi nástřikem a permeátem. Pokud je na obou stranách membrány vysoká koncentrace komponenty, je nutné rovnici (12) uvažovat v diferenciálním tvaru (viz rovnice (13)), kde $P' = P\Delta x$ je lokální permeabilita rozpuštěné látky (soli) [45].

$$J_s = -P' \left(\frac{dc}{dx} \right) + (1 - \sigma) J_w c \quad (13)$$

Po integraci rovnice (13) je možné získat vztah (14) pro výpočet skutečné rejekce přes celou tloušťku membrány [45].

$$R_{Mi} = 1 - \frac{c_P}{c_F} = \frac{\sigma \left[1 - \exp \left(-\frac{1 - \sigma}{P} J_w \right) \right]}{1 - \sigma \times \exp \left(-\frac{1 - \sigma}{P} J_w \right)} \quad (14)$$

Z rovnice (14) vyplývá, že rejekce roste s rostoucím průtokem permeátu a dosahuje limitní hodnoty reflexního koeficientu (σ) při nekonečně velkých průtocích. Reflexní koeficient σ charakterizuje konvektivní transport membránou, protože při nekonečně velkých průtocích může být difuzní tok zanedbán. Pokud koeficient σ dosáhne maximální hodnoty 1, znamená to, že transport hmoty konvekcí je úplně eliminován [45, 48].

Parametry vztahu (14) lze získat vyhodnocením experimentálních závislostí $R = f(J_w)$; parametr P_w vyhodnocením závislosti $J_w = f(\Delta p)$ pro čistou vodu, kdy rovnice (11) přechází na tvar rovnice (15) [45]:

$$J_w = P_w \Delta p \quad (15)$$

Přestože jsou k dispozici různé modely pro výpočet toku rozpouštědla membránou, stále platí, že pro určení chování konkrétní membrány při návrhu separačního zařízení je nutné provést experimenty s membránou a příslušnou separovanou látkou a určit procesní charakteristiky. Podkladem pro ně jsou laboratorní experimenty. Procesní charakteristiky jsou závislosti intenzity toku permeátu nebo součinitele rejekce na parametrech procesu, jako je např. doba trvání procesu (τ), režim proudění nástřiku (vyjádřený Reynoldsovým kritériem, Re), tlakový rozdíl nad a pod membránou (Δp) a koncentrace nástřiku (c_F) [45].

Intenzita toku permeátu s časem postupně klesá. Pokles je způsoben ucpáváním pórů membrány (částice mají srovnatelnou velikost s póry) nebo adsorpcí (interakce částic

mnohem menších, než je velikost pórů, s materiálem membrány) nebo koncentrační polarizací (kumulace částic při povrchu membrány v podobě vrstvy s relativně velkou koncentrací dané komponenty, která působí nižší propustnost pro separovanou kapalinu) [45].

Charakter (resp. rychlost) proudění nástríku ovlivňuje vznik a narušování filtračního koláče, stabilitu zpracovávaného systému a disipaci mechanické energie (ohřev nástríku při proudění). V případě, kdy při zvyšování rychlosti proudění nástríku nedochází k destabilizaci systému, roste intenzita toku permeátu [45].

Intenzita toku permeátu pro čisté rozpouštědlo je přímo úměrná tlakovému rozdílu (Δp) a nepřímo dynamické viskozitě (μ) a hydrodynamickému odporu membrány (R_M) (viz rovnice (16)) [45]:

$$J = \frac{\Delta p}{\mu \cdot R_M} \quad (16)$$

V případě disperzního systému je tok permeátu nejprve úměrný tlakovému rozdílu, i když směrnice je obvykle nižší než v případě čistého rozpouštědla. Intenzita toku permeátu roste až k limitní hodnotě. Dalším zvyšováním tlakového rozdílu je přírůstek průtoku úplně kompenzován odporem mezní vrstvy (vrstva kapaliny u povrchu membrány) a tok permeátu zůstává stejný. V případě, že disperzní systém obsahuje anorganické soli, roste jeho osmotický tlak. Pro získání permeátu musí být aplikovaný tlakový rozdíl vyšší, než je osmotický tlak systému. Tak např. osmotický tlak mořské vody (3,5 % soli) je 2,4 MPa a při jejím zkoncentrování na obsah solí 10 % vzroste dokonce na 9 MPa. Vliv osmotického tlaku se výrazně projevuje u NF a RO. Pro silný elektrolyt a ideální roztok oddělený polopropustnou přepážkou může být pro výpočet osmotického tlaku (π) použita van-Hoffova rovnice, kde c_i je látková koncentrace iontu, R je molární plynová konstanta a T je termodynamická teplota (viz rovnice (17)) [45]:

$$\pi = \sum_i c_i RT \quad (17)$$

Pro neideální roztoky se zavádí osmotický koeficient g , který je vyjádřen jako poměr skutečného a teoretického osmotického tlaku [45].

Se zvyšující se koncentrací komponenty v nástríku obvykle klesá intenzita toku permeátu s logaritmem koncentrace separované komponenty. Pokles je závislý na rychlosti proudění nástríku. Při vysokých rychlostech proudění má zvýšení koncentrace nízký vliv na snížení toku permeátu. Naopak je tomu při nízké rychlosti proudění nástríku, kdy zvýšení

koncentrace v nástříku způsobí výrazné snížení toku permeátu. V případě, že koncentrace rozpuštěné látky dosáhne na povrchu membrány velmi vysoké koncentrace, může na ní vzniknout gelová vrstva nebo filtrační koláč, a proto je zahuštění komponent v nástříku možné jen do určité koncentrace [45].

Kromě základních procesních charakteristik popsanych výše, je intenzita toku závislá na dalších parametrech, jako je teplota nástříku, velikost a charakter částic a vzájemné interakce částic s materiálem membrány [45].

Zvýšení teploty nástříku obvykle působí zvýšení toku permeátu, nicméně nesmí být překročena tzv. kritická pracovní teplota membrány. Velikost separovaných částic a interakce částic disperzního systému s povrchem membrány se však spíše týkají MF [45].

Pro uskutečnění separace musí být membrána umístěna v tzv. membránovém modulu (pouzdru). Na moduly jsou z hlediska ekonomičnosti a technické přijatelnosti provozu kladeny následující požadavky: modul umožňuje co největší specifickou plochu membrány, umožňuje takové hydrodynamické podmínky, které zajišťují co nejmenší vliv koncentrační polarizace u povrchu membrány, má nízkou náchylnost k znečištění, vykazuje možnost snadného čištění, má nízkou cenu a v neposlední řadě umožňuje jednoduchou výměnu membrán [45].

Hlavní typy membránových modulů vycházejí ze základní konfigurace membrán (plošné nebo tubulární). Deskové a spirálově vinuté moduly obsahují plošné membrány, moduly trubkové, kapilární a moduly s dutými vlákny obsahují tubulární membrány. Jednotlivé tubulární moduly se rozlišují podle velikosti průměru membrán. Ty mohou být od 20 mm (trubkové) až po méně než 1,5 mm (dutá vlákna) [45].

Dalšími důležitými součástmi membránového zařízení jsou (kromě membránového modulu) ještě čerpadla, nádrž na nástřík a permeát, výměník tepla pro chlazení nebo ohřev nástříku, potrubí a armatury, měřicí zařízení, jako jsou tlakoměry, teploměry, průtokoměry, atd. Membránové zařízení je možné provozovat třemi způsoby. Kontinuální způsob představuje kontinuální doplňování nástříku, tj. bez vracení retentátu. Výhodou tohoto uspořádání je minimální vznik filtračního koláče na membráně. Druhý způsob je vsádkový, při kterém se veškerý retentát vrací zpět, a tak dojde velmi rychle k zahuštění výchozí suroviny. Třetím způsobem je tzv. semikontinuální uspořádání, u kterého se pouze část retentátu vrací zpět. Tím je možné zabezpečit vhodné hydrodynamické podmínky nad membránou bez ohledu na průtok nástříku a výtěžek permeátu [45].

1.5.4 Odstraňování léčiv z OV pomocí membránových procesů

Pro odstraňování léčiv z OV jsou z TMP vhodné RO a NF. Přestože NF není schopná zabránit průchodu veškerým látkám, má nižší energetické náklady, což jí v tomto ohledu činí zajímavější, než tomu je v případě RO [4].

Zadržování léčiv pomocí NF je způsobováno více faktory. Obecně záleží na fyzikálně-chemických vlastnostech daného léčiva, vlastnostech membrány, interakce mezi membránou a rozpuštěnými látkami a v neposlední řadě i na matrici [18].

Konkrétně má na rejekci významný vliv adsorpce, velikost pórů membrány a částic (sítový efekt) a elektrický náboj membrány způsobující odpuzování stejně nabitých organických látek (léčiv). Pro širší pochopení zadržení léčiv v nástřiku je vhodné zahrnout vlastnosti rozpuštěných látek, parametry membrán, složení nástřiku a operační podmínky [4, 18].

Mechanismus adsorpce souvisí s interakcemi mezi rozpuštěnou látkou a membránou. Hydrofobnost membrány je obvykle popsána jejím stykovým úhlem, zatímco hydrofobnost rozpuštěných látek může být vyjádřena $\log K_{ow}$ nebo $\log D$. K_{ow} je definována jako poměr koncentrace složky v oktanolu k její koncentraci ve vodě. D je definována jako poměr koncentrace všech neionizovaných a ionizovaných molekul dané složky v oktanolu ke koncentraci odpovídajícímu druhu molekul složky ve vodě. Molekuly s $\log K_{ow} > 2$ nebo $\log D > 2,6$, jsou považovány za hydrofobní. Na základě tohoto měřítka může být IBU a DIC klasifikován jako středně hydrofobní (jejich $\log K_{ow}$ a $\log D$ jsou popsány v kapitole 1.2.2 a 1.2.3 a v Tabulce 6). Čím více je látka hydrofobní, tím lépe se sorbuje. Pokud je hydrofobní látka elektrostaticky neutrální, sorbuje se lépe, než hydrofobní látka nabitá. Pro hydrofobní látky je typická jejich vyšší rejekce na počátku procesu. Postupně dochází k zaplnění adsorpční kapacity membrány a snižování jejich rejekce až do dosažení rovnováhy. Adsorpce hydrofobních látek probíhá rychle a není považována za rychlost určující krok v separačním procesu. Přesto jsou s adsorpcí spojeny i některé nevýhody, na kterých se částečně podílí, tj. ovlivňuje tvorbu filtračního koláče na membráně a zmenšování velikosti pórů, čímž způsobuje snižování výkonu membrány a přispívá k snížení její životnosti [4, 18].

Sítový mechanismus vychází ze sterického efektu, kdy separace probíhá na základě poměru velikosti pórů a částic, typicky pro komponenty větší, než jsou póry. Velikost částic může být odhadnuta podle molekulové hmotnosti nebo molekulární struktury. U hydrofilních a nenabitých částic roste jejich rejekce s jejich rostoucí molekulovou hmotností. Rejekce může být pro menší látky zvýšena přirozeně jejich adsorpcí v pórech nebo přidávkem

(přítomností) takové organické látky, která se na ni sorbuje nebo vytváří vazby s danou látkou, a tak zvyšuje její molekulovou hmotnost [4, 18].

Elektrostatické odpuzivé síly mají velký vliv na separaci iontů. Při separaci iontů je důležitý jejich relativní náboj, následně pak velikost. Při pokusech s neutrálními a záporně nabitými částicemi stejné molekulové hmotnosti byla zjištěna mnohem větší rejekce právě pro nabitě částice. Naopak byl pro některé nenabitě molekuly s vysokým dipólovým momentem pozorován zajímavý jev, kdy se vlivem elektrostatických sil v membráně molekula „narovná“, a tak póry membrány procházela o to jednodušeji. Náboj částice je dán pH prostředí a hodnotou její pK_a . Diklofenak a IBU mají pK_a kolem 4,5, v neutrálním pH se tedy chovají jako slabé kyseliny, jsou záporně nabitě, a díky tomu mohou být NF relativně účinně zadrženy. Náboj membrány lze stanovit měřením zeta-potenciálu a následným vyhodnocením je pak určen tzv. izoelektrický bod [4, 18, 49].

Pokusy o eliminaci IBU a DIC z vod pomocí nanofiltrace jsou prováděny cca patnáct let. Ibuprofen byl odstraňován v rozsahu koncentrací $0,037 - 1500 \mu\text{g l}^{-1}$ a DIC v rozsahu $0,029 - 100 \mu\text{g l}^{-1}$ prostřednictvím různých typů komerčních membrán (TS 80, NF 90, NF 270, HL, jejich vlastnosti jsou popsány v Tabulce 5), s účinností rejekce pro IBU od 32,9 % do 99,9 % a pro DIC od 48,9 do 99,9 %. Nejčastěji zjištěný součinitel rejekce byl pro obě léčiva vyšší než 90 % [18].

Röhricht a kol. [50] odstraňovali DIC z odpadních vod pomocí ponorných deskových modulů, ve kterých byl použit dvojí typ NF membrán (hydrofilní polyethersulfon, rejekce pro 0,5% roztok NaCl je 5 – 15 % a 25 – 35 %; pro 0,5% roztok Na_2SO_4 je 30 – 60 % a 85 – 95 % a *cut-off* pro 4% roztok laktózy 25 – 54 % a 70 – 90 % při 40 bar). Pracovní tlak byl zvolen relativně nízký, 0,3 a 0,7 bar, aby membrány zadržovaly co nejméně solí a nevznikal tak solný koncentrát. Diklofenak byl zachycen přibližně z 60 % oběma typy membrán, což nemusí být podle autorů dostatečné na to, aby se tento způsob prosadil jako pokročilý způsob čištění OV na ČOV. Analytickou metodou pro stanovení léčiv byla HPLC, kolona Zorbax Eclipse XDB-C18 ($4,6 \times 150 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) s DAD detektorem ($\lambda = 220 \text{ nm}$), mobilními fázemi (MOB) A: acetonitril a B: 25mM dihydrogenfosforečnan draselný, průtokem 1 ml min^{-1} , gradientová eluce. Teplota kolony byla udržovaná při $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabulka 5 Vlastnosti vybraných typů komerčních NF membrán [18, 51, 52]

Membrána	Výrobce	max. teplota [°C]	vhodné pH	velikost pórů [nm]	cut-off [Da]	rejekce na soli [%]		složení aktivní vrstvy
						MgSO ₄	NaCl	
NF 270	Dow Filmtec	45	2 – 11	0,84	155 – 400	97	58	TF polyamid
NF 90	Dow Filmtec	45	3 – 10	0,68	100 – 400	97	85	TF polyamid
TS 80	TriSep	45	2 – 11	0,8	< 200	96,3	30	polyamid
CK	GE Osmonics	30	5 – 6,5		2000	94		acetát celulózy
DK	GE Osmonics	50	3 – 9		200	98		polyamid
DL	GE Osmonics	90	1 – 11		150 – 300	96		zesíťený aromatický polyamid
HL	GE Osmonics	50	3 – 9	0,96	150 – 300	98	60	zesíťený aromatický polyamid

Verliefde a kol. [53] ve své práci posuzovali vliv typu předúpravy povrchové vody na následnou rejekci léčiv pomocí NF membrán. K analýze byla použita neupravená povrchová voda, povrchová voda předčištěná na fluidním anexu a povrchová voda upravená pomocí UF. Mezi zkoumanými léčivy byl zahrnut IBU a DIC. Ve studii byly použity dvě plošné NF membrány, TS 80 a HL. Teplota nástřiku byla udržovaná při 20 °C a aplikovaný tlakový rozdíl byl 5 bar. Rejekce IBU a DIC v ultračisté vodě byla vyšší na membráně TS 80 (obě léčiva zachycena z cca 88 %) proti HL (IBU zachycen z cca 84 % a DIC z přibližně 87 %). Hlavním mechanismem rejekce pro obě léčiva byly pravděpodobně elektrické odpudivé síly. Zanášení membrány u obou léčiv působilo zvýšení jejich rejekce, nejvýrazněji u upravené povrchové vody na anexu. U zanešené membrány HL došlo ke zvýšení rejekce přibližně o 9 % a u zanešené membrány TS 80 přibližně o 7 %. Zvýšení rejekce záporně nabitého IBU a DIC bylo vyvoláno elektrostatickými odpudivými silami negativně nabitých koloidních částic, které na membráně vytvořily filtrační koláč, a tak pravděpodobně zabránily přístupu léčiv k membráně. Koncentrace DIC a IBU byly stanoveny pomocí LCMS.

Yangali-Quintanilla a kol. [54] porovnávali rejekci IBU na dvou nezanešených a zanešených NF membránách. TOC bylo v modelové vodě simulováno pomocí alginátu sodného. Modelový vzorek nebyl před NF nijak upravován, byl rovnou přiveden na membránu NF 90 nebo na membránu NF 200 (výrobce Dow-Filmtec, polyamid, rejekce na NaCl 65 %, na MgSO₄ 96 %, s cut-off 300 Da [18]). Měření bylo provedeno při 20 °C, pH = 7

a tlakovém rozdílu 2,76 a 4,82 bar. Rejekce IBU na nezanešené membráně NF 200 byla 93,8 % a na NF 90 99 %. Na zanešené membráně NF 200 rejekce IBU klesla na 87,5 % a na membráně NF 90 na 97,1 %. Podle autorů je rejekce IBU proti jiným posuzovaným léčivům stabilní jak u zanešených, tak i nezanešených membrán. Hlavním mechanismem rejekce bylo patrně zabránění adsorpce IBU na povrch membrány díky jejímu zápornému náboji. Také bylo zjištěno, že IBU měl nízkou afinitu k polymeru membrány (relativně nízký log D). Vyšší rejekce membrány NF 90 proti membráně NF 200 bylo dosaženo i díky síťovému efektu (její *cut-off* cca 200 Da). Koncentrace IBU byly zjištěny GCMS [54].

Acero a kol. [51] zkoumali rejekci osmi léčiv v modelovém roztoku s použitím ultračisté vody a v městské OV zpracované ČOV se sekundárním procesem. K dispozici byly tři plošné NF membrány, CK, DK a HL (viz Tabulka 5). Součinitel rejekce DIC na NF membránách pro ultračistou vodu byl přes 90 % při pH = 3, 5, 7 i 9, tlakovém rozdílu 30 bar a 20 °C. Součinitel rejekce DIC pro OV byl přes 90 % při stejném aplikovaném pH jako v předchozím experimentu, kromě rejekce na membráně z CA, u které byl součinitel rejekce nižší (83 %) pouze při pH = 5. Experimenty s OV byly provedeny při teplotě 20 °C a tlakovém rozdílu 30 bar. Bylo zjištěno, že hlavními retenčními mechanismy NF membrán byly síťový a elektrický efekt, zatímco adsorpce se především uplatnila u UF membrán, které byly v rámci experimentu také zkoumány. Z výsledků měření OV je patrné, že pH vody nemělo na vypočtenou rejekci významný vliv. Tak např. součinitel rejekce byl na CA membráně při pH = 3 97,6 %. Koncentrace DIC byly stanoveny pomocí HPLC. Pro tyto účely byla použita kolona Phenomenex C18 (150 × 3 mm), MOB byly acetonitril (fáze A) a vodný roztok kyseliny mravenčí $2,5 \times 10^{-2}$ M (fáze B), s nastavenou gradientovou elucí od 10 – 100 % (A) během 40 min.

Beier a kol [55] popisují ve své práci aplikaci NF na odpadní vodu z nemocnice předčištěnou v MBR s vestavěnými UF membránami. Účinnost odstranění byla zkoumána pro IBU, DIC a další biologicky aktivní látky. Autory [55] bylo zjištěno, že samostatný MBR instalovaný k čištění nemocničních vod, není dostatečný pro odstranění zkoumaných léčiv. V experimentu byla použita spirálově vinutá NF membrána SC-3100, Toray (s *cut-off* 300 – 400 Da, acetát celulózy [56]). NF byla provedena při tlakovém rozdílu 7 bar a 20 °C. Zjištěný součinitel rejekce IBU byl 85,7 % a DIC 99,7 %. Hlavním mechanismem jejich odstranění bylo elektrostatické odpuzování na negativně nabitě membráně; svoji roli částečně sehrál i síťový efekt. Podle autorů bylo zachycení zkoumané skupiny léčiv pomocí NF nedostatečné a pro dostatečné vyčištění filtrátu z MBR je vhodnější použití RO. Koncentrace analytů byly určeny pomocí LCMS.

Gur-Reznik a kol. [49] se zaměřili na prozkoumání vlivu ročního období, přítomnosti organických látek, iontové síly a dalších parametrů na rejekci dvou léčiv separovaných NF a RO membránami. Analyzován byl modelový vzorek a vzorek OV s obsahem léčiv. Vzorek OV byl odebírán z kontinuálního MBR, s vestavěnými UF membránami, do kterého přitékaly surové splaškové vody (po sedimentaci). OV z MBR byly použity pro posouzení vlivu organické matrice. V této studii byly k výzkumu použity dvě plošné TF kompozitní membrány – NF 90 a NF 270 (viz Tabulka 5). Výzkumy prokázaly značný vliv organické matrice (interakce přírodních organických látek, rozpuštěných mikrobiálních produktů přítomných v OV s léčivy) a ročního období (na jaře a v létě lepší rejekce léčiv z OV, než v zimě) na středně hydrofobní léčivo s relativně nízkou molekulovou hmotností (238 g mol^{-1}), v případě membrány NF 270, která byla pro experimenty vybrána. Důležitou roli při zachycení tohoto neutrálního léčiva podle autorů [49] sehrála právě interakce s organickou matricí. Účinnost zachycení druhého nízkohydrofobního léčiva, s relativně vysokou molekulovou hmotností (dle formy $670 - 800 \text{ g mol}^{-1}$), byla relativně vysoká. Na obou membránách byl součinitel rejekce vyšší než 95 %, téměř nezávisle na testované koncentraci nebo přítomných organických látkách. Autoři [49] se domnívají, že pro zachycení tohoto léčiva se především uplatnil síťový efekt. Koncentrace léčiv byly stanoveny pomocí LCMS.

Vergili [57] ve své práci popisuje odstraňování léčiv, jmenovitě DIC, IBU a karbamezapinu, z pitné vody. Obsah léčiv v pitné vodě upravené z vody povrchové, byl pod detekčním limitem ($<5 \text{ ng l}^{-1}$). V experimentu byla použita plošná NF membrána – FM NP010 (hydrofobní polyethersulfon, s *cut-off* 1000 Da, s izoelektrickým bodem při pH cca 4 a negativním nábojem). Součinitel rejekce této membrány na IBU a DIC byl 55 – 61 % při tlakovém rozdílu 12 bar, pH = 8 a 25 °C. Mechanismus zádrže léčiv byl pravděpodobně způsoben hlavně adsorpcí, méně pak elektrickým odpuzováním, které bylo sníženo přítomností Ca^{2+} a Mg^{2+} ionty v pitné vodě. Střední hodnota zádrže pro tyto látky byla velmi pravděpodobně způsobena malými rozměry testovaných léčiv (viz molekulové hmotnosti IBU a DIC vs. *cut-off* membrány). Střední účinnost zachycení a velice dobré odstranění zbytkových organických látek (cca z 90 %) podle autora [57] činí tuto membránu zajímavou pro čištění povrchových vod. Jako analytická metoda byla použita LCMS.

Narbaitz a kol. [19] se zaměřili na porovnání rejekce IBU, karbamezapinu a sulfametazinu laboratorně připravenou NF membránou z modifikovaného CA s komerční membránou NF 270 (viz Tabulka 5). K analýze byly použity vzorky pitné vody upravené z povrchových vod. Do vzorků pitné vody bylo přidáváno definované množství léčiva (výsledná koncentrace léčiva v nástřiku byla řádově jednotky $\mu\text{g l}^{-1}$). Celková rejekce IBU

ve vzorcích pitných vod byla u membrány NF 270 přibližně 75 % a u modifikované CA membrány přibližně 27 % při tlaku 6,9 bar ve vzorku pitné vody z první stanice. Ve vzorku pitné vody z druhé stanice byla rejekce IBU u membrány NF 270 90,5 % a u modifikované CA membrány 80,4 % při tlaku 6,9 bar. Mechanismus odstranění IBU, který je podle autorů [19] nejvíce přichází v úvahu, je sorpce IBU na organické látky přítomné ve vodě. Koncentrace léčiv byly stanoveny pomocí LCMS.

Azaïs a kol. [58] ve své studii zjišťovali možnosti použití NF membrán pro eliminaci léčiv z OV. V experimentu byla zvolena čtyři hydrofilní léčiva s různou molekulovou hmotností ($151 - 632 \text{ g mol}^{-1}$), aby se omezila jejich adsorpce na membránu, a tak byl jejich hlavním mechanismem rejekce síťový efekt. Použité NF membrány byly NF 270 (polypiperazin, rejekce na roztok NaCl 56 %, na roztok MgSO_4 96 % a s *cut-off* 220 Da) a membrána NF 90 (viz Tabulka 5). Vzorek OV byl odebrán z MBR s vestavěnými UF membránami, který byl před vstupem do NF aparatury zfiltrován. Bylo zjištěno, že mezi organickými látkami, které se nejvíce sorbovaly na membránu, byly polysacharidy a huminové kyseliny. Společně způsobovaly zanášení membrány a snížení toku permeátu, více u membrány NF 90, méně u NF 270. Následně byl na membránu přiveden nástřik léčiv rozpuštěných v ultračisté vodě. Rejekce léčiv byla nižší na zanešených membránách, u NF 90 nepatrně a u NF 270 až o 25 %, oproti nezaneseným membránám. U membrány NF 90 byla rejekce přes 90 % a u membrány NF 270 byla průměrná rejekce 75 % (kromě acetaminofenu, 151 g mol^{-1} , rejekce přibližně 30 %) při 20 °C, pH = 7 a tlakovém rozdílu 8 bar. Dále byly posuzovány interakce mezi rozpuštěnými látkami a jejich vlivem na rejekci léčiv v porovnání s rejekcí léčiv v ultračisté vodě. Bylo zjištěno, že interakce s makromolekulami působí zvýšení rejekce léčiv. U membrány NF 90 méně významné, průměrně na cca 96 %, u membrány NF 270 více výrazné, průměrně na cca 88 % (kromě acetaminofenu, rejekce zvýšena na cca 48 %) při 20 °C, pH = 7 a tlakovém rozdílu 8 bar. Analytickou metodou pro určení koncentrací léčiv byla LCMS.

Sadmani a kol. [59] ve své práci popsali vliv organických látek přítomných v přírodní vodě na rejekci sedmnácti biologicky aktivních látek s molekulovou hmotností menší než 300 g mol^{-1} . Vzorek vody byl odebrán z jezera Ontario a zpracován UF, aby z něho byly odstraněny koloidní a suspendované částice, a mohl tak být vyhodnocen vliv rozpuštěných organických látek na rejekci léčiv. V experimentu pro přírodní vodu byla použita plošná polyamidová membrána NE 4040-70, od výrobce Saehan-CSM Membranes (průměrná rejekce NaCl cca 70 %, průměrná rejekce MgSO_4 cca 97 % a s *cut-off* 350 Da, záporně nabitá

při pH = 8, hydrofobní)⁶ a byl prováděn při 20 °C, pH 8,1 a tlakovém rozdílu 4,1 bar. Autory [59] bylo zjištěno, že rozpuštěné organické látky nejlépe reagují s elektricky neutrálními léčivými a působí zvyšování jejich rejekce. Protože je DIC v roztoku nabitý a hydrofobní, jeho rejekce byla v ultračisté vodě a přírodní vodě s přidávkou kationtů vyšší než 90 %, zatímco v neupravené přírodní vodě byla přibližně 87 %. Díky hydrofobnosti DIC byla autory očekávána jeho adsorpce na organické látky v přírodní vodě, ale experiment tuto domněnku nepotvrdil. Diklofenak se pravděpodobně sorboval na materiál membrány a vznik vrstvy organických látek na povrchu membrány následně zabránil jeho zpětné difuzi do zásobního roztoku, což mělo za následek postupné zvýšení jeho koncentrace na povrchu membrány a snížení jeho rejekce. Pro stanovení koncentrací léčiv byla použita LCMS.

Wang a kol. [60] se zaměřili na porovnání experimentálně zjištěné rejekce laboratorně připraveného vzorku vody s obsahem čtyřiceti biologicky aktivních látek s modelem DSPM&DE (model pro předpověď účinnosti rejekce). Pro vyhodnocení rejekce byl použit modelový směsný vzorek, který obsahoval vstupní koncentraci DIC 20 µg l⁻¹ (v přítomnosti 10 mmol l⁻¹ NaCl jako elektrolytu). Experiment byl prováděn při teplotě 25 °C, pH 6,5 a tlaku 0,6 – 4,2 bar. Použitou membránou byla HL (viz Tabulka 5). Experimentálně určená rejekce DIC byla již při nízkých tlacích (intenzitě toku permeátu) vyšší než 80 %. Hlavním mechanismem zachycení DIC byl pravděpodobně jeho negativní náboj. Pro stanovení koncentrací bylo použito LCMS.

Vona a kol. [61] ve své práci posuzovali různé techniky k odstranění léčiv z modelových OV. Posuzované techniky byly: UF, NF, adsorpce na aktivní uhlí a oxidace pomocí ClO₂ a pak také jejich kombinace (UF+ NF, atd.). Byly připraveny dva typy OV. První typ OV byl složen pouze z deionizované vody a léčiv, druhý typ OV navíc obsahoval hovězí sérový albumin. Třetím typem OV byla komunální OV odebraná na ČOV po sekundárním čištění. Pro NF byla použita spirálově vinutá polyamidová membrána ESNA1-LF2-2540 (výrobce Nitto-Denko, rejekce na CaCl₂ 90 %, *cut-off* 100 – 300 Da [52])⁷. S touto membránou byla provedena NF prvního typu OV při 16,5 °C a tlakovém rozdílu 15 bar. Při pH = 6,1 byla rejekce IBU 80,51 % a DIC 66,91 %, zatímco při pH = 8,5 došlo ke zvýšení rejekce IBU na 91,38 % a DIC na 76,45 %. Zajímavé byly i výsledky dosažené kombinací UF + NF. UF membrána byla z polyethersulfonu (PES, lipofilní povaha) s *cut-off* 3000 Da a předčištění na ní bylo provedeno při 20 °C a tlakovém rozdílu 1,5 bar. Pro druhý

⁶ Viz oficiální web výrobce: <http://www.lenntech.com/products/CSM-Saehan-Membranes/NE-4040-70/NE-4040-70/index.html>

⁷ Viz dokument <http://membranes.com/wp-content/uploads/2017/03/ESNA1-LF2-LD-4040.pdf>

typ OV bylo kombinací UF a NF dosažena rejekce IBU 95,18 % a DIC dokonce 98,14 %. U reálné OV (třetí typ OV) bylo kombinací UF a NF dosažena rejekce IBU 87,18 % a DIC 82,99 %. Podle autorů [61] byl hlavním mechanismem zadržení DIC a IBU na UF membráně (i přes její vyšší *cut-off*) adsorpce, zatímco u NF membrány se především jednalo o elektrostatické odpuzování a částečně i síťový efekt. Zvláště významné byly interakce s hovězím albuminem, které způsobily zvýšení rejekce u druhého typu OV. Na druhé straně však v reálné OV interakce s organickými látkami způsobily u obou léčiv mírné snížení rejekce. Použitou analytickou metodou byla LCMS [61].

Aristizábal-Ciro a kol. [62] porovnávali účinnost odstranění DIC, IBU a karbamezapinu z pitné vody pomocí tří NF membrán (AFC 80, AFC 40 a AFC 30). Vlastnosti membrán AFC 80 a AFC 40 jsou popsány v Tabulce 7; membrána AFC 30 má aromatickou polyamidovou aktivní vrstvu, velikost pórů 0,51 nm, negativní náboj a rejekci CaCl_2 75 % [63]. Experiment byl proveden při teplotě 30 °C a pH přibližně 8. Byl zkoumán vliv tlakového rozdílu v rozmezí od 10 do 50 bar na rejekci léčiv. Rejekce DIC byla v celém tlakovém intervalu u membrán AFC 80 a AFC 40 více méně neměnná (cca 100 % a > 95 %), pouze u membrány AFC 30 byl pozorovatelný snižující se trend rejekce od 30 bar z cca 96 % na cca 94,5 % při 50 bar. Rejekce IBU byla v celém tlakovém intervalu u membrány AFC 80 více méně neměnná (cca 99 %). U membrány AFC 40 v porovnání s membránou AFC 30 byl pozorovatelný mírně se snižující trend rejekce od 30 bar z cca 96 % na 94 % při 50 bar. U membrány AFC 30 bylo však pozorováno mírné snížení rejekce již při 20 bar (z 96 % klesla na cca 95 %) a pak druhé mírné snížení při 50 bar (pokles na cca 93 %). Podle autorů [62] byly převládajícími mechanismy rejekce IBU a DIC na membránách AFC 40 a AFC 30 elektrostatické odpuzování v kombinaci se síťovým efektem. U neutrální membrány AFC 80 byl hlavním mechanismem zádrže IBU a DIC síťový efekt. Koncentrace analytů byly určeny pomocí LCMS [62].

Na základě uvedených publikovaných prací může být eliminace IBU a DIC z vod pomocí nanofiltrace považována za velmi aktuální a směřuje k využití membrán pro čištění OV. Pro jejich využití na úpravách pitných vod z vod povrchových nebo na ČOV bylo provedeno mnoho pokusů s povrchovými a OV. Nanofiltrace vzorků byla obvykle provedena na komerčně dostupných membránách (některé z nich jsou popsány v Tabulce 5), u kterých se autoři zaměřili na studium různých provozních vlivů na rejekci léčiv. Mezi zkoumanými vlivy byly například volba NF membrány (její *cut-off*), vliv tlakového rozdílu používaného při separaci (velmi nízký), pH, vliv zanášení membrány látkami běžně přítomnými v povrchových a OV, vliv předřazených technologií (např. kombinace s MBR), nebo dokonce

sezónních podmínek. Membrány obecně vykazovaly pro obě léčiva vysoké součinitele rejekce (vyšší než 80 %), kromě membrán, které měly *cut-off* mnohonásobně větší, než je molekulová hmotnost IBU a DIC, a které vykazovaly součinitele rejekce pro obě léčiva vyšší než 60 %. Hlavními mechanismy, které vedly k zachycení IBU a DIC na membránách, byly elektrický a síťový efekt.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Na základě provedené rešerše byla pro praktickou část zvolena dvě léčiva, IBU a DIC. Volba těchto léčiv byla provedena s ohledem na jejich velikou oblíbenost společností, která je hojně užívá pro úlevu od bolesti, a také kvůli jejich běžnému výskytu v OV. Pro jejich odstranění z modelových vzorků OV byly zvoleny dvě NF membrány, AFC 40 a AFC 80.

2.1 Použité chemikálie a standardy

2.1.1 Chemikálie

- Demineralizovaná voda, vodivost 2 – 8 μScm^{-2} (dále „demi voda“)
- Acetonitril HiPerSolv CHROMANORM pro LC, VWR International, ČR
- Metanol HiPerSolv CHROMANORM pro LC, VWR International, ČR
- 85% kyselina mravenčí, Lachema, ČR
- 35% kyselina chlorovodíková, Penta, ČR
- Hydroxid sodný p.a., Penta, ČR
- Chlorid sodný p.a., Lach-Ner, ČR
- D-glukóza monohydrát p.a., Lach-Ner, ČR
- 98% triethylenglykol, Carl Roth GmbH, G
- Glycerin bezvodý p.a., Lach-Ner, ČR
- Diclofenac AL Retarded – tablety s prodlouženým uvolňováním léčiva, jedna tableta obsahuje 100 mg sodné soli diklofenaku, ALIUD® PHARMA GmbH, G
- Ibuprofen Dr.Max 400 mg – potahované tablety, jedna tableta obsahuje 400 mg ibuprofenu, Dr. Max Pharma Ltd, GB

2.1.2 Standardy

- Diklofenak sodná sůl, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D (viz Tabulka 6)
- (\pm) Ibuprofen (70280; > 99%), Cayman Chemical Company, USA (viz Tabulka 6)

Tabulka 6 Charakteristiky zkoumaných léčiv

Léčivo	Molekulová hmotnost [g mol^{-1}]	$\log K_{ow}$	$\log D$	pK_a	Náboj při pH 7	Dipólový moment	$D_{i,\infty}$ [$\times 10^{-9}$ m 2 s $^{-1}$] sodných solí léčiv	$r_{i,s}$ [nm] sodných solí léčiv
zdroj:	[18]	[18]	[18]	[18]	[18]	[18]	[64, 65]	[66]
diklofenak	296,15	4,51	1,59	4,08	záporný	0,96	0,76	0,321
ibuprofen	206,28	3,97	1,44	4,47	záporný	1,8	0,57	0,432

2.2 Nanofiltrační membrány

V experimentech byly použity tubulární NF membrány AFC 40 a AFC 80 od výrobce PCI Membrane, PL. Membrány mají vnitřní průměr 1,25 cm, délku 30 cm a efektivní separační plochu 240 cm². Důležité charakteristiky membrán jsou shrnuty v Tabulce 7.

Tabulka 7 Charakteristiky zvolených membrán

Membrána	Výrobce	Max. teplota [°C]	pH	Velikost pórů [nm]	cut-off [Da]	Rejekce na soli [%]		Složení aktivní vrstvy
						CaCl ₂	NaCl	
zdroj:		[63]	[63]	[62, 67]	[68]	[63, 68]	[67]	[63, 67]
AFC 40	PCI Membrane	60	1,5 - 9,5	0,44 - 0,53	300	40 - 60	60	TF aromatický polyamid
AFC 80	PCI Membrane	70	1,5 - 10,5	0,26 - 0,38	< 200	-	80	TF aromatický polyamid

2.3 Experimentální zařízení a pracovní postupy

2.3.1 Příprava nástříků

Pro zjištění velikosti pórů byly připraveny nástříky s obsahem elektricky neutrálních látek (glukóza, triethylenglykol a glycerin). Pro měření byly vždy připraveny dva roztoky pro každou neutrální látku, kde první byl určen k propláchnutí aparatury a druhý (pracovní) k získání experimentálních dat. Objem proplachovacího nástříku byl 5 l s koncentrací nenabitě látky 500 mg l⁻¹. Objem pracovního nástříku byl 10 l s koncentrací nenabitě látky 500 mg l⁻¹. Roztoky byly připraveny odvážením 2,75 g D-glukózy monohydrátu do 5 l a 5,5 g D-glukózy monohydrátu do 10 l, 2,5 g triethylenglykolu do 5 l a 5 g triethylenglykolu do 10 l, 2,5 g glycerinu do 5 l a 5 g glycerinu do 10 l demi vody. Všechny chemikálie byly naváženy na předvážkách EW150-3M, KERN&Sohn GmbH, G.

Zásobní roztok DIC byl připraven tak, že dvě jemně rozetřené tablety Diclofenac AL retarded byly kvantitativně převedeny do kádinky a rozpuštěny přibližně ve 400 ml demi vody. Kádinka byla umístěna na 15 min do ultrazvukové lázně DT 156, BANDELIN electronic, G. Po vyjmutí z ultrazvukové lázně byl roztok zfiltrován přes filtr ze skleněných vláken Glass microfibre filter paper, Fisher Scientific, G (velikost pórů 0,7 μm, aplikovaný tlak přibližně 0,5 bar). Filtrát byl kvantitativně převeden do 10 l demi vody.

Protože je IBU (R-COOH) špatně rozpustný v demi vodě, byla připravena jeho sodná sůl (R-COONa) reakcí s vodným roztokem NaOH. Zásobní roztok IBU byl připraven rozetřením půl tablety Ibuprofen Dr.Max v hmoždíři. Do hmoždíře k jemně rozetřené tabletě bylo přidáno 4,5 ml roztoku NaOH o koncentraci 10 g l⁻¹ a roztok byl kvantitativně převeden do kádinky. Následně bylo do hmoždíře přidáno dalších 1,5 ml stejného roztoku NaOH

(celkem bylo přidáno 6 ml roztoku NaOH, 3,9 ml vyplývá ze stechiometrie a zbývající množství je nadbytek, se kterým případně reagují další doprovodné složky z tablety – viz rovnice (18)) a roztok byl kvantitativně přidán k prvnímu podílu. Roztok v kádince byl doplněn přibližně na 400 ml demi vodou. Kádinka byla umístěna na 15 min do ultrazvukové lázně. Po vyjmutí z ultrazvukové lázně byl roztok zfiltrován přes filtr ze skleněných vláken (velikost pórů 0,7 μm , aplikovaný tlak přibližně 0,5 bar). Filtrát byl kvantitativně převeden do 10 l demi vody.



200 mg ibuprofenu ($M = 206,28 \text{ g mol}^{-1}$) v tabletě = $9,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$

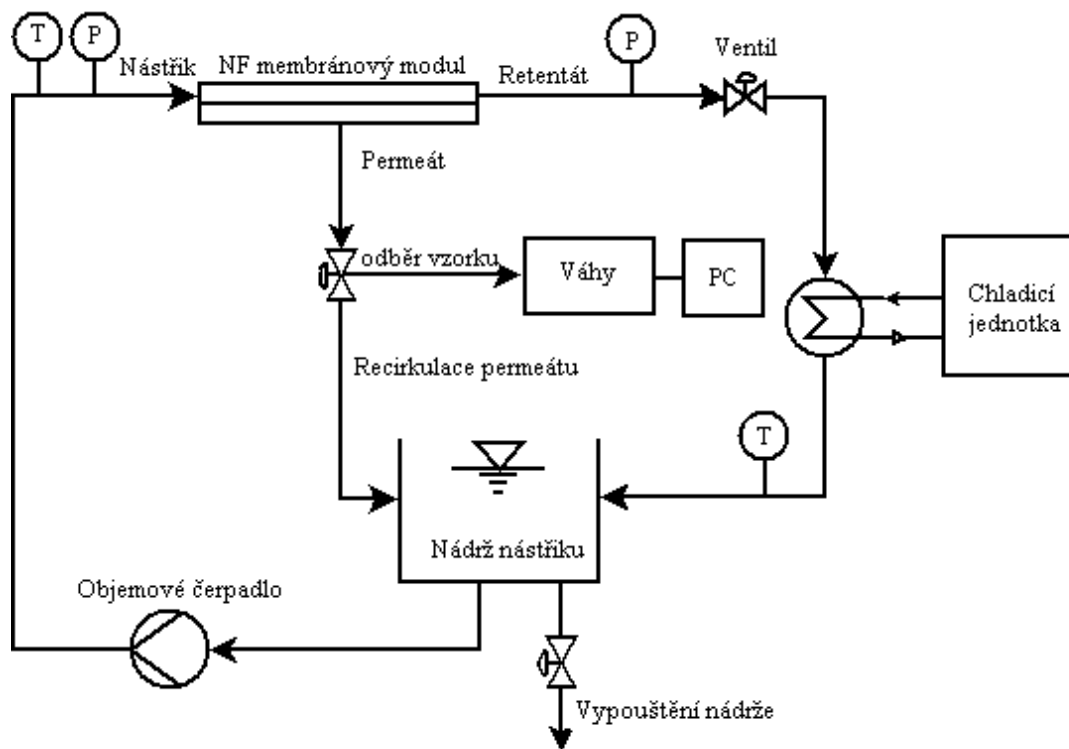
$9,7 \cdot 10^{-4} \text{ mol NaOH}$ ($M = 40 \text{ g mol}^{-1}$) = 0,039 g přibližně spotřeba 3,9 ml roztoku NaOH (o koncentraci 10 g l^{-1}).

2.3.2 Nanofiltrační aparatura, podmínky měření a odběru vzorků

Nanofiltrace roztoků léčiv byla provedena na aparatuře FT18 od firmy Armfield, GB ve vsádkovém uspořádání (viz Obr. 7). Nástřík byl čerpán z nádrže o maximálním objemu 12 l pomocí pístového čerpadla P20/15-160 RE, Speck-Kolbenpumpenfabrick, G, do membránového modulu micro 240, PCI Membranes, PL, ve kterém byly sériově umístěny dvě tubulární NF membrány AFC 40 nebo AFC 80 (efektivní separační plocha 240 cm^2). Retentát byl veden membránovým ventilem, Thomson Valve Ltd, GB, do deskového chladiče, spojeného s chladicím zařízením TAE evo, Armfield, GB, a zpět do nádrže s nástříkem. Permeát byl z membránového modulu jímán do kádinky umístěné na předvážkách pro měření hmotnosti permeátu KERN 572-37, VERKON, ČR, propojených se SW pro snímání toku permeátu. Software pro snímání toku permeátu je program, navržený pro experimenty s membránovými procesy na Ústavu environmentálního chemického inženýrství, Univerzita Pardubice, ČR. V programu je možné nastavit aktivní separační plochu membrány, časový interval snímání hmotnosti permeátu, hustotu permeátu v g cm^{-3} . Program poskytuje údaje o intenzitě toku permeátu v $\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ v závislosti na čase.

Pro zachování konstantní koncentrace léčiva v nástříku byl permeát (po získání 200 g) vracen zpět do nádrže s nástříkem. Teplotní čidlo je umístěno před membránovým modulem, tlaková čidla jsou umístěna před a za membránovým modulem. Nastavený tlakový rozdíl a teplota byly kontrolovány pomocí software FT18 Reverse Osmosis/Ultrafiltration Unit, Armfield, GB. Experimentální data byla vyhodnocena pomocí Microsoft Office Excel a Word, Microsoft Corporation, USA.

Podle pokynů výrobce byly NF membrány vloženy na 24 h do demi vody. Poté byly umístěny do membránového modulu a pro zabránění změn struktury byly promývány demi vodou 2 h při tlakovém rozdílu 31 bar. Po stabilizování struktury membrán byl proměřen tok čisté vody membránou v rozmezí tlakových rozdílů 5 – 30 bar při teplotě $25 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ a pH cca 6,5 (standardní podmínky).



Obr. 7 Schéma nanofiltrační aparatury FT18, Armfield, GB

Dále byly postupně proměřeny roztoky obsahující nenabitě látky. Účelem tohoto měření bylo určit *cut-off* a velikost pórů membrány AFC 40. Rejckce všech nenabitých látek byla zkoumaná při tlakovém rozdílu v rozsahu 5 – 30 bar za standardních podmínek.

Nástříky, které obsahovaly IBU a DIC, byly proměřeny odděleně. U obou léčiv byla zjišťována jejich rejckce v závislosti na tlakovém rozdílu v rozmezí 5 – 30 bar membránou AFC 40 a v rozmezí 10 – 30 bar membránou AFC 80 při standardních podmínkách. U vzorku IBU byl při použití membrány AFC 80 navíc zkoumán vliv pH a s membránou AFC 40 vliv rychlosti proudění nástříku. Hodnota pH nástříku s rozpuštěným IBU byla upravena nejprve na 5,5 přidávkem 0,1 M HCl při tlakovém rozdílu 10 bar. Po ustálení pH (po 4 h, kontrolováno pH metrem HI 9124, HANNA Instruments, ČR) byly odebrány vzorky permeátu a nástříku při $25 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ a tlakovém rozdílu 20 bar. Následně bylo pH upraveno 0,1 M HCl na 4,5 a po jeho ustálení byly opět odebrány vzorky. Závislost rejckce IBU na rychlosti průtoku nástříku byla zkoumaná v rozmezí 5 – 15 lmin^{-1} při aplikovaném

tlakovém rozdílu 20 bar za standardních podmínek. U vzorku DIC byl při použití membrány AFC 40 zjišťován vliv různé iontové síly na jeho rejekci při standardních podmínkách. Zvyšování iontové síly v nástřiku bylo dosaženo přidavkem NaCl nejprve na koncentraci cca 5 gl⁻¹ v nástřiku a po proměření rejekce v závislosti na tlakovém rozdílu 5 – 30 bar, byla iontová síla zvýšena dalším přidavkem NaCl na konečnou koncentraci cca 10 gl⁻¹ v nástřiku. Při této koncentraci byla opět proměřena rejekce v závislosti na tlakovém rozdílu 5 – 30 bar. Experimenty byly vždy proměřeny po ustálení koncentrace soli v permeátu (3 hodnoty vodivosti stejné). Kontrola vodivosti byla provedena pomocí konduktometru Cond 340i + Tetracon 325, Fisher Scientific, G. Všechna měření, která byla provedena na membránách, jsou přehledně shrnuta v Tabulce 8.

Tabulka 8 Provedené experimenty na NF membránách

Měření při cca 25 °C a pH cca 6,5	Specifikace podmínek	AFC 80	AFC 40
Tok čisté vody membránou	Δp 5* – 30 bar	✓	✓
Nenabitě látky	Δp 5 – 30 bar		✓
Nástřík s obsahem ibuprofenu	Δp 5* – 30 bar	✓	✓
- vliv pH (5,5 a 4,5)	20 bar	✓	
- vliv rychlosti průtoku nástřiku	20 bar		✓
Nástřík s obsahem diklofenaku	Δp 5* – 30 bar	✓	✓
- vliv iontové síly (NaCl 5 gl ⁻¹)	Δp 5 – 30 bar		✓
- vliv iontové síly (NaCl 10 gl ⁻¹)	Δp 5 – 30 bar		✓

* v případě membrány AFC 80 byl počáteční tlakový rozdíl 10 bar

Před každou výměnou nástřiku s obsahem nenabitých látek byl z aparatury původní nástřík vypuštěn, aparatura byla několikrát promyta demi vodou, následně byla promyta promývacím nástřikem a pak napuštěna pracovním nástřikem. Pro ustálení koncentrace nenabitě látky byla aparatura promývána novým nástřikem minimálně 1 h při 5 bar, ze čtvrté výměny byl odebrán vzorek nástřiku a permeátu (cca 50 ml). Po odběru byl tlakový rozdíl zvýšen na 10 bar po přibližně 30 min (a ze čtvrté výměny) byl odebrán vzorek permeátu. Tlakový rozdíl byl opět zvýšen o 5 bar a po 30 min byl odebrán další vzorek permeátu. Tento postup byl zachován až do dosažení tlakového rozdílu 30 bar, při kterém byl odebrán jak vzorek permeátu (cca 50 ml), tak i vzorek nástřiku (cca 50 ml). Vzorky byly před analýzou na TOC/TN analyzátoru, Skalar, NL, uchovávány při teplotě 4 °C.

Před každou výměnou nástřiku s obsahem nenabitých látek za nástřík s obsahem léčiv (nebo nástřík s IBU za nástřík s DIC), byl z aparatury původní nástřík vypuštěn, aparatura byla několikrát promyta demi vodou a následně byla napuštěna druhým nástřikem s obsahem

léčiva. Pro ustálení koncentrace léčiva v permeátu byla aparatura novým nástřikem promývána minimálně 4 h při 5 bar. Poté byla membrána ponechána v přítomnosti permeátu po dobu 72 h před dalším měřením. Před měřením vlivu tlakového rozdílu byla aparatura promývána nástřikem minimálně 2 h při 5 bar. Po dvou hodinách byl odebrán vzorek nástřiku (cca 10 ml) a vzorek permeátu (cca 250 ml). Po odběru byl nástřik doplněn přibližně 250 ml demi vody a tlakový rozdíl byl zvýšen na 10 bar. Po hodině byl odebrán další vzorek permeátu (cca 250 ml), nástřik doplněn přibližně 250 ml demi vody a tlakový rozdíl byl opět zvýšen o 5 bar. Po hodině byl stejným způsobem odebrán další vzorek permeátu. Tento postup byl zachován až do dosažení tlakového rozdílu 30 bar, při kterém byl odebrán jak vzorek permeátu (cca 250 ml), tak i vzorek nástřiku (cca 10 ml). Vzorky byly před dalším zpracováním a analýzou na HPLC uchovávány při teplotě 4 °C.

2.3.3 Izolace analytů

Sledovaná léčiva byla izolována metodou extrakce na pevné fázi (SPE). K tomu účelu byly použity SPE kolonky Oasis HLB 3CCC Cartridge, Waters, USA. Extrakce byla provedena na manifoldu CHROMABOND[®], MACHERY-NAGEL, G, připojeného na vývěvu MF 2C, VACUUMBRAND GmBh, G. Objemy permeátů a způsob extrakce byly zvoleny na základě doporučení od výrobce kolonek Oasis HLB [69] a práce, zabývající se stanovením IBU a DIC v povrchových a odpadních vodách [70]. Mírná modifikace postupu byla provedena na základě předchozích zkoušek. Obě léčiva byla extrahována z 200 ml permeátu, ze kterého byly získány 2 ml koncentráту v metanolu (MeOH). Postup pro extrakci byl následující:

- aktivace kolonky 6 ml MeOH
- promytí 3 ml 0,01M HCl
- okyselení vzorku 0,1M HCl na pH přibližně 2
- extrakce vzorku
- promytí kolonky 10 ml demi vody
- eluce kolonky MeOH se záchytem do dvou zkumavek: 2 ml (eluce A) + 2 ml (eluce D)
- koncentrát s IBU byl navíc sušen na třepačce Rotamax 120, Heidolph, G, přes noc při teplotě 20 °C

Přesný objem elučního činidla byl stanoven diferenčním vážením zkumavek před a po eluci, popř. před elucí a po sušení.

2.3.4 Identifikace a kvantifikace analytů

Koncentrace nenabíých látek v nástřiku a permeátu byly stanoveny na analyzátoru TOC.

Nástřiky a koncentráty léčiv připravených SPE byly analyzovány pomocí HPLC s detektorem diodového pole (DAD). Analyty byly identifikovány porovnáním retenčních časů (t_r) se standardy a kvantifikovány byly metodou externí kalibrace. Pro tento účel byly připraveny kalibrační roztoky (kalibrační řada 1) s koncentrací analytu v rozsahu 100 – 0,1 mg l^{-1} , ředěním zásobního roztoku standardu o koncentraci 100 mg l^{-1} a kalibrační roztoky (kalibrační řada 2) s koncentrací analytu 1,5 – 0,05 mg l^{-1} (viz Tabulka 9), které byly před aplikací do HPLC zkoncentrovány SPE stejně jako vzorky permeátů (viz kapitola 2.3.3).

Tabulka 9 Příprava kalibračních řad 1 a 2

Kalibrační řada 1				
ID	pipetovaný objem [ml]	z roztoku ID:	celkový objem standardu [ml]	Koncentrace kalibračního roztoku [mgl^{-1}]
ST1	-	-	250	100
ST2	5	ST1	10	50
ST3	2,5	ST1	10	25
ST4	2	ST1	10	20
ST5	1,5	ST1	10	15
ST6	1	ST1	10	10
ST7	0,5	ST1	500	5
ST8	5	ST7	10	2
ST9	2	ST7	10	1
ST10	1	ST7	10	0,5
ST11	0,2	ST7	10	0,1
Kalibrační řada 2				
ID	pipetovaný objem [ml]	z roztoku ID:	celkový objem standardu [ml]	Koncentrace kalibračního roztoku [mgl^{-1}]
R1	60	ST7	200	1,5
R2	40	ST7	200	1,0
R3	20	ST7	200	0,5
R4	4	ST7	200	0,1
R5	2	ST7	200	0,05

Standardní roztok DIC o $c = 100 \text{ mg}l^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,025 mg sodné soli DIC v 50 ml MeOH, kvantitativním převedením roztoku do 250ml odměrné baňky, doplněním demi vodou na objem cca 200 ml, vložení na 15 min do ultrazvukové lázně a doplněním demi vodou po rysku. Standardní roztok IBU o $c = 100 \text{ mg}l^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,025 mg IBU v 0,5 ml NaOH o koncentraci 10 gl^{-1} , kvantitativním převedením roztoku do 250ml odměrné baňky, doplněním demi vodou na objem cca 200 ml, vložení

na 15 min do ultrazvukové lázně a doplněním demi vodou po rysku. Standardy byly naváženy na analytických váhách ME 204, Mettler-Toledo, ČR.

2.3.5 Chromatografické podmínky pro stanovení analytů

Způsob stanovení léčiv na HPCL/DAD byl částečně převzat z práce [70]. HPLC přístroj byl složen ze zásobníků MOB, odplyňovací jednotky DeltaChrom™ VD 040 Vacuum Degasser, Watrex, ČR, dvou vysokotlakých čerpadel Delta Chrom™ Pump, Watrex, ČR, mísiče mobilních fází dyn./stat. Mixer for HPLC, SunChrom, G, a autosampleru OPTIMAS™, Spark Holland B.V., NL. Na kolonu Nucleosil 120, C18, s velikostí částic 5 µm a rozměry 240 × 4 mm, Watrex, ČR, bylo dávkováno 20 µl vzorku, který byl do detektoru s diodovým polem (DAD) SYKAM S3210 UV/VIS, se zdrojem světla deuteriová (UV) a wolframová (VIS a blízké IČ) lampa, vlnový rozsah 190 – 720 nm, Watrex, ČR, unášen mobilními fázemi. Těmi byl acetonitril (fáze A) a vodný roztok 0,1 obj. % HCOOH v poměru 70 % A : 30 % B (izokratická eluce). Průtok MOB kolonou byl 1 mlmin⁻¹. Diklofenak byl detekován při vlnové délce 275 nm a IBU při 220 nm. Celková délka analýzy byla 10 min. Software pro ovládání chromatografu a sběr dat byl Clarity 6.2, DataApex, ČR.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Charakteristika NF membrán

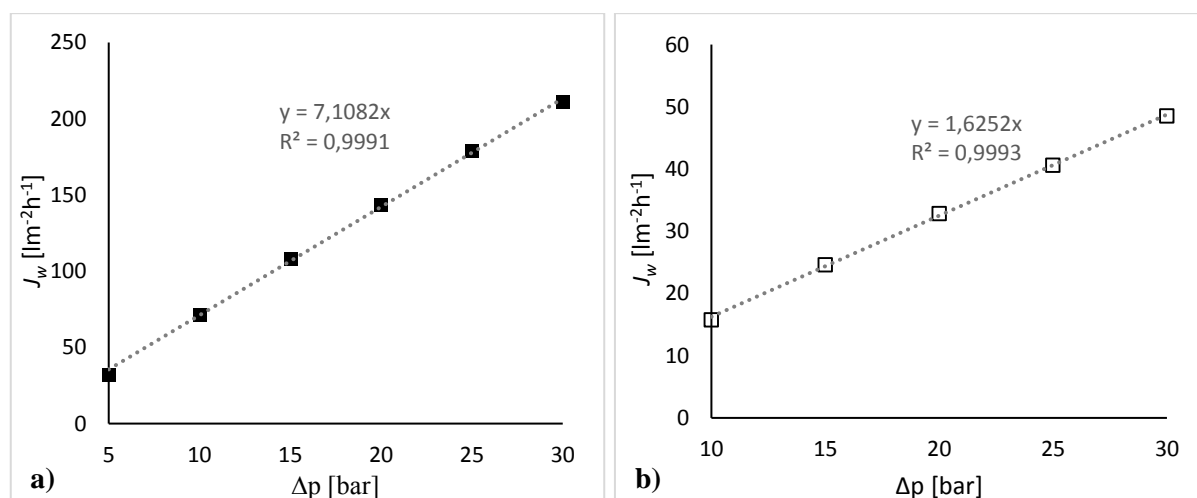
Mezi základní charakteristiky membrán patří permeabilita membrány, *cut-off* a velikost pórů, kterou je možné určit z hodnot rejekce nenabitých látek.

Permeabilita (P_w) byla vypočtena pomocí rovnice (15). Na membrány byla přivedena demineralizovaná voda při různých tlakových rozdílech a z experimentálně naměřené intenzity toku čisté vody (J_w), byla pro jednotlivé Δp doložena P_w obou membrán – viz Tabulka 10. U membrány AFC 40 byla J_w proměřena třikrát během 2 týdnů. Hodnota J_w v Tabulce 10 je průměrem všech tří měření. Protože odchylka mezi jednotlivými experimenty byla $< 5 \%$, byla permeabilita v případě membrány AFC 80 vypočtena pouze z jednoho měření J_w .

Tabulka 10 Intenzita toku čisté vody a permeabilita membrán AFC 40 a AFC 80 při různých Δp

Δp [bar]	J_w [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$]		P_w [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$]	
	AFC 40	AFC 80	AFC 40	AFC 80
5	32,1	-	6,4	-
10	71,3	15,8	7,1	1,6
15	108,0	24,7	7,2	1,6
20	143,5	32,8	7,2	1,6
25	178,7	40,7	7,1	1,6
30	211,4	48,5	7,0	1,6

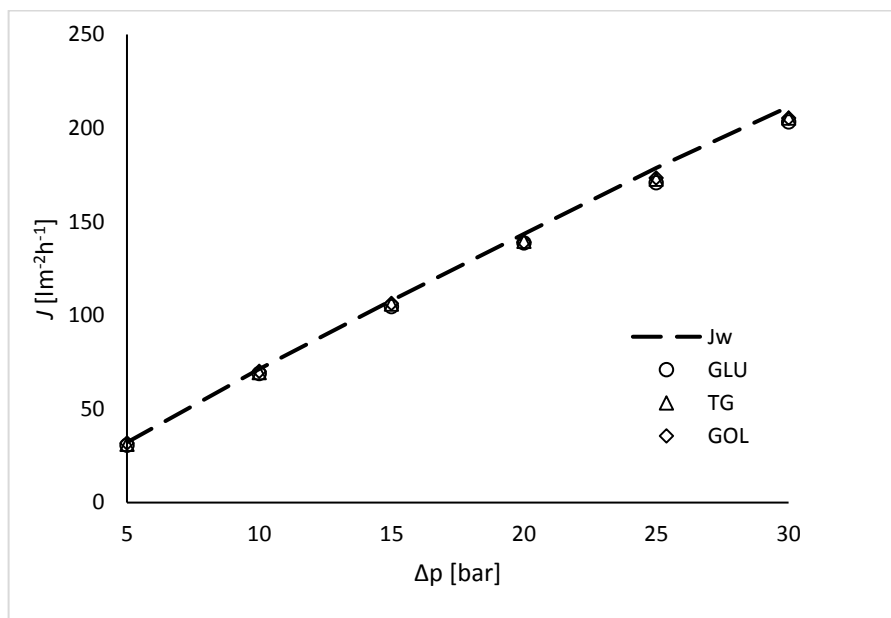
Permeabilita membrán pro celý rozsah zkoumaných tlaků byla určena pomocí grafického vyhodnocení ze směrnice závislosti intenzity toku čisté vody membránou na aplikovaném tlakovém rozdílu (viz Obr. 8). Permeabilita membrány AFC 40 je $7,1 \text{ lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$ a permeabilita membrány AFC 80 je $1,6 \text{ lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$.



Obr. 8 Závislost intenzity toku čisté vody na Δp pro membránu AFC 40 (a) a pro membránu AFC 80 (b)

Charakterizaci membrány AFC 80 se podrobně věnují práce [48, 71], a proto je v této práci charakterizována membrána AFC 40 ještě pomocí nenabitých látek s využitím DSPM modelu. Pro charakterizaci membrány AFC 40 byly připraveny roztoky nenabitých látek (D-glukóza (GLU), triethylenglykol (TG) a glycerin (GOL)) o koncentraci 500 mg^l⁻¹.

Intenzita toku permeátu se v případě membrány AFC 40 pro nenabité látky výrazně nelišila od intenzity toku čisté vody (viz Obr. 9). Díky nízkým koncentracím se totiž neprojevil vliv osmotického tlaku a případné zanášení membrány. Téměř identické hodnoty J s J_w umožňují předpoklad, že podobně, jak je nepatrný vliv nenabitých látek na osmotický tlak nástřiku, bude podobně zanedbatelný jejich vliv na hustotu a viskozitu nástřiku ve srovnání s čistou vodou. Z tohoto důvodu byly při výpočtech rejekcí pomocí filmového i DSPM modelu dosazeny hustoty a viskozity čisté vody při teplotě 25 °C.



Obr. 9 Porovnání intenzity toku čisté vody a nenabitých látek v případě membrány AFC 40

Dalšími potřebnými parametry pro filmový model a DSPM model jsou difuzní koeficienty látek ($D_{i,\infty}$) a jejich Stokesovy poloměry ($r_{i,s}$). Hodnoty $D_{i,\infty}$ a $r_{i,s}$ látek byly nalezeny v literatuře, kromě TG, u kterého byl nalezen pouze $D_{i,\infty}$. Poloměr $r_{i,s}$ byl určen ze Stokes-Einsteinovy rovnice (19), kde B je Boltzmanova konstanta ($1,38 \cdot 10^{-23}$ JK⁻¹), T je 298,15 K a π je Ludolfovo číslo [66].

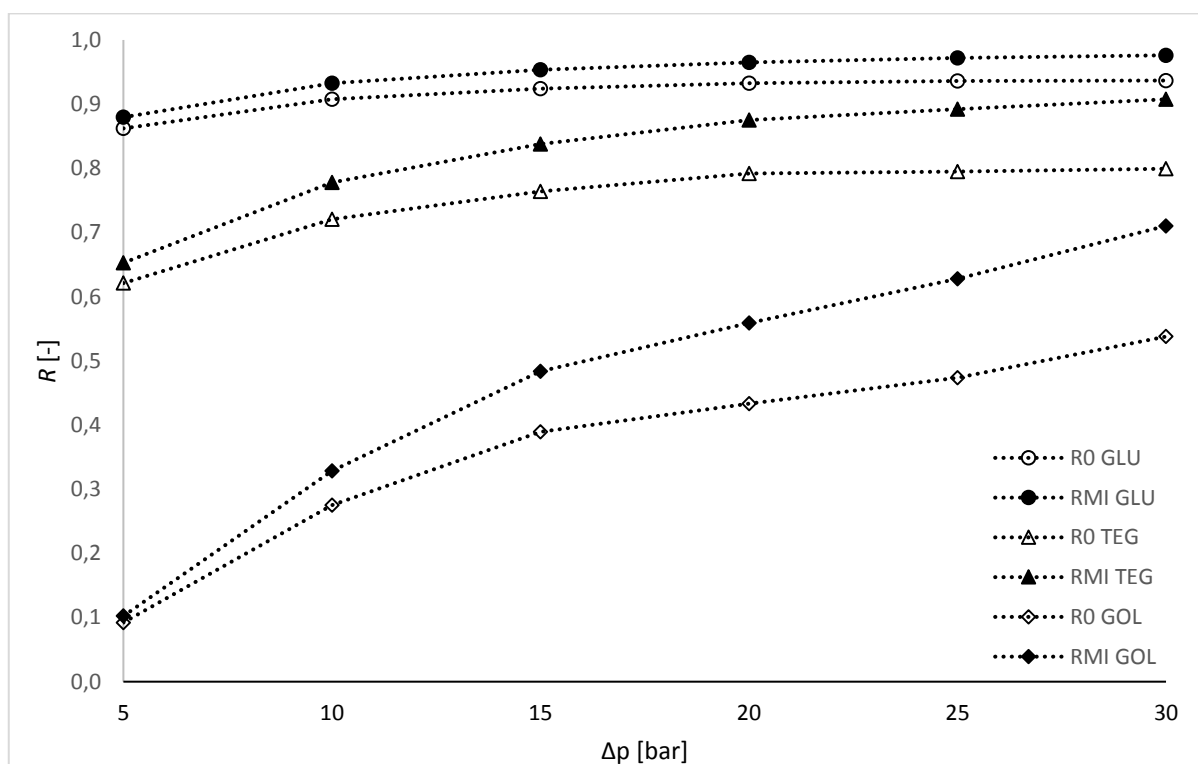
$$D_{i,\infty} = \frac{BT}{6\pi\eta r_{i,s}} \quad (19)$$

Potřebné charakteristiky látek pro výpočet rejekcí pomocí filmového a DSPM modelu jsou shrnuty v Tabulce 11.

Tabulka 11 Charakteristiky nenabitých látek

Nenabitá látka	M [g mol^{-1}]	$D_{i,\infty}$ [$\times 10^{-9} \text{m}^2\text{s}^{-1}$]	$r_{i,s}$ [nm]	Zdroj
GLU	180	0,67	0,36	[72]
TG	150,2	0,74	0,33	[73, 66]
GOL	92,1	0,95	0,26	[48]

Ostatní potřebné parametry pro filmový model jsou závislé na způsobu provedení experimentu. V tomto případě měl hydraulický průměr membrány AFC 40 hodnotu 1,25 cm a z nastaveného objemového průtoku nástríku (15 l min^{-1}) byla vypočtena rychlost nástríku nutná pro stanovení Re. Koncentrace nenabitých látek v nástríku byly vypočteny jako průměr ze dvou odběrů na začátku a na konci experimentu a stanoveny pomocí TOC analyzátoru. Stanovená koncentrace organického uhlíku v nástríku GLU byla 212 mg l^{-1} , v nástríku TG 240,35 mg l^{-1} a v nástríku GOL 205,1 mg l^{-1} . Z Obr. 10, příp. z Tabulky 13, je patrné, že skutečné rejekce nenabitých látek jsou vyšší, než jsou jejich pozorované rejekce. Rozdíl mezi jednotlivými body (viz Obr. 10) představuje vliv koncentrační polarizace a je v souladu se závěry kapitoly 1.5.2.



Obr. 10 Porovnání skutečné (R_{Mi}) a pozorované (R_o) rejekce GLU, TG a GOL v případě membrány AFC 40

Z Obr. 10 a Tabulky 11 je patrná závislost mezi velikostí poloměru rozpuštěné látky a její rejekcí. Čím má látka větší poloměr, tím je vyšší i její rejekce. Na podobném principu, resp. ze závislostí rejekce na molekulové hmotnosti látek, je možné určit *cut-off* membrány.

Cut-off membrány AFC 40 bylo určeno z R_0 TG, který má maximální hodnotu R_0 cca 80 % a z R_0 GLU, která má maximální hodnotu R_0 cca 93 %. Membrána AFC 40 má tedy *cut-off* v rozmezí 150,2 – 180 g mol^{-1} . Určená hodnota *cut-off* membrány je poněkud nižší než je *cut-off* daná výrobcem [68]. Nicméně byl nalezen i jiný zdroj [74], který uvádí rozmezí *cut-off* této membrány v rozsahu 150 – 300 Da.

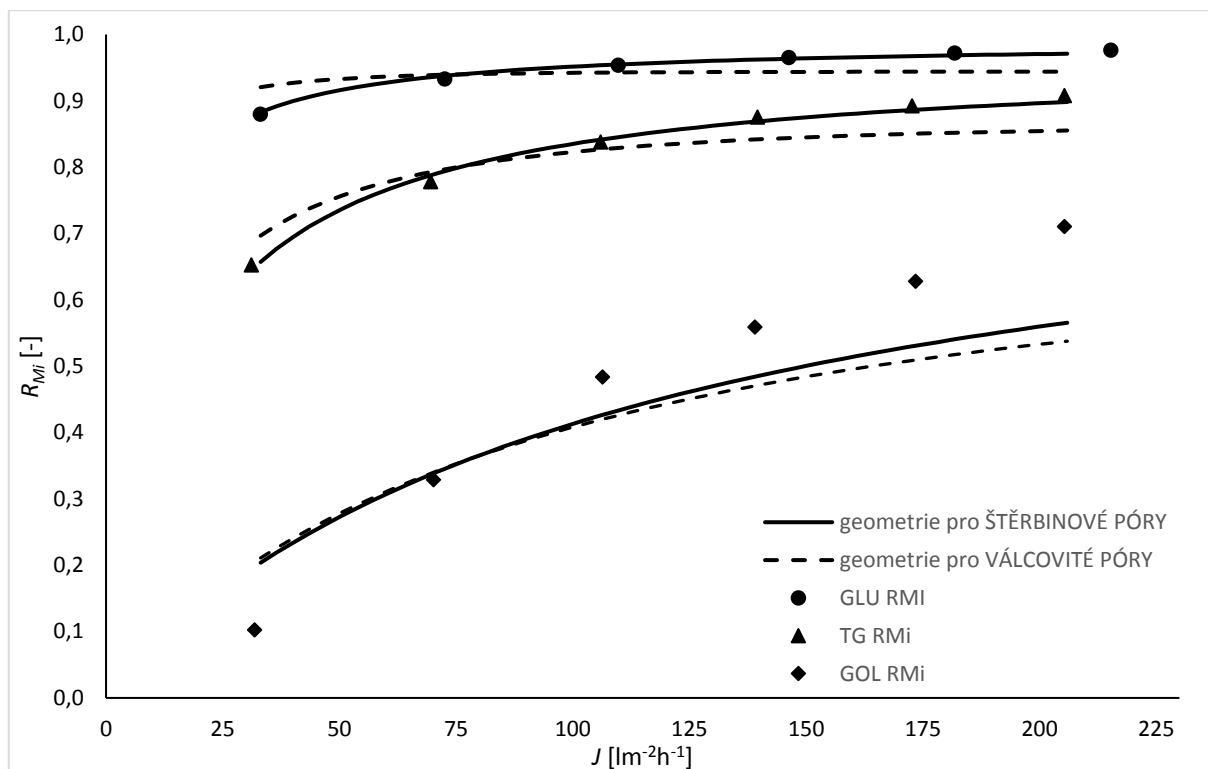
Efektivní velikost pórů (r_p) a poměr $\Delta x/A_k$ membrány AFC 40 byly vypočteny pomocí rovnic pro DSPM model (viz kapitola 1.5.3). Oba parametry charakterizující strukturu membrán byly vypočteny jak modelem pro štěrbinové póry, tak i modelem pro válcovité póry. Nalezení optimální hodnoty r_p pro obě geometrie pórů bylo provedeno pomocí iterační funkce „Řešitel“ v MS Excel. Účelová funkce pro řešení byla vyjádřena jako suma poměru druhých mocnin odchylek mezi rejekcí vypočtenou pomocí modelu DSPM a hodnotou R_{Mi} , vypočtenou z filmového modelu k rejekci získané z filmového modelu. Účelová funkce byla stanovena pomocí rovnice (20) a ve funkci „Řešitel“ byla nastavena na minimum. Proměnnou modelu byla λ_i , z které byla následně dopočítána velikost pórů.

$$\text{ÚF} = \sum \frac{(R_{Mi} - R_{model})^2}{R_{Mi}} \quad (20)$$

Správnost získaných hodnot r_p byla ověřena graficky ze závislosti R_{Mi} , R_{model} na hodnotě J . Z Obr. 11 je zřejmé, že vhodnější proložení hodnot R_{Mi} bylo získáno modelem pro štěrbinové póry (plná čára), než modelem pro válcovité póry (přerušovaná čára), kromě jejich aplikace na GOL, kde oba modely selhávají. Toto selhání je pravděpodobně způsobeno tím, že R_{Mi} GOL s narůstajícím tlakem a intenzitou toku permeátu roste (nedochází k její stabilizaci jako u GLU a TG) a pro její stabilizaci by pravděpodobně bylo nutné použít vyšší hodnoty Δp . Získané výsledky jsou rovněž uvedeny i v tabulkové formě – viz Tabulka 14.

Ze získaných velikostí pórů (r_p) pro obě geometrie a hodnot intenzit toku permeátu byly následně dopočteny poměry $\Delta x/A_k$ z rovnic (9) a (10).

V Tabulce 12 jsou uvedeny získané hodnoty strukturních parametrů membrány AFC 40 včetně jejich průměrných hodnot.



Obr. 11 Porovnání experimentálně získaných hodnot skutečných rejekcí nenabitých látek s modelovými hodnotami pro obě geometrie pórů

Průměrná velikost pórů membrány AFC 40 byla pro štěrbinovou geometrii 0,36 nm a poměr tloušťky membrány k porozitě 2,56 μm . Pro válcovitou geometrii pórů byl průměrný poloměr pórů 0,48 nm a poměr $\Delta x/A_k$ 1,66 μm .

Tabulka 12 Strukturální parametry membrány AFC 40

Nenabitá látka	Strukturální parametry				ÚF	
	štěrbinová geometrie		válcovitá geometrie		štěrbinová geometrie	válcovitá geometrie
	r_p [nm]	$\Delta x/A_k$ [μm]	r_p [nm]	$\Delta x/A_k$ [μm]		
GLU	0,37	2,63	0,46	1,52	7,63E-05	4,42E-03
TG	0,36	2,50	0,49	1,80	3,00E-04	9,74E-03
GOL	0,32	2,05	0,51	1,91	1,66E-01	2,06E-01
Průměr	0,36	2,56	0,48	1,66	-	-

Poznámka: při určení průměrných hodnot nebyly zahrnuty experimentálně stanovené hodnoty pro GOL.

Velikost pórů této membrány byla stanovena v předchozí studii [75] pro válcovitou geometrii $0,43 \pm 0,06$ nm; v jiné studii [76] pak byl u geometrie štěrbinových pórů určen poloměr 0,54 nm a poměr $\Delta x/A_k$ 7,8 μm .

Tabulka 13 Koncentrace a rejekce nenabitých látek v případě membrány AFC 40

Δp [bar]	c_{iP} (TOC) [mg l^{-1}]			c_{iM} (TOC) [mg l^{-1}]			R_o [-]			R_{MI} [-]		
	GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL
5	29,3	91,1	186,2	243,5	262,2	207,4	0,862	0,621	0,092	0,880	0,653	0,102
10	19,6	67,1	148,7	291,4	302,2	221,5	0,908	0,721	0,275	0,933	0,778	0,329
15	16,1	56,7	125,3	345,8	349,2	242,7	0,924	0,764	0,389	0,953	0,838	0,484
20	14,4	50,0	116,2	409,6	401,4	263,5	0,933	0,792	0,433	0,965	0,875	0,559
25	13,6	49,3	108,0	482,7	457,3	290,2	0,936	0,795	0,473	0,972	0,892	0,628
30	13,4	48,2	94,8	563,3	521,6	327,2	0,937	0,799	0,538	0,976	0,908	0,710

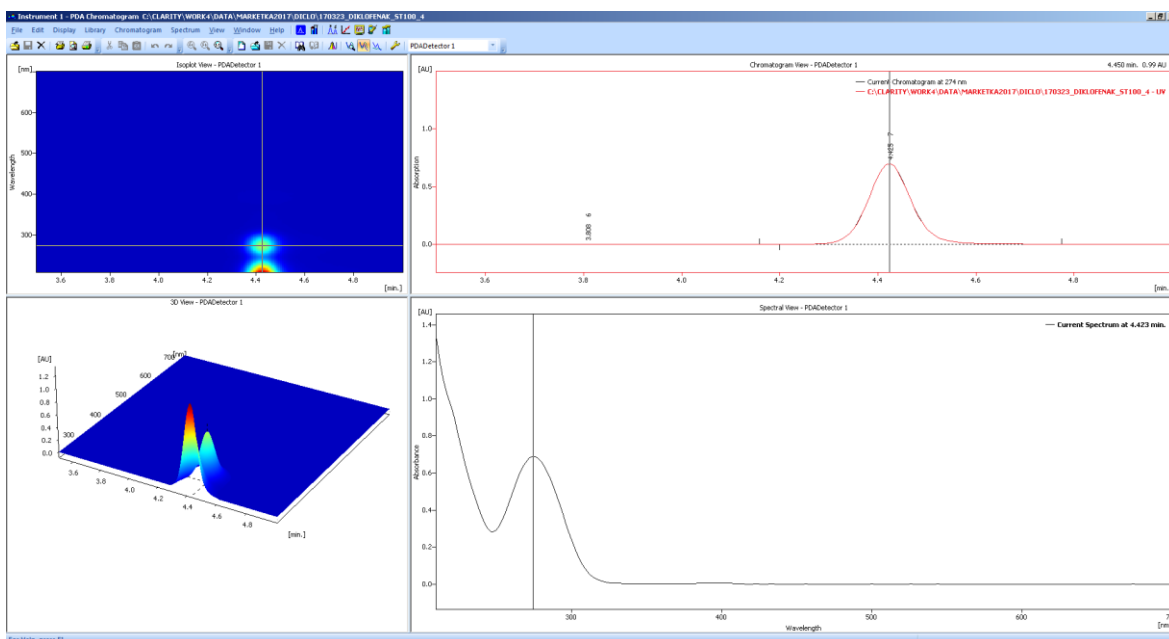
Tabulka 14 Hodnoty rejekcí získané z DSPM modelu pro nenabitě látky v případě membrány AFC 40

J [lm $^{-2}$ h $^{-1}$]			R_{MI} [-]			R_{model} štěrbinové póry [-]			R_{model} válcovité póry [-]		
GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL	GLU	TG	GOL
33,0	31,1	31,9	0,880	0,653	0,102	0,883	0,657	0,204	0,921	0,697	0,211
72,6	69,5	70,2	0,933	0,778	0,329	0,934	0,784	0,331	0,938	0,790	0,333
109,8	106,0	106,4	0,953	0,838	0,484	0,952	0,838	0,418	0,942	0,824	0,412
146,3	139,6	139,0	0,965	0,875	0,559	0,962	0,867	0,481	0,943	0,841	0,467
181,8	172,7	173,4	0,972	0,892	0,628	0,967	0,886	0,528	0,944	0,850	0,508
215,3	205,3	205,3	0,976	0,908	0,710	0,971	0,898	0,566	0,944	0,855	0,538

Menší poloměr pórů určený v této práci proti hodnotám velikosti pórů prezentovaných v literatuře [75, 76] může být způsoben např. hodnotou pH, při které byl experiment prováděn [48], nebo jinou šarží membrán. Hodnota pH ovlivňuje velikost pórů tím způsobem, že působí na disociaci funkčních skupin materiálu membrán. Pokud je membrána nabitá, její velikost pórů je menší, protože nabité funkční skupiny se navzájem odpuzují a zaujmají větší prostor. Tím, že zaujmají větší prostor z objemu póru, zmenšují vlastní efektivní velikost póru [48].

3.2 Stanovení chromatografických podmínek a optimalizace SPE techniky

Správné nastavení přístroje a vhodná volba stacionární a mobilní fáze je důležitá pro správnou identifikaci a kvantifikaci sledovaných analytů. Optimalizace podmínek byla provedena na standardech léčiv. Pro DIC bylo určeno absorpční maximum při 275 nm a pro IBU 220 nm (viz Obr. 12). Stacionární fází byla dostupná kolona Nucleosil 120 s velikostí částic 5 μm a rozměry 240 \times 4 mm. Volba mobilní fáze byla provedena podle výsledků práce zabývající se stanovením IBU a DIC v povrchových a odpadních vodách [70]. Optimální MOB byla podle [70] 0,1 % HCOOH v kombinaci s ACN, protože při použití této fáze byly píky léčiv dostatečně ostré a souměrné. Totéž platilo i v případě této práce. Avšak vzhledem k tomu, že v nástřiku bylo vždy jen jedno léčivo, nebyla zvolena gradientová eluce s dobou analýzy 40 min (optimální [70]), ale izokratická eluce s dobou analýzy 10 min při teplotě 20 $^{\circ}\text{C}$ a rychlosti průtoku MOB kolonou 1 mlmin^{-1} .

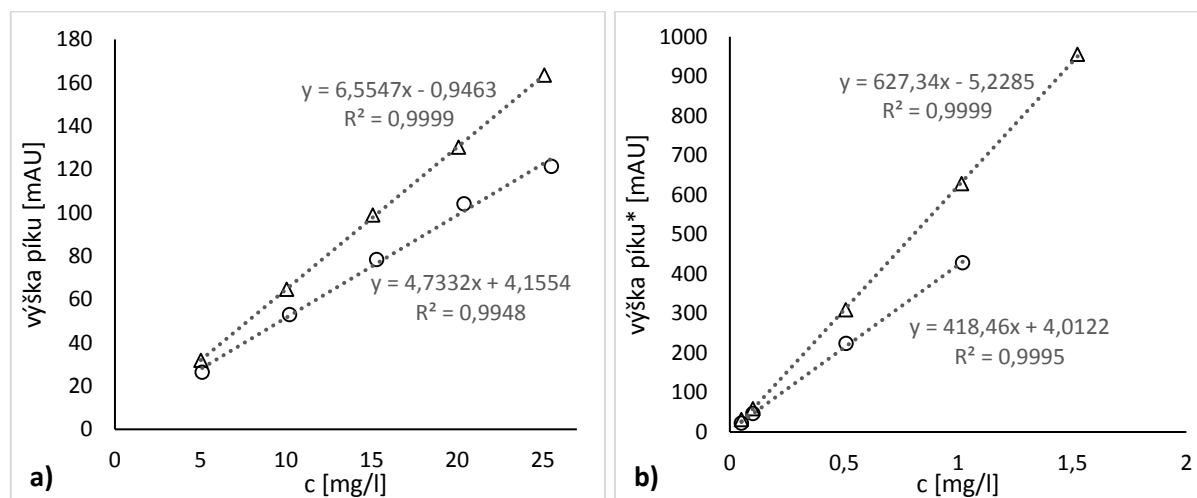


Obr. 12 Určení absorpčního maxima DIC

Identifikace analytů byla provedena porovnáním retenčních časů (t_r) se standardy. Retenční časy léčiv jsou uvedeny v Tabulce 15. Dále bylo nutné určit mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ) této metody pro zkoumaná léčiva. LOD je definována jako koncentrace, při které je odezva v detektoru třikrát vyšší než výška šumu základní linie. Podobně je tomu i v případě LOQ, která je definována jako koncentrace, při které je odezva v detektoru desetkrát vyšší než výška šumu základní linie [70]. Výška šumu základní linie byla 2,15 mAU. Hodnoty LOQ a LOD byly vypočteny z kalibračních přímek (zvlášť pro každou kalibrační řadu a zvlášť pro každé léčivo). Pro sestavení kalibrační přímky pro kalibrační řadu 1 byla použita průměrná výška píku (průměr ze tří měření) vs. koncentrace standardu (viz Obr. 13). Pro sestavení kalibrační přímky pro kalibrační řadu 2 byla použita průměrná výška píku (průměr ze tří měření) násobená objemovým faktorem (= průměrná výška píku*) vs. koncentrace standardu (viz Obr. 13). Pro výpočet LOD byla následně do rovnic přímek za y dosazena výška šumu násobená třemi, nebo výška šumu násobená deseti (pro výpočet LOQ). Vypočtené hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 15.

Tabulka 15 Základní identifikační a kvantifikační charakteristiky léčiv

Léčivo	Kalibrační roztoky 1			Kalibrační roztoky 2	
	t_r [min]	LOD [mg l ⁻¹]	LOQ [mg l ⁻¹]	LOD [mg l ⁻¹]	LOQ [mg l ⁻¹]
IBU	4,6	0,5	3,7	0,006	0,042
DIC	4,4	1,1	3,4	0,019	0,043



Obr. 13 Kalibrační přímky IBU (○) a DIC (Δ) pro kalibrační řadu 1 (a) a kalibrační řadu 2 (b)

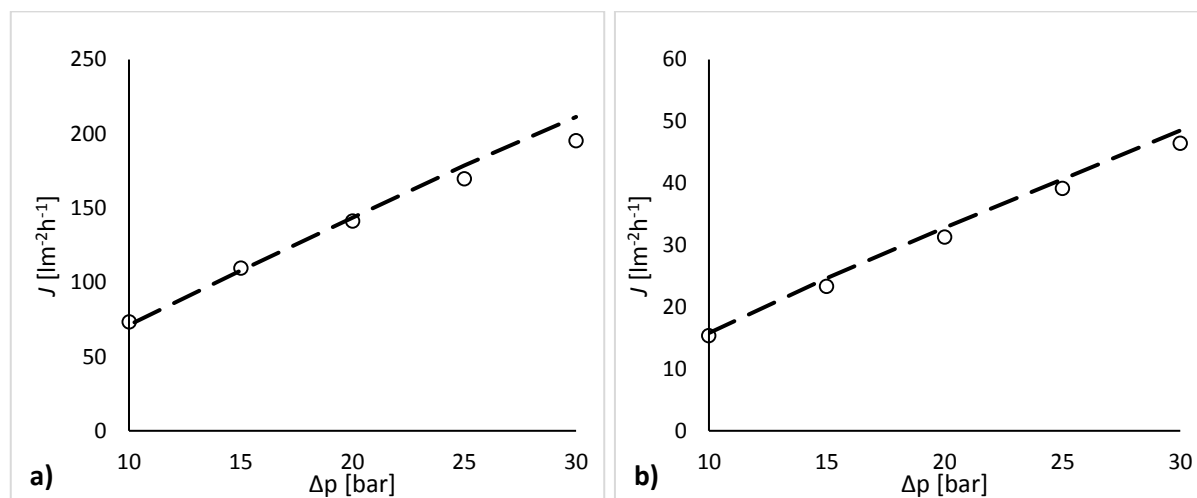
Kalibrační přímky z kalibračních roztoků 1 byly vytvořeny ze standardů, které byly nejbližše předpokládané koncentraci léčiva v nástřiku (ST 3 – 7). Kalibrační přímky z kalibračních roztoků 2 byly vytvořeny ze všech standardů, kromě kalibrační přímky IBU, u které nebyl zahrnut kalibrační roztok R1.

Standardní postup SPE techniky pro kvantifikaci léčiv vyžaduje úplné vysušení koncentráту po eluci a jeho následné rozpuštění v přesně definovaném objemu rozpouštědla. Z důvodu problémů se sušením nebylo úplné sušení prováděno a přesný objem elučního činidla byl zjištěn diferenčním vážením eluátu (prošlého elučního činidla kolonkou). Jelikož se tyto objemy mohou mezi sebou nepatrně lišit (rozdíly mezi nimi byly do 2 %), byl zaveden tzv. objemový faktor. Tento faktor přepočítává experimentálně zjištěné výšky i plochy píků na zvolený objem eluátu (původní objem 2 ml).

3.3 Vliv experimentálních podmínek na rejekci ibuprofenu

Pro co nejúčinnější odstranění IBU z vody byl zkoumán vliv různých provozních podmínek, jako např. tlakový rozdíl nad a pod membránou Δp , pH a rychlost proudění nástřiku.

Intenzita toku permeátu IBU byla proměřena pro obě membrány a výrazně se nelišila od intenzity toku čisté vody (viz Obr. 14). Podobně jako u nenabitých látek, se u IBU díky nízkým koncentracím neprojevil vliv osmotického tlaku a případné zanášení membrány. Téměř identické hodnoty J s J_w umožňují stejný předpoklad pro určení ρ a η roztoku, který byl aplikován při výpočtu skutečných rejekcí nenabitých látek pomocí filmového modelu.



Obr. 14 Porovnání hodnot J_w (---) a hodnot J IBU (\circ) pro membránu AFC 40 (a) a pro membránu AFC 80 (b)

Difuzní koeficienty léčiv ($D_{i,\infty}$) a jejich Stokesovy poloměry ($r_{i,s}$) byly primárně vypočteny pomocí Nernstovy-Hackellovy rovnice (21), kde F je Faradayova konstanta ($96485,3 \text{ Cmol}^{-1}$), z jsou náboje iontů ($\text{Na}^+ + \text{IBU}^-$ nebo DIC^-) a λ^0 jsou molární vodivosti iontů ve vodném roztoku při nekonečném zředění ($\lambda_{\text{Na}^+}^0 = 50,15$, $\lambda_{\text{DIC}^-}^0 = 20,09 \text{ Scm}^{-2}\text{mol}^{-1}$ a $\lambda_{\text{IBU}^-}^0 = 13,52 \text{ Scm}^{-2}\text{mol}^{-1}$ při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$) [64, 65], protože hodnoty $D_{i,\infty}$ léčiv dostupné

v literatuře byly stanoveny obvykle pro kyselou formu léčiva. Hodnoty $r_{i,s}$ sodných solí léčiv byly určeny ze Stokesovy-Einsteinovy rovnice (19) [66].

$$D_{i,\infty} = \frac{RT}{F^2} \times \frac{|z_+| + |z_-|}{|z_+z_-|} \times \frac{\lambda_+^0 \lambda_-^0}{\lambda_+^0 + \lambda_-^0} \quad (21)$$

Uvedené charakteristiky léčiv nutné pro výpočet rejekcí pomocí filmového modelu jsou shrnuty v Tabulce 6. Ostatní potřebné parametry, které závisí na způsobu provedení experimentu, byly stejné jako pro nenabitě látky (viz kapitola 3.1), kromě stanovení koncentrací léčiv ve vzorcích.

Pro stanovení koncentrace IBU v nástřících a permeátech byly připraveny dvě kalibrační řady, tj. kalibrační řada 1 pro stanovení koncentrace léčiva v nástřiku a kalibrační řada 2 pro stanovení koncentrace léčiva v permeátu.

Kalibrační roztoky z řady 1 byly do přístroje dávkovány vždy třikrát. Z výšky šumu byla pro IBU určena LOQ 3,7 mg^l⁻¹ (viz kapitola 0). Koncentrace a jejich plochy, které byly nižší, než je LOQ, nebyly při vytváření kalibrační přímky zahrnuty (Obr. 15). Ze zjištěných ploch byla následně vypočtena průměrná plocha, uvedená v Tabulce 16.

Tabulka 16 Kalibrační přímka IBU 1 (bez zkoncentrování)

ID	c IBU [mg ^l ⁻¹]	plocha píku [mAU.s]
ST1	102,0	3763
ST2	51,0	1905
ST3	25,5	998
ST4	20,4	862
ST5	15,3	650
ST6	10,2	434
ST7	5,1	216

Kalibrační roztoky z řady 2 musely být před analýzou na HPLC extrahovány metodou SPE a po eluci byly sušeny přes noc, aby došlo k dalšímu zvýšení koncentrace léčiva v „koncentrátu po eluci“ odpařením rozpouštědla. Poté byl každý koncentrát třikrát dávkován do HPLC a ze zjištěných ploch byla vypočtena průměrná plocha. Pro eliminaci vlivu různého objemu koncentrátu po sušení vzorků na výslednou koncentraci léčiva byl zaveden tzv. objemový faktor. Objemový faktor vztahuje objem koncentrátu po sušení k objemu elučního činidla (2 ml). Tímto objemovým faktorem byla vynásobena průměrná plocha píku (v Tabulce 17 je označena jako plocha*). Plocha* odpovídá ploše, kterou by způsobilo množství léčiva ve 2 ml rozpouštědla. Mez stanovitelnosti IBU pro kalibrační řadu 2 byla 0,042 mg^l⁻¹.

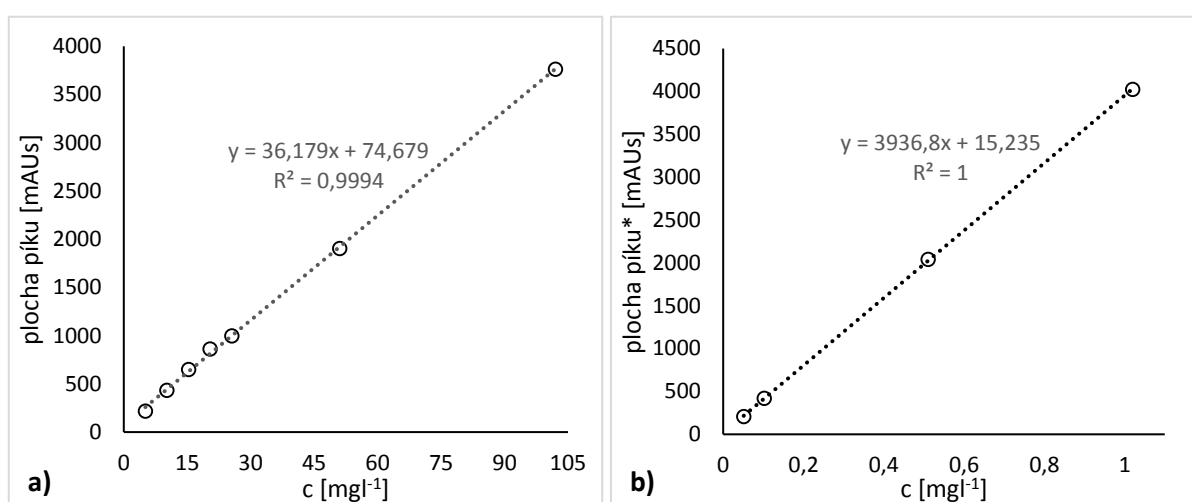
Tabulka 17 Kalibrační přímka IBU 2 (se zkoncentrováním na SPE)

ID	c IBU [mg ^l ⁻¹]	plocha píku* [mAU.s]
R1 ^a	1,53	5662
R2	1,02	4023
R3	0,51	2038
R4	0,10	420
R5	0,05	205

* plocha násobená objemovým faktorem

^a R1 nebyl zahrnut při vytváření kalibrační přímky 2

Koncentrace u vzorků permeátů byla technikou SPE v kombinaci se sušením průměrně zvýšena 169krát.



Obr. 15 Kalibrační přímky IBU bez zkoncentrování na SPE (a) a se zkoncentrováním na SPE (b)

Vzorky nástřiku IBU byly odebrány vždy dva (na začátku a na konci experimentu) a každý byl na HPLC dávkován třikrát. Koncentrace IBU v nástřiku byly vypočteny z rovnice (22) kalibrační přímky 1 (viz Obr. 15) a pro následné výpočty byl použit jejich průměr. Průměrná koncentrace IBU v nástřiku byla 15,4 mg^l⁻¹.

$$plocha\ IBU = 36,179 \times c_{IBU} [mg\ l^{-1}] + 74,679 \quad (22)$$

Permeáty byly před analýzou na HPLC zpracovány stejným způsobem jako roztoky kalibrační řady 2 a pro výpočet koncentrace IBU byla použita průměrná plocha (ze tří měření) vynásobená objemovým faktorem. Koncentrace byla dopočtena z rovnice (23) kalibrační přímky 2.

$$plocha\ IBU = 3936,8 \times c_{IBU} [mg\ l^{-1}] + 15,235 \quad (23)$$

Vliv tlakového rozdílu na skutečnou a pozorovanou rejekci IBU membránou AFC 80 je uveden v Tabulce 18. Koncentrace IBU v permeátu byly stanoveny pouze pro tlakový rozdíl 5 a 10 bar. U vyšších tlakových rozdílů byla koncentrace IBU v permeátu nižší než LOQ, a proto byla pro výpočet skutečných a pozorovaných rejekcí místo experimentálně změřených koncentrací použita právě tato LOQ. Skutečné a pozorované rejekce IBU jsou si velmi blízké (viz Tabulka 18). Pozorovaná rejekce této membrány byla vyšší než 99,8 % (koncentrace IBU v permeátu byla pod mezí detekce zvolené analytické metody). Hlavním mechanismem zadržení IBU na této membráně je pravděpodobně síťový efekt.

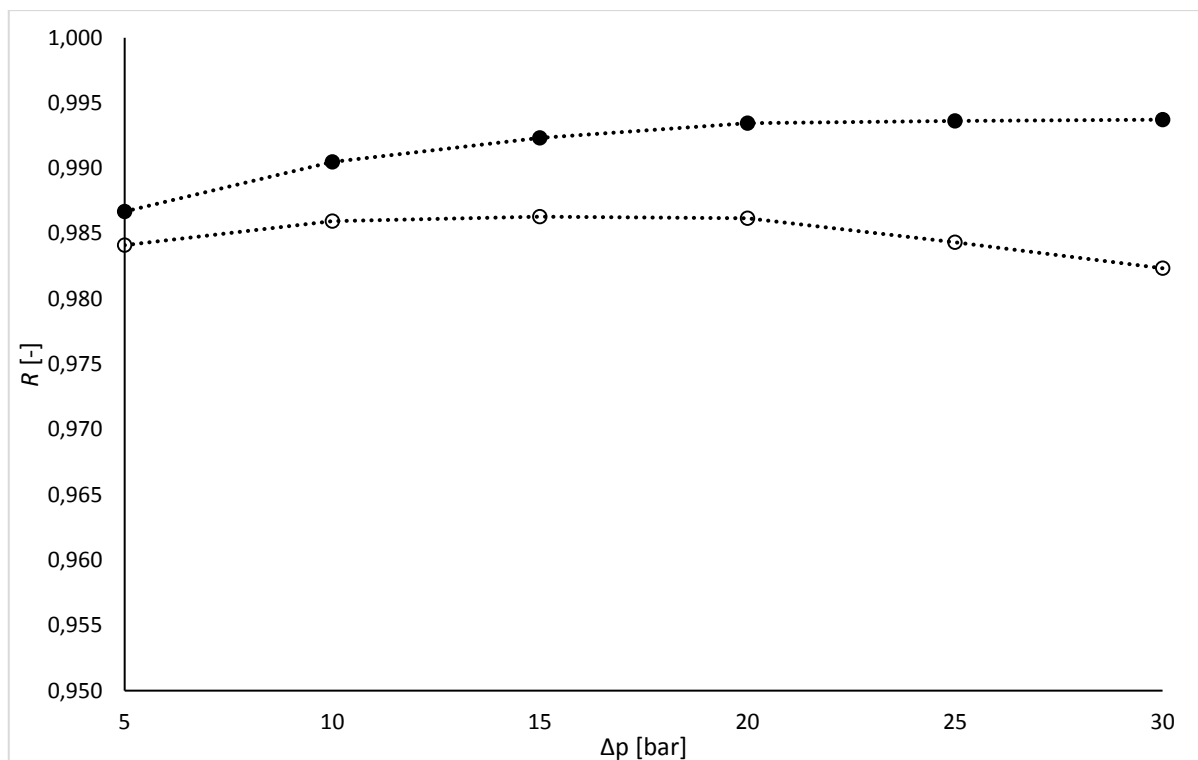
Tabulka 18 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejekce IBU při použití membrány AFC 80

Δp [bar]	J [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$]	c_{iP} [mg l^{-1}]	c_{iM} [mg l^{-1}]	R_0 [-]	R_{Mi} [-]
10	15,4	0,08	21,6	0,996	0,996
15	23,4	0,05	22,5	0,997	0,998
20	31,3	< 0,042	$\geq 23,5$	> 0,998	> 0,998
25	39,2	< 0,042	$\geq 24,5$	> 0,998	> 0,998
30	46,5	< 0,042	$\geq 25,5$	> 0,998	> 0,998

Vliv tlakového rozdílu na skutečnou a pozorovanou rejekci IBU membránou AFC 40 je uveden na Obr. 16 a v Tabulce 19. Z Obr. 16 je patrné, že skutečné rejekce IBU jsou vyšší, než jsou jeho pozorované rejekce. Rozdíl mezi jednotlivými body je v souladu se závěry kapitoly 1.5.2 a představuje vliv koncentrační polarizace. Ibuprofen byl na membráně AFC 40 nejlépe zadržen při tlakovém rozdílu 20 bar. Další zvyšování tlakového rozdílu způsobovalo vyšší vliv koncentrační polarizace, který se projevil snižováním pozorované rejekce. Skutečná rejekce se vzrůstajícím Δp stále roste. Pozorovaná rejekce dosahuje hodnotu 98,6% při optimálním tlakovém rozdílu (20 bar). Hlavními mechanismy zadržení IBU na této membráně jsou pravděpodobně síťový efekt společně s elektrickým efektem. Hodnota *cut-off* membrány AFC 40 je menší než molekulová hmotnost IBU a podobně i Stokesův poloměr IBU je větší než vypočtený poloměr štěrbinových pórů.

Tabulka 19 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejekce IBU při použití membrány AFC 40

Δp [bar]	J [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$]	c_{iP} [mg l^{-1}]	c_{iM} [mg l^{-1}]	R_0 [-]	R_{Mi} [-]
5	33,4	0,25	18,9	0,984	0,987
10	73,5	0,22	23,4	0,986	0,990
15	109,7	0,22	28,4	0,986	0,992
20	141,4	0,22	33,6	0,986	0,993
25	169,9	0,25	39,0	0,984	0,994
30	195,5	0,28	44,6	0,982	0,994



Obr. 16 Porovnání skutečné (●) a pozorované (○) rejekce IBU pro membránu AFC 40

3.3.1 Vliv pH a objemového průtoku nástřiku na rejekci ibuprofenu

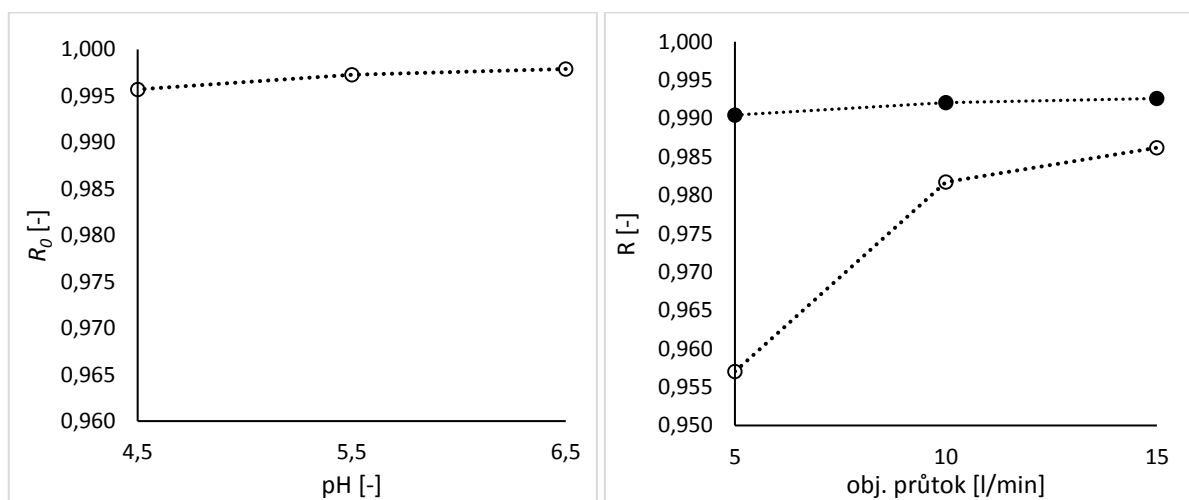
Hodnota pH nástřiku má významný vliv jak na náboj membrány, tak i na stabilitu a disociaci analytu. V těchto experimentech byla předpokládána stabilita léčiva v experimentálním rozsahu pH (6,5 – 4,5). Nižší pH v experimentu nebylo zvoleno, protože v rámci přípustného znečištění je povolen roční průměr pH pro povrchové vody v rozsahu hodnot pH 5 – 9⁸.

Experiment byl proveden při konstantním $\Delta p = 20$ bar. Intenzita toku permeátu membránou AFC 80 se s klesající hodnotou pH nezměnila. Podobný vliv byl pozorován i v případě léčiva (při pH 4,5 došlo k zanedbatelnému poklesu rejekce ve srovnání s hodnotou rejekce při pH 6,5) (viz Obr. 17). Nízký vliv hodnot pH na rejekci IBU může být způsoben dvěma faktory. Izoelektrický bod membrány AFC 80 je až při pH 3,6 [67] a tedy náboj membrány zůstal ve zkoumaném rozsahu pH záporný. S nabitím membrány souvisí i velikost pórů a současně s velikostí pórů souvisí i hodnoty intenzity toku permeátu a rejekce. Čím menší velikost pórů, tím vyšší R a nižší J [48]. Vliv na rejekci má i samotné léčivo. Ibuprofen nese při pH 7 záporný náboj (viz Tabulka 6). Při okyselování postupně dochází k jeho protonizaci, až se při určité hodnotě pH stane nedisociovanou, neutrální látkou. Stupeň

⁸ Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.

disociace IBU je dán jeho hodnotou pKa (viz Tabulka 6). Všechny výše uvedené poznatky naznačují, že hlavním mechanismem zadržení léčiva na membráně je síťový efekt.

Vliv objemového průtoku, resp. rychlosti proudění nástříku, byl zkoumán na membráně AFC 40 při $\Delta p = 20$ bar. Objemový průtok byl zvolen v rozsahu 5 – 15 lmin⁻¹, což odpovídá rychlostem proudění nástříku (u) 0,7 – 2 ms⁻¹. Z těchto hodnot je možné určit hodnotu Re v rozmezí 9,5 – 28,5.10³. Z určených hodnot Re vyplývá, že měření probíhala v turbulentní oblasti proudění. Takto je potvrzena správnost volby kritériální rovnice pro výpočet Sh (Deisslerova korelace, viz rovnice (5)). Z Obr. 17 je patrný relativně významný pokles rejekce z cca 98,6 % při průtoku 10 lmin⁻¹ na hodnotu 95,7 % při 5 lmin⁻¹. Tento pokles byl opět způsoben vlivem koncentrační polarizace. Hodnota skutečné rejekce, kterou neovlivňuje koncentrační polarizace, zůstala konstantní (byla v rozmezí 99 – 99,3 % při průtocích nástříku od 5 – 15 lmin⁻¹). Pro danou konfiguraci (trubková membrána, průměr 1,25 cm) je vhodné volit průtok nástříku nad hodnotu 10 lmin⁻¹, kdy je při nižší spotřebě energie stále dosaženo vysoké pozorované rejekce IBU (cca 98,2 %).



Obr. 17 Vliv pH a objemového průtoku na pozorovanou (○) a skutečnou (●) rejekci IBU

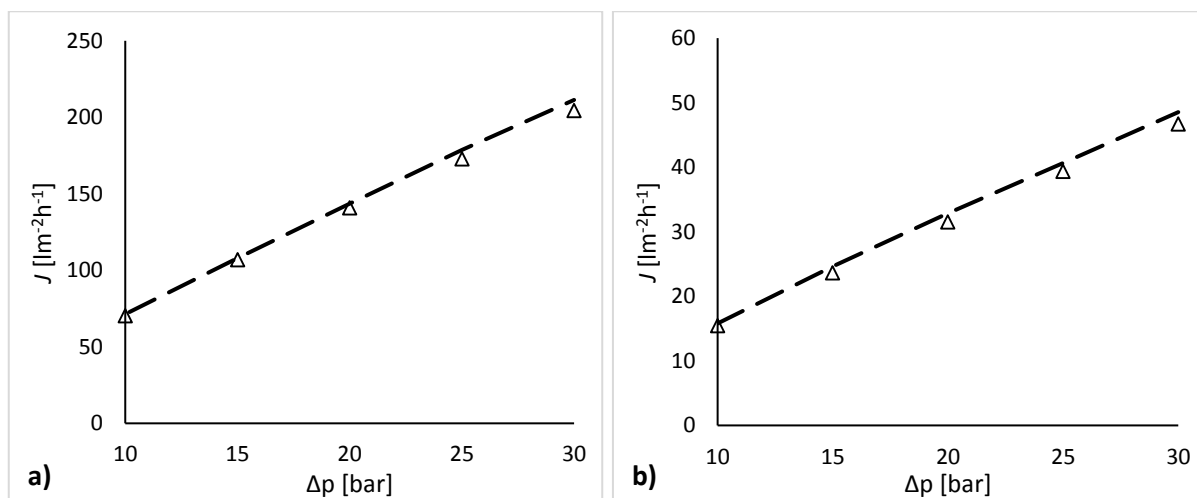
Tabulka 20 Vliv hodnot pH a objemového průtoku nástříku na rejekci IBU

AFC 80 – vliv pH			AFC 40 – vliv objemového průtoku (\dot{V})					
pH	c_{iP} [mg l ⁻¹]	R_o [-]	\dot{V} [lmin ⁻¹]	J [lm ⁻² h ⁻¹]	c_{iP} [mg l ⁻¹]	c_{iM} [mg l ⁻¹]	R_o [-]	R_{Mi} [-]
6,5	< 0,042	> 0,998	5	131,7	0,68	71,4	0,957	0,990
5,5	0,05	0,997	10	132,5	0,29	36,5	0,982	0,992
4,5	0,07	0,996	15	141,4	0,22	29,7	0,986	0,993

3.4 Vliv experimentálních podmínek na rejekci diklofenaku

Za účelem co nejúčinnějšího odstranění DIC z vody byl zkoumán vliv různých provozních podmínek, jako např. Δp nad a pod membránou nebo vliv rostoucí iontové síly v roztoku.

Intenzita toku permeátu DIC byla proměřena pro obě membrány a výrazně se nelišila od intenzity toku čisté vody (viz Obr. 18). Podobně jako u IBU, se ani u DIC díky nízkým koncentracím neprojevil vliv osmotického tlaku a téměř identické hodnoty J a J_w umožnily aplikovat stejný předpoklad pro určení ρ a η roztoku, který byl použit při výpočtu skutečných rejekcí IBU pomocí filmového modelu.



Obr. 18 Porovnání hodnot J_w (---) a hodnot J DIC (Δ) pro membránu AFC 40 (a) a membránu AFC 80 (b)

Parametry pro výpočet vlivu koncentrační polarizace pomocí filmového modelu byly stanoveny stejným způsobem jako pro IBU (viz kapitola 3.3) včetně charakteristik DIC popsaných v Tabulce 6, a parametrů, které závisí na způsobu provedení experimentu (kromě stanovení koncentrace DIC ve vzorcích).

Pro stanovení koncentrace DIC v nástřiku a permeátu byly připraveny dvě kalibrační řady, tj. kalibrační řada 1 pro stanovení koncentrace léčiva v nástřiku a kalibrační řada 2 pro stanovení koncentrace léčiva v permeátu.

Kalibrační roztoky z řady 1 byly do přístroje dávkovány vždy třikrát. Stanovená LOQ pro DIC byla $3,4 \text{ mg l}^{-1}$. Koncentrace a jejich plochy, které byly nižší než LOQ, nebyly při určení kalibrační přímky zahrnuty (Obr. 19). Ze zjištěných ploch pak byla vypočtena průměrná plocha – viz Tabulka 21.

Tabulka 21 Kalibrační přímka DIC 1 (bez zkoncentrování)

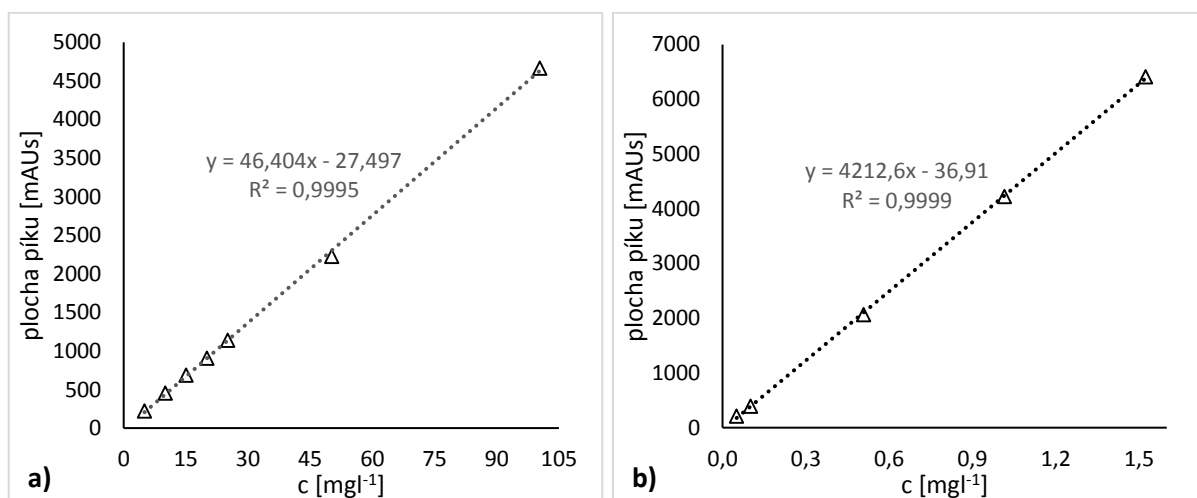
ID	c DIC [mg ^l ⁻¹]	plocha píku [mAU.s]
ST1	100,4	4666
ST2	50,2	2225
ST3	25,1	1136
ST4	20,1	905
ST5	15,1	687
ST6	10,0	452
ST7	5,0	220

Kalibrační roztoky z řady 2 musely být před analýzou na HPLC extrahovány metodou SPE a po eluci byly bez dalších úprav (každý třikrát) dávkovány do HPLC a ze zjištěných ploch byla vypočtena průměrná plocha. Pro eliminaci vlivu různého objemu koncentráту po eluci mezi vzorky na výslednou koncentraci léčiva byl zaveden tzv. objemový faktor. Objemový faktor vztahuje objem koncentráту po eluci (zjištěného diferenčním vážením zkumavky před a po jímání koncentráту) k objemu elučního činidla (2 ml). Tímto objemovým faktorem byla vynásobena průměrná plocha píku (v Tabulce 22 je označena jako plocha*). Plocha* odpovídá ploše, kterou by způsobilo množství léčiva ve 2 ml rozpouštědla. Koncentrace u vzorků permeátu byly touto technikou průměrně zvýšeny 109krát.

Tabulka 22 Kalibrační přímka DIC 2 (se zkoncentrováním na SPE)

ID	c DIC [mg ^l ⁻¹]	plocha píku* [mAU.s]
R1	1,52	6408
R2	1,02	4223
R3	0,51	2064
R4	0,10	392
R5	0,05	210

LOQ stanovená pro vzorky DIC zkoncentrované pomocí SPE byla 0,043 mg^l⁻¹. Pro sestavení kalibrační přímky byly zahrnuty všechny připravené kalibrační roztoky (Obr. 19).



Obr. 19 Kalibrační přímky DIC bez zkoncentrování na SPE (a) a se zkoncentrováním na SPE (b)

Vzorky nástřiku DIC byly odebrány vždy dva (na začátku a na konci experimentu) a každý byl na HPLC dávkován třikrát. Koncentrace DIC v nástřiku byly vypočteny z rovnice (24) kalibrační přímky 1 a pro následné výpočty byl použit jejich průměr. Průměrná koncentrace DIC v nástřiku byla 17,4 mg l^{-1} .

$$plocha\ DIC = 46,404 \times c_{DIC}[mg\ l^{-1}] - 27,497 \quad (24)$$

Permeáty byly před analýzou na HPLC zpracovány stejným způsobem jako roztoky kalibrační řady 2 a pro výpočet koncentrace DIC byla použita průměrná plocha (ze tří měření) vynásobená objemovým faktorem. Koncentrace byla vypočtena z rovnice (25) kalibrační přímky 2.

$$plocha\ DIC = 4212,6 \times c_{DIC}[mg\ l^{-1}] - 36,91 \quad (25)$$

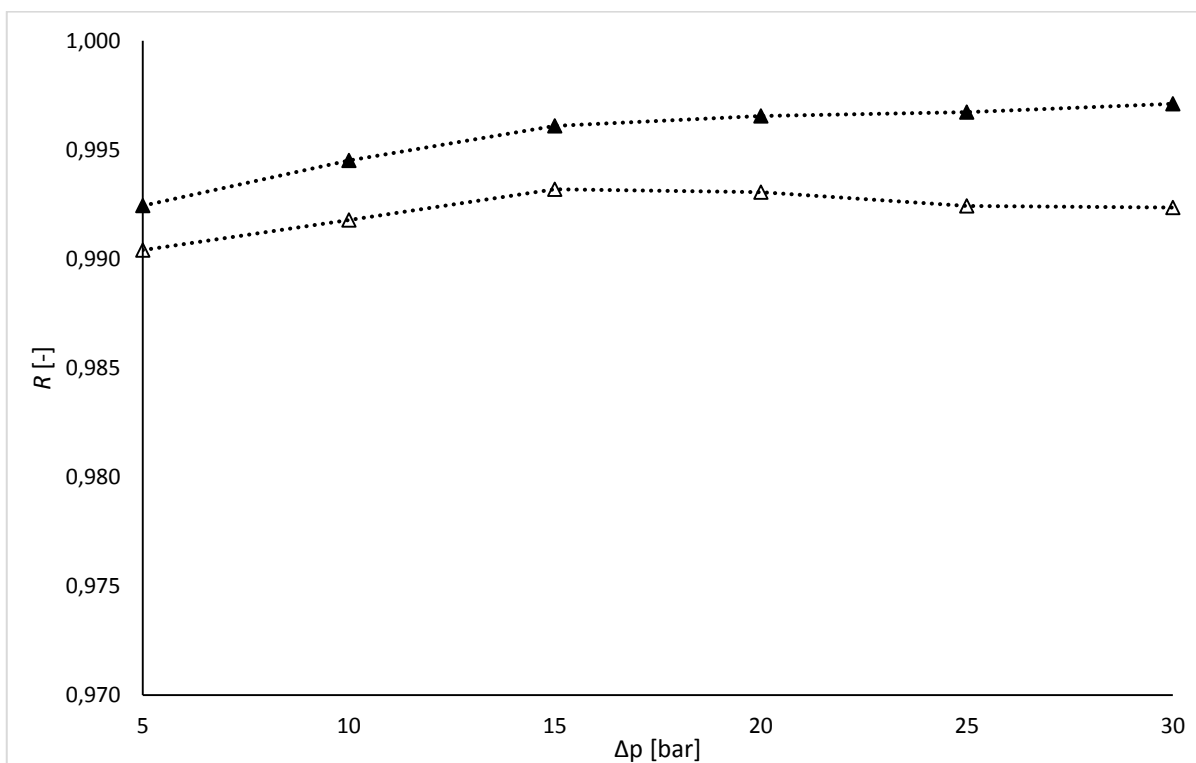
Vliv tlakového rozdílu na skutečnou a pozorovanou rejekci DIC při použití membrány AFC 80 je uveden v Tabulce 23. Koncentrace DIC v permeátu byly nižší než hodnota LOQ pro permeáty a pro výpočet skutečných a pozorovaných rejekcí byl místo experimentálně změřených koncentrací použita právě tato hodnota LOQ. Skutečné a pozorované hodnoty rejekce DIC jsou si velmi blízké (viz Tabulka 23). Hlavním mechanismem zadržení DIC na této membráně je pravděpodobně síťový efekt.

Tabulka 23 Experimentálně naměřená data a vypočtené hodnoty skutečné rejekce DIC při použití membrány AFC 80

Δp [bar]	J [lm $^{-2}$ h $^{-1}$]	c_{iP} [mg l^{-1}]	c_{iM} [mg l^{-1}]	R_0 [-]	R_{Mi} [-]
10	15,4	< 0,043	$\geq 18,6$	> 0,998	> 0,998
15	23,6	< 0,043	$\geq 19,3$	> 0,998	> 0,998
20	31,5	< 0,043	$\geq 19,9$	> 0,998	> 0,998
25	39,4	< 0,043	$\geq 20,6$	> 0,998	> 0,998
30	46,7	< 0,043	$\geq 21,3$	> 0,998	> 0,998

Vliv tlakového rozdílu na skutečnou a pozorovanou rejekci DIC při použití membrány AFC 40 je uveden na Obr. 20 a v Tabulce 24. Z Obr. 20 je patrné, že skutečné rejekce DIC jsou vyšší, než jsou jeho pozorované rejekce. Rozdíl mezi jednotlivými body je opět v souladu se závěry uvedenými v kapitole 1.5.2 a představuje vliv koncentrační polarizace. Diklofenak byl membránou AFC 40 velmi dobře zadržen již při $\Delta p = 5$ bar. Další zvyšování tlakového rozdílu nezpůsobilo výraznou změnu v rejekci DIC. Hlavními mechanismy zadržení DIC na této membráně jsou síťový efekt společně s elektrickým efektem. Hodnota

cut-off membrány je menší, než molekulová hmotnost DIC, podobně i Stokesův poloměr DIC je větší než vypočtený poloměr štěrbinových pórů.



Obr. 20 Porovnání skutečné (▲) a pozorované (Δ) rejekce DIC při použití membrány AFC 40

Tabulka 24 Experimentálně naměřená data včetně vypočtené skutečné rejekce DIC při použití membrány AFC 40

Δp [bar]	J [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$]	c_{iP} [mg l^{-1}]	c_{iM} [mg l^{-1}]	R_o [-]	R_{Mi} [-]
5	31,7	0,15	20,2	0,990	0,992
10	70,4	0,13	23,9	0,992	0,995
15	106,9	0,11	27,9	0,993	0,996
20	140,8	0,11	32,2	0,993	0,997
25	172,8	0,12	36,9	0,992	0,997
30	204,4	0,12	42,2	0,992	0,997

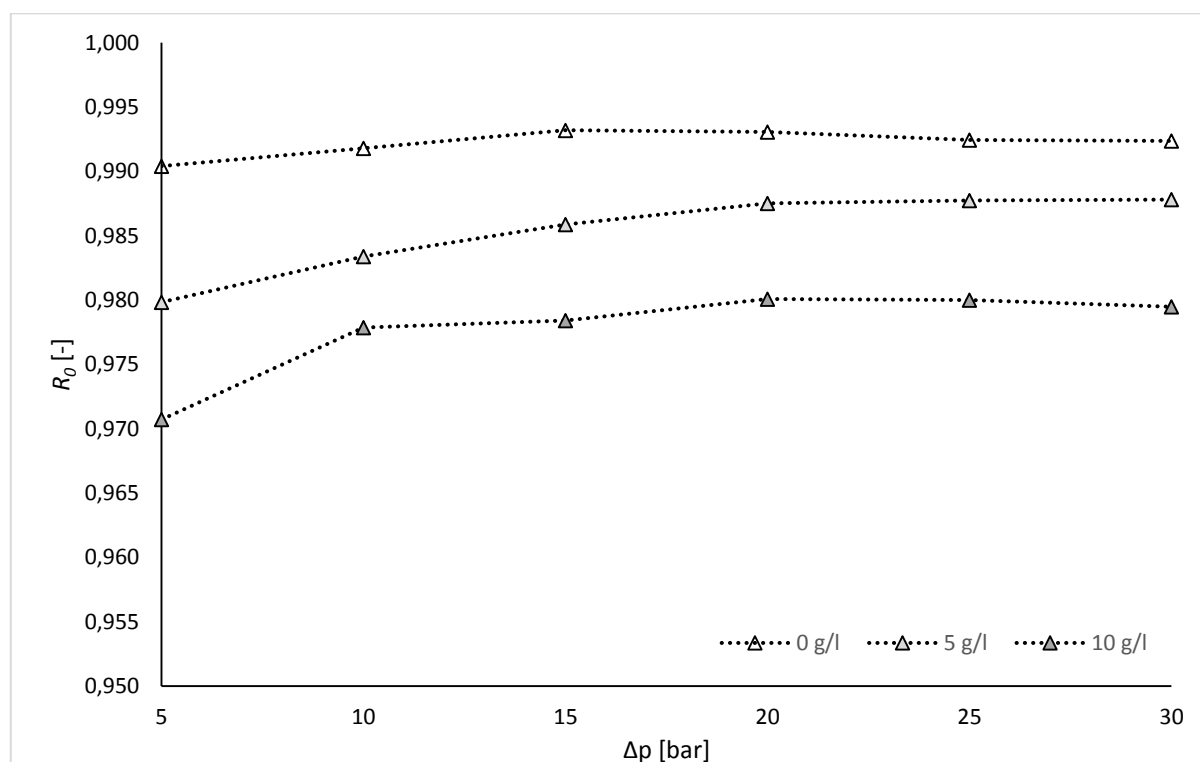
3.4.1 Vliv iontové síly roztoku na rejekci diklofenaku

Inotová síla nástřiku byla upravena přidávkem NaCl na koncentraci 5 gl^{-1} (simulace solí v OV) a po odebrání vzorků byla iontová síla zvýšena dalším přidávkem NaCl na výslednou koncentraci 10 gl^{-1} v nástřiku (zkonzentrování solí ve vodě pomocí NF). V obou případech byl vliv iontové síly proměřen v rozsahu Δp 5 – 30 bar. Rostoucí iontová síla roztoku působila pokles jak intenzity toku permeátu, tak i rejekce léčiva membránou AFC 40. Nejvýraznější pokles intenzity toku permeátu i rejekce byl při změně obsahu NaCl z 0 gl^{-1} NaCl na 5 gl^{-1} NaCl (viz Tabulka 25 a Obr. 21). Rozdíl mezi křivkami představuje vliv iontové síly. Z kapitoly 3.4 je zřejmé, že rejekce roste s rostoucí intenzitou toku permeátu

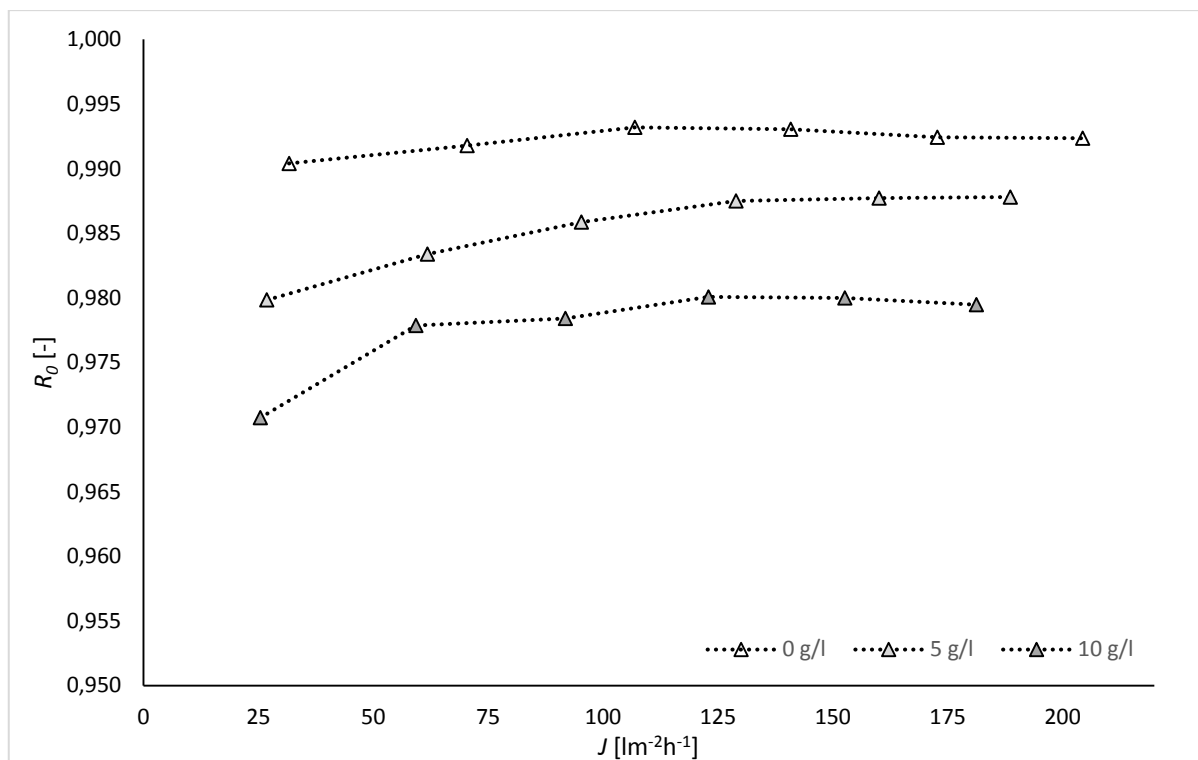
(s rostoucím tlakovým rozdílem). Pokles rejekce by bylo možné přisuzovat snížení intenzity toku permeátu s rostoucí iontovou silou (viz Tabulka 25). Tento pokles intenzity toku permeátu je způsoben vzrůstající koncentrací NaCl a tedy i rostoucím osmotickým tlakem, který snižuje hnací sílu.

Tabulka 25 Vliv koncentrace soli na rejekci DIC při použití membrány AFC 40

Δp [bar]	J [lm^2h^{-1}]			R_0 [%]		
	koncentrace NaCl [g l^{-1}] v nástríku					
	0	5	10	0	5	10
5	31,7	26,8	25,4	0,990	0,980	0,971
10	70,4	61,8	59,2	0,992	0,983	0,978
15	106,9	95,3	91,8	0,993	0,986	0,978
20	140,8	129,0	123,0	0,993	0,988	0,980
25	172,8	160,1	152,6	0,992	0,988	0,980
30	204,4	188,6	181,3	0,992	0,988	0,980



Obr. 21 Porovnání vlivu iontové síly roztoku na pozorovanou rejekci DIC v závislosti na tlakovém rozdílu



Obr. 22 Porovnání vlivu iontové síly roztoku na pozorovanou rejekci DIC v závislosti na intenzitě toku permeátu

Z Obr. 22 je patrné, že snížení intenzity toku permeátu nemá takový vliv na snížení pozorované rejekce léčiva. Při zvýšení iontové síly se uplatní „stínící“ efekt náboje, kdy ionty v roztoku překryjí náboj membrány [77]. Díky tomu klesá vliv elektrostatického odpuzování mezi záporně nabitou membránou AFC 40 a záporně nabitým léčivem. Při nejvyšší koncentraci lze pravděpodobně zanedbat vliv elektrostatického efektu. Z porovnání hodnot pozorovaných rejekcí bez přídavku soli a při koncentraci NaCl 10 g l^{-1} (99,3 vs. 98 %) je zřejmé, že hlavním separačním mechanismem je síťový efekt.

3.5 Spieglerův-Kedemové (SK) model pro ibuprofen a diklofenak

Reflexní koeficient σ a permeabilita rozpuštěné látky P membránou AFC 40 byla vypočtena pomocí rovnice (14) (viz kapitola 1.5.3.). Nalezení optimálních hodnot σ a P bylo provedeno pomocí iterační funkce „Řešitel“ v MS Excel. Účelová funkce pro řešení byla vyjádřena jako suma poměru druhých mocnin odchylek mezi rejekcí vypočtenou pomocí modelu (R_{SK}) a R_{Mi} , vypočtené z filmového modelu k hodnotě R_{Mi} . Účelová funkce byla stanovena pomocí rovnice (26), v „Řešiteli“ nastavena na minimum a proměnnou modelu byl nejprve parametr P , kdy za koeficient σ byla nejprve dosazena hodnota R_{Mi} léčiva při $\Delta p = 30 \text{ bar}$. Po optimalizaci P byl proměnnou modelu parametr σ a po optimalizaci σ , byly proměnou funkcí oba parametry (P i σ) současně (viz Tabulka 27).

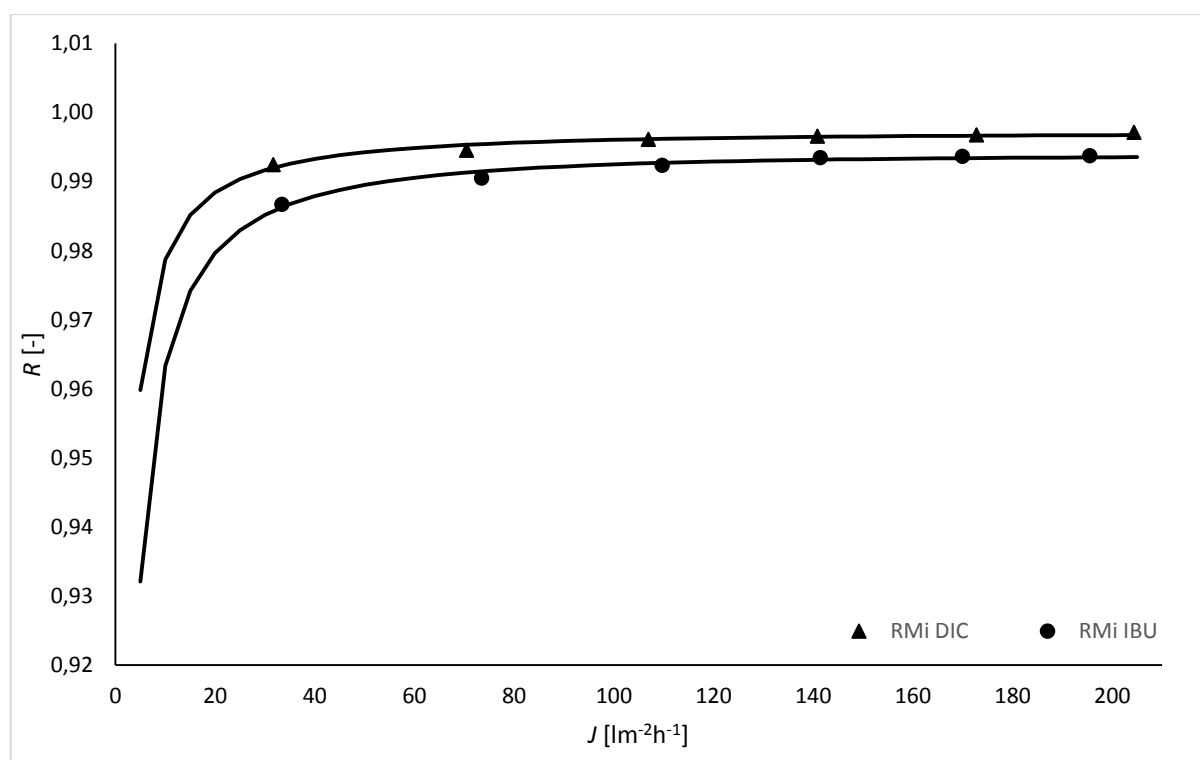
$$\text{ÚF} = \sum \frac{(R_{Mi} - R_{SK})^2}{R_{Mi}} \quad (26)$$

V Tabulce 26 jsou zobrazeny hodnoty vlastních rejekcí R_{Mi} , rejekcí získaných po dosažení optimalizovaných parametrů do rovnice pro výpočet modelové rejekce R_{SK} v závislosti na intenzitě toku permeátu J .

Tabulka 26 Experimentálně stanovené a vypočtené hodnoty skutečných rejekcí léčiv pro membránu AFC 40

J [$\text{lm}^{-2}\text{h}^{-1}$]		R_{Mi} [-]		R_{SK} [-]	
DIC	IBU	DIC	IBU	DIC	IBU
31,7	33,4	0,992	0,987	0,992	0,986
70,4	73,5	0,995	0,991	0,995	0,992
106,9	109,7	0,996	0,992	0,996	0,993
140,8	141,4	0,997	0,994	0,997	0,993
172,8	169,9	0,997	0,994	0,997	0,993
204,4	195,5	0,997	0,994	0,997	0,994

Správnost získaných parametrů byla ověřena graficky ze závislosti R_{Mi} , R_{SK} na hodnotě J . Z Obr. 23 je patrné, že modelem SK (plná čára) bylo pro obě léčiva získáno relativně přesné proložení experimentálně určených hodnot rejekcí. Z Tabulky 27 je pak vysoká přesnost určených parametrů zřejmá z hodnot účelové funkce.



Obr. 23 Porovnání experimentálních hodnot skutečných rejekcí léčiv při pH 6,5 a teplotě 25 °C s modelem (—) pro membránu AFC 40

Z Obr. 23 je dále patrný pokles modelové rejekce pro nízké intenzity toku permeátu související s nízkým tlakovým rozdílem. Při nízkém tlakovém rozdílu se totiž uplatňuje vysoký transport difuzí, který je zodpovědný za nízkou rejekci. S rostoucím tlakovým rozdílem se začíná stále více uplatňovat transport konvekci, který způsobí zvyšování rejekce. Výsledky modelování rejekce na membráně AFC 40 jsou v souladu se závěry kapitoly 1.5.3. Z experimentálních hodnot skutečné rejekce byl i při nejnižší zkoumané hodnotě Δp převažujícím transportem léčiv konvekce.

Tabulka 27 Parametry modelu Spieglera-Kedemové pro obě léčiva

Léčivo	Parametry modelu Spieglera-Kedemové		ÚF
	P [$\text{lm}^2\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$]	σ [-]	
DIC	0,2007	0,997	1,00E-06
IBU	0,3458	0,994	1,50E-06

Vhodnost membrány AFC 40 pro eliminaci léčiv z vod naznačují i její relativně nízké permeability, které jsou v porovnání s permeabilitou membrány AFC 40 na čistou vodu u IBU 20,5krát nižší, a u DIC asi 35,4krát nižší.

4 ZÁVĚR

Práce byla zaměřena na odstraňování léčiv (ibuprofen, diklofenak) z modelových odpadních vod pomocí dvou tubulárních nanofiltračních membrán AFC 40 a AFC 80.

Před vlastním stanovením účinnosti odstranění léčiv z odpadních vod byly provedeny experimenty pro charakterizaci obou membrán. Permeabilita v případě membrány AFC 40 byla $7,1 \text{ lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$ a v případě membrány AFC 80 pak $1,6 \text{ lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$. Pro membránu AFC 40 byla provedena ještě podrobnější charakterizace pro určení její hodnoty *cut-off*, průměrného poloměru pórů a poměru pórovitosti membrány k tloušťce aktivní vrstvy. Separačními experimenty s nenabitými látkami byla určena hodnota *cut-off* v rozmezí $150 - 180 \text{ gmol}^{-1}$, průměrný poloměr v případě štěrbinových pórů $0,364 \text{ nm}$ a průměrný poměr pórovitosti k tloušťce aktivní vrstvy $2,56 \text{ }\mu\text{m}$. V případě válcovitých pórů byl určen průměrný poloměr pórů $0,48 \text{ nm}$ a poměr pórovitosti k tloušťce aktivní vrstvy $1,66 \text{ }\mu\text{m}$.

Nanofiltrace léčiv byla provedena při různých provozních podmínkách za účelem stanovení optimálních separačních podmínek pro dosažení co nejvyšší eliminace léčiv z modelových roztoků odpadních vod. Experimentální podmínky, především rozsah hodnot pH a vyšší obsah solí v nástřiku, byly nastaveny tak, aby simulovaly prostředí reálných odpadních a povrchových vod po jejich zkoncentrování (např. pomocí NF).

Rejekce ibuprofenu (IBU) byla sledována při různých tlakových rozdílech nad a pod membránou, různých hodnotách pH a rychlostech proudění nástřiku.

Pozorovaná rejekce při separaci IBU membránou AFC 80 byla při tlakovém rozdílu větším než 20 bar vyšší než 99,8 %. Nejvyšší pozorované rejekce IBU v případě membrány AFC 40 bylo dosaženo při $\Delta p = 15 \text{ bar}$ (98,6 %). Při vyšším tlakovém rozdílu ($> 20 \text{ bar}$) byl pozorován mírný pokles pozorované rejekce způsobený rostoucím vlivem koncentrační polarizace.

Vliv pH na rejekci IBU při separaci membránou AFC 80 byl zkoumán v rozmezí hodnot od 4,5 do 5,5. V celé této oblasti pH byly stanovené hodnoty rejekce přibližně stejné (cca 99,6 %).

Vliv rychlosti proudění nástřiku na rejekci IBU membránou AFC 40 byl výraznější. Rychlost proudění byla zkoumána v rozsahu hodnot $0,7 - 2,4 \text{ ms}^{-1}$. S vyšší rychlostí proudění rostla pozorovaná rejekce léčiva. Pro danou membránu, kdy je při nižší spotřebě energie stále dosaženo vysoké pozorované rejekce (cca 98,2 %), byla určena optimální rychlost proudění $1,4 \text{ ms}^{-1}$.

Rejekce diklofenaku (DIC) byla sledována při různých tlakových rozdílech a různé iontové síle nástríku.

Pozorovaná rejekce při separaci DIC membránou AFC 80 byla již při $\Delta p = 10$ bar větší než 99,7 %. Nejvyšší pozorované rejekce DIC v případě membrány AFC 40 bylo dosaženo při $\Delta p = 15$ bar (99,3 %). Při vyšším tlakovém rozdílu docházelo k nárůstu vlivu koncentrační polarizace, která způsobila nepatrný pokles pozorované rejekce.

Vliv velikosti iontové síly na rejekci DIC byl sledován při separaci na membráně AFC 40. Iontová síla nástríku byla zvýšena přidávkou NaCl nejprve na 5 gl^{-1} , následně na hodnotu 10 gl^{-1} . Zvyšování iontové síly způsobilo snižování pozorované rejekce DIC. Nejnižší pozorovaná rejekce byla stanovena při koncentraci NaCl 10 gl^{-1} (97,1 %) a při tlakovém rozdílu 5 bar.

Na závěr byl nanofiltrační proces charakterizován pomocí modelu Spieglera-Kedemové, ze kterého byly po dosazení experimentálních dat vypočteny transportní parametry léčiv při separaci membránou AFC 40. Reflexní koeficient uvedené membrány byl pro DIC 0,997 a pro IBU 0,994; permeabilita rozpuštěného DIC byla 0,2 a pro IBU pak měla hodnotu $0,35 \text{ lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$.

Na základě všech provedených experimentů je možné konstatovat, že membrána AFC 40 je vhodnější pro eliminaci (separaci) léčiv než membrána AFC 80, vzhledem k vysoké rejekci (vyšší než 97,1 %) pro obě léčiva při různých provozních parametrech. Zároveň má tato membrána 4,4krát vyšší permeabilitu, než membrána AFC 80.

5 POUŽITÁ LITERATURA

1. VÁŇA, M.; WANNER, F.; MATOUŠOVÁ, L.; FUKSA, J. „Možnosti odstraňování vybraných specifických polutantů v ČOV“, *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*. 2010, **52**, 1–2.
2. ECO TREND RESEARCH CENTRE S.R.O. Ministerstvo životního prostředí. *Optimalizace nakládání s kaly z komunálních čistíren odpadních vod* [Online]. 2015 [cit. 2017-3-18] Dostupné z: http://www.mzp.cz/cz/projekty_po8_opzp_2007_2013.
3. PEAKE, B.; BRAUND, R.; TONG A. A TREMBLAY, L. *Life-Cycle of Pharmaceuticals in the Environment*, Elsevier, 2016. ISBN: 978-1-907568-25-1.
4. BOLONG, N.; ISMAIL, AF.; SALIM, MR.; MATSUURA, T. „A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal“, *Desalination*. 2009, **239**(1-3), 229–246.
5. AN ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA COMPANY. Dictionary [Online]. [cit. 2016-11-2]. Dostupné z: <http://www.merriam-webster.com/dictionary/medication>.
6. BUSS, A.D.; BUTLER, M.S. „Natural Products as Drugs and Leads to Drugs: The Historical Perspectiv“, *Natural Product Chemistry for Drug Discovery*, Royal Society of Chemistry. 2010, 3–24. ISBN: 978-0-85404-193-0.
7. WERMUTH, C.G. *Practice of Medicinal Chemistry* (3rd Edition), Elsevier. 2008, 3–53 a 70–71. ISBN: 978-0-12-374194-3.
8. SVĚTOVÁ ZDRAVOTNICKÁ ORGANIZACE (WHO). *ATC skupiny* [Online]. 2010 [cit. 2016-11-11]. Dostupné z: http://www.sukl.cz/modules/medication/atc_tree.php.
9. HALFORD, GM.; LORDKIPANIDZÉ, M.; WATSON, SP. „50th anniversary of the discovery of ibuprofen: An interview with Dr Stewart Adams“, *Platelets*. 2012, **23**(6) 415–422.
10. SALLMANN, A.; PFISTER, R. „*Substituted phenylacetic acids and processes for their production*“. GB Patent 1139332, 08-01-1969.
11. WHO COLLABORATING CENTRE FOR DRUG STATISTICS METHODOLOGY. *ATC/DDD Index 2016/name=ibuprofen (diclofenac)* [Online]. 2015 [cit. 2016-11-11]. Dostupné z: http://www.whocc.no/atc_ddd_index/.
12. ADAM, Z.; FOJTÍK, Z.; SVAČINA, P.; OBROVSKÁ, M.; ŠEVČÍK, P. „Farmakologie

- neopioidních analgetik: informace pro praxi“, *Vnitřní lékařství*. 2006, Supplementum 3, 98–112.
13. VIRKUTYTE, J.; VARMA, RS.; JEGATHEESAN, V. Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater, IWA Publishing, 2010, 13–21. ISBN: 978-1-84339-316-0.
 14. SPESSARD, GO.; MIESSLER, GL. Organometallic Chemistry (2nd Edition), Oxford University Press, 2010, 376. ISBN: 978-0-19-533099-1.
 15. SIGMA-ALDRICH. Ibuprofen [Online]. 21. 9. 2016 [cit. 2016-11-17]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=ibuprofen&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=en®ion=CZ&focus=product>.
 16. FAGRON. Ibuprofen/MSDS [Online]. 6. 5. 2012 [cit. 2016-11-17]. Dostupné z: [https://fagron.com/sites/default/files/document/msds_coa/15687-27-1_\(CZ\).pdf](https://fagron.com/sites/default/files/document/msds_coa/15687-27-1_(CZ).pdf).
 17. SONNERGAARD, JM. „Impact of particle density and initial volume on mathematical compression models“, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000, **11**(4), 307–315.
 18. TAHERAN, M.; BRAR, SK.; VERMA, M.; SURAMPALLI, RY.; ZHANG, TC.; VALERO, JR. „Membrane processes for removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) from water and wastewaters“, *Science of the Total Environment*. 2016, **547**, 60–77.
 19. NARBAITZ, RM.; RANA, D.; DANG, HT.; MORRISSETTE, J.; MATSUURA, T.; JASIM, SY.; TABE, S.; YANG, P. „Pharmaceutical and personal care products removal from drinking water by modified cellulose acetate membrane: Field testing“, *Chemical Engineering Journal*. 2013, **225**, 848–856.
 20. YALKOWSKY, S.; DANNENFELSER, R. Ibuprofen DB01050/Properties [Online]. 1992 [cit. 1. 4. 2017]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01050>.
 21. SIGMA-ALDRICH. I1892 Ibuprofen sodium salt [Online]. [cit. 2017-4-1] Available: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/i1892?lang=de®ion=DE>.
 22. POUNDS, N.; MACLEAN, S.; WEBLEY, M.; PASCOE, D.; HUTCHINSON, T. „Acute and chronic effects of ibuprofen in the mollusc *Planorbis carinatus* (Gastropoda: Planorbidae)“, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008, **70**(1), 47–52.
 23. HAN, GH.; HUR, HG.; KIM, SD. „Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: Occurrence and toxicity to *Daphnia magna*“, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2006, **25**(1), 265–271.

24. SIGMA-ALDRICH. Diclofenac [Online]. 2016 [cit. 2016-11-17]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=diclofenac&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=en®ion=CZ&focus=product>.
25. FRAGON. Diclofenac Sodium/MSDS [Online]. 22. 6. 2012 [cit. 2016-11-17]. Dostupné z: [https://fagron.com/sites/default/files/document/msds_coa/15307-79-6_\(CZ\).pdf](https://fagron.com/sites/default/files/document/msds_coa/15307-79-6_(CZ).pdf).
26. KINCL, M.; MELEH, M.; VEBER, M.; VREČER, F. „Study of physicochemical parameters affecting the release of diclofenac sodium from lipophilic matrix tablets“, *ACTA CHIMICA SLOVENICA*. 2004, **51**(3), 409–425.
27. CLEUVERS, M. „Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects“, *Toxicology Letters*. 2003, **142**(3), 185–194.
28. KOTYZA, J.; SOUDEK, P.; KAFKA, Z.; VANĚK, T. „LÉČIVA – „NOVÝ“ ENVIROMENTÁLNÍ POLUTANT,“ *Chemické Listy*. 2009, **103**, 540–547.
29. ŠÍDLOVÁ, P.; PODLIPNÁ, R.; VANĚK, T. „CYTOSTATICKÁ LÉČIVA V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ,“ *Chemické Listy*. 2011, **105**, 8–14.
30. SÚKL. Hodnocení distribuovaných a vydaných léčivých přípravků za rok 2016. *Roční dodávky léčivých přípravků do ČR* [Online]. 15. 2. 2017 [cit. 2017-3-14]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/hodnoceni-distribuvanych-a-vydanych-lecivych-pripravku-za-1>.
31. WANNER, F.; VÁŇA, M.; FUKSA, JK.; MATOUŠOVÁ, L. „Odstraňování vybraných farmak při čištění odpadních vod v ČOV“, *Vodní hospodářství*. 9/2011, 361–363.
32. SZÚ. *Výskyt a zdravotní rizika zbytků humánních léčiv v pitných vodách* [Online]. 2009 – 2011 [cit. 2017-3-15]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/centrum-hygieny-zivotniho-prostredi/vyskyt-a-zdravotni-rizika-zbytku-humannich-leciv-v-pitnych>.
33. FÁBEROVÁ, M.; OČENÁŠKOVÁ, K.; BODÍK, I.; MACKUĽAK, T. „Vplyv liečiv na priebeh procesu anaeróbnej fermentácie“, *Vodní hospodářství*. 2/2015, **65**, 1–3.
34. FREISLEBEN, J.; VEJVODOVÁ, J.; SVÁTKOVÁ, M.; STIERAND, P.; HALÍŘOVÁ, J.; LEONTOVYČOVÁ, D. Úsek hydrologie. *Hydrologická bilance množství a jakosti vody České republiky 2015* [Online]. 8 2016 [cit. 2017-3-25]. Dostupné z: http://voda.chmi.cz/opzv/bilance/zprava_bilance_15.pdf.
35. SÁKRA, T.; DIRNER, V. *Modul 4: Ochrana vod* [Online]. [cit. 2016-9-16]. Dostupné z: <https://www.hgf.vsb.cz/export/sites/hgf/instituty-a-pracoviste/cs/546/studijni-materialy/EV-modul4.pdf>.

36. BRANSKÁ, L.; VÁVRA, J. EKONOMIKA A MANAGEMENT CHEMICKÝCH VÝROB, Pardubice, 2013, 13s. ISBN: 978-80-7395-663-9.
37. MŽP. *Aktualizovaný národní implementační plán Stockholmské úmluvy o perzistentních organických polutantech na léta 2012-2017* [Online]. 2012 [cit. 2016-4-22]. Dostupné z: http://dataplan.info/img_upload/7bdb1584e3b8a53d337518d988763f8d/nip-sc-2012.pdf.
38. STRŽÍTESKÝ, L. *Využití oxidačních procesů (AOP) pro odstraňování mikropolutantů*, Brno, 2012, 29s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební.
39. VOLAUFOVÁ, L. *Kvalita povrchových vod v České republice a její vývoj* [Online]. 2007 [cit. 2016-4-21]. Dostupné z: [http://www.cenia.cz/web/www/cenia-akt-tema.nsf/\\$pid/MZPMSFT33PSN/\\$FILE/vody.pdf](http://www.cenia.cz/web/www/cenia-akt-tema.nsf/$pid/MZPMSFT33PSN/$FILE/vody.pdf).
40. MŽP. *Evropské strukturální a investiční fondy* [Online]. 2014 [cit. 2016-4-21]. Dostupné z: https://www.sfzp.cz/soubor-ke-stazeni/52/15709-6_verze%20OPZP_%202014%20-%202020_SFC_final.pdf.
41. WANNER, F. *Úloha opětovného využívání vyčištěných odpadních vod v budoucím plánování vodních zdrojů v Evropě* [Online]. 25. 1. 2017 [cit. 2017-4-3]. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/clanek/voda/107404/uloha-opetovneho-vyuzivani-vycistenych-odpadnich-vod-v-budoucim-planovani-vodnich-zdroju-v-evrope>.
42. HORÁČKOVÁ, S. *Vodovody, kanalizace a vodní toky - 2015 (280021-16)* [Online]. 2. 5. 2016 [cit. 2017-3-6]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2015>.
43. JOSS, A.; ZABCZYNSKI, S.; GÖBEL, A.; HOFFMANN, B.; LÖFFLER, D.; MCARDELL, CS.; TERNES, TA.; THOMSEN, A.; SIEGRIST, H. „Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme“, *Water Research*. 2006, **40**(8), 1686–1696.
44. SNYDER, SA.; WERT, EC.; REXING, DJ.; ZEGERS, RE.; DRURY, DD. „Ozone Oxidation of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals in Surface Water and Wastewater“, *Ozone: Science and Engineering*. 2006, **28**(6), 445–460.
45. MIKULÁŠEK, P. TLAKOVÉ MEMBRÁNOVÉ PROCESY, Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2013, 19–253. ISBN 978-80-7080-862-7.
46. LIU, T-Y.; LIU, Z-H.; ZHANG, R-X.; WANG, Y.; VAN DER BRUGGEN, B. A WANG, X-L. „Fabrication of a thin film nanocomposite hollow fiber nanofiltration membrane for wastewater treatment“, *Journal of Membrane Science*. 2015, **488**, 92–102.

47. LigTech. *Technology Introduction* [Online]. 2017 [cit. 2017-4-3]. Dostupné z: <http://www.liqtech.dk/default.asp?page=tekst.asp&id=335&fader=181>.
48. GHERASIM, C-V.; CUHORKA, J.; MIKULÁŠEK, P. „Analysis of lead(II) retention from single salt and binary aqueous solutions by a polyamide nanofiltration membrane: Experimental results and modelling“, *Journal of Membrane Science*. 2013, **436**, 132–144.
49. GUR-REZNIK, S.; KOREN-MENASHE, I.; HELLER-GROSSMAN, L.; RUFEL, O.; DOSORETZ, CG. „Influence of seasonal and operating conditions on the rejection of pharmaceutical active compounds by RO and NF membranes“, *Desalination*. 2011, **277**(1-3), 250–256.
50. RÖHRICHT, M.; KRISAM, J.; WEISE, U.; KRAUS, UR.; DÜRING, R-A. „Elimination of Carbamazepine, Diclofenac and Naproxen from Treated Wastewater by Nanofiltration“, *Clean*. 2009, **37**(8), 638–641.
51. ACERO, JL.; BENITEZ, FJ.; TEVA, F.; LEAL, AI. „Retention of emerging micropollutants from UP water and a municipal secondary effluent by ultrafiltration and nanofiltration“, *Chemical Engineering Journal*. 2010, **163**(3), 264–272.
52. MOHAMMAD, AW.; TEOW, YH.; ANG, WL; CHUNG, YT.; OATLEY-RADCLIFFE, DL.; HILAL, N. „Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects“, *Desalination*. 2015, **356**, 226–254.
53. VERLIEFDE, ARD.; CORNELISSEN, ER.; HEIJMAN, SGJ.; PETRINIC, I.; LUXBACHERD, T.; AMY, GL.; VAN DER BRUGGEN, B.; VAN DIJK, JC. „Influence of membrane fouling by (pretreated) surface water on rejection of pharmaceutically active compounds (PhACs) by nanofiltration membranes“, *Journal of Membrane Science*. 2009, **330**(1-2), 90–103.
54. YANGALI-QUINTANILLA, V.; SADMANIA, A.; MCCONVILLE, M.; KENNEDY, M.; AMY, G. „Rejection of pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting compounds by clean and fouled nanofiltration membranes“, *Water Research*. 2009, **43**(9), 2349–2362.
55. BEIER, S.; KÖSTER, S; VELTMANN, K.; SCHRODER, H.; PINNEKAMP, J. „Treatment of hospital wastewater effluent by nanofiltration and reverse osmosis“, *Water Science and Technology*. 2010, **61**(7), 1691–1698.
56. KIMURA, K.; TOSHIMA, S.; AMY, G.; WATANABE, Y. „Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PhACs)

- by RO membranes“, *Journal of Membrane Science*. 2004, **245**(1-2) 73–85.
57. VERGILI, I. „Application of nanofiltration for the removal of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen from drinking water sources“, *Journal of Environmental Management*. 2013, **127**, 177–187.
58. AZAÏS, A. ; MENDRET, J.; GASSARA, S.; PETIT, E.; DERATANI, A.; BROSILLON, S. „Nanofiltration for wastewater reuse: Counteractive effects of fouling and matrice on the rejection of pharmaceutical active compounds“, *Separation and Purification Technology*. 2014, **133**, 313–327.
59. SADMANI, AHMA.; ANDREWS, RC.; BAGLEY, DM. „Nanofiltration of pharmaceutically active and endocrine disrupting compounds as a function of compound interactions with DOM fractions and cations in natural water“, *Separation and Purification Technology*. 2014, **122**, 462–471.
60. WANG, X-M.; LI, B. ; ZHANG, T.; LI, X-Y. „Performance of nanofiltration membrane in rejecting trace organic compounds: Experiment and model prediction“ *Desalination*. 2015, **370**, 7–16.
61. VONA, A.; DI MARTINO, F.; GARCIA-IVARS, J.; PICÓ, Y.; MENDOZA-ROCA, J.-A.; IBORRA-CLAR, M-I. „Comparison of different removal techniques for selected pharmaceuticals,“ *Journal of Water Process Engineering*. 2015, **5**, 48–57.
62. ARISTIZÁBAL-CIRO, C.; LUGUERA-GONZÁLEZ, S.; BOTERO-COY, A.; PEÑUELA, G.; HERNÁNDEZ, F.; OTERO-HERMIDAB, J. University of Antioquia. *AMTA* [Online]. 2. 2. 2016 [cit. 2017-4-23]. Dostupné z: <http://www.awwa.org/portals/0/files/education/conferences/membrane/mtc16/membrane%20papers/01-aristizabal-ciro%20paper.pdf>.
63. PCI MEMBRANES. *Tubular Membranes* [Online]. 2016 [cit. 2017-4-20]. Dostupné z: <http://www.pcimembranes.pl/download/13/Membrane-Information.pdf>.
64. BEŠTER-ROGAČ, M. „Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Ion Mobility: A Conductometric Study of Salicylate, Naproxen, Diclofenac and Ibuprofen Dilute Aqueous Solution“, *Acta Chimica Slovakia*. 2009, **56**(1), 70–77.
65. SU, WC.; CHOU, CH.; WONG, DSH.; LI, MH. „Diffusion coefficients and conductivities of alkylimidazolium tetrafluoroborates and hexafluorophosphates“, *Fluid Phase Equilibria*. 2007, **252**(1-2), 74–78.
66. OZAKI, H.; LI, H. „Rejection of organic compounds by ultra-low pressure reverse

- osmosis membrane“, *Water Research*. 2002, **36**(1), 126–127.
67. MIKULÁŠEK, P.; CUHORKA, J. „Removal of Heavy Metal Ions from Aqueous Solutions by Nanofiltration“, *Chemical Engineering Transactions*. 2016, **47**, 380–385.
68. HOURLIER, F.; MASSÉ, A.; JAOUEN, P.; LAKEL, A.; GÉRENTE, C.; FAUR, C.; LE CLOIREC, P. „Membrane process treatment for greywater recycling: investigations on direct tubular nanofiltration“, *Water Science and Technology*. 2010, **62**(7), 1546–1553.
69. WATERS. *Care and use manual – Oasis HLB Cartridges and 96-Well Plates* [Online]. 2014 [cit. 2017-1-16].
Dostupné z: <https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715000109.pdf>.
70. VYDROVÁ, L. „Využití separačních metod pro studium biologicky aktivních látek ve vodách“, Brno, 2011. 50–52, 58–62, 78, 84–87. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
71. GHERASIM, C.-V.; MIKULÁŠEK, P.; CHÝLKOVÁ, J.; KREJČOVÁ, A. „Evaluation of Structural and Charge Properties of Polyamide Nanofiltration Membrane“, *Scientific Papers of the University of Pardubice, Ser. A*. 2014, **20**, 343–359.
72. WANG, X-L.; TSURU, T.; TOGOH, M.; NAKAO, S-I.; KIMURA, S. „Evaluation of Pore Structure and Electrical Properties of Nanofiltration Membranes“, *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 1995, **28**(2), 186-192s.
73. FERNÁNDEZ-SEMPERE, J.; RUIZ-BEVIÁ, F.; COLOM-VALIENTE, J.; MÁSPÉREZ, F. „Determination of Diffusion Coefficients of Glycols“, *Journal of Chemical Engineering Data*. 1996, **41**(1), 47–48.
74. BRAGADÓTTIR, M.; REICHERT, J.; JÓNSDÓTTIR, R.; ÓLAFSDÓTTIR, G. *Verkefnaskýrsla Rf 37 – 06* [Online]. 2006 [cit. 2017-4-28]. Dostupné z: http://www.matis.is/media/utgafa/matra/Skyrsla_37-06.pdf.
75. OTERO, JA.; MAZARRASA, O.; VILLASANTE, J.; SILVA, V.; PRÁDANOS, P.; CALVO, JI.; HERNÁNDEZ, A. „Three independent ways to obtain information on pore size distributions of nanofiltration membranes“ *Science Direct*. 2008, **309**(1-2), 17–27.
76. SZYMCZYK, A.; LANTERI, Y.; FIEVET, P. „Modelling the transport of asymmetric electrolytes through nanofiltration membranes“, *Desalination*. 2009, **245**(1-3), 396–407.
77. LUO, J.; WAN, Y. „Effect of pH and salt on nanofiltration-a critical review“, *Journal of Membrane Science*. 2013, **438**, 18–28.

78. CÍDLOVÁ, H.; KOHOUTKOVÁ, B.; KŘIVÁNKOVÁ, P.; ŠTĚPÁNEK, K.; VALOVÁ, B. *Chemie 19. století* [Online]. 2011 [cit. 2016-11-11]. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/hist/19/organickachemie-vice.html>.