

國立臺灣大學環境工程學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Environmental Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

抗癌藥物在水體環境中的光降解：環磷醯胺及 5-氟尿嘧啶

Photodegradation of Anticancer Drugs in Aquatic Environments:

Cyclophosphamide and 5-Fluorouracil



方冠岳

Kuan-Yueh Fang

指導教授：林郁真 博士

Advisor: Angela Yu-Chen Lin, Ph.D.

中華民國 100 年 6 月

June, 2011

國立臺灣大學碩士學位論文

口試委員會審定書

抗癌藥物在水體環境中的光降解：環磷醯胺及 5-氟尿嘧啶

Photodegradation of Anticancer Drugs in Aquatic Environments:
Cyclophosphamide and 5-Fluorouracil

本論文係方冠岳君(學號 r98541134)在國立臺灣大學環境工程學研究所完成之碩(博)士學位論文，於民國 100 年 6 月 30 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

論文審查委員：

林郁真

林郁真 博士
國立臺灣大學環境工程學研究所副教授

林正芳

林正芳 博士
國立臺灣大學環境工程學研究所教授

A. Hong

Dr. Andy P. K. Hong, Ph.D., P.E
Professor, Civil and Environmental
Engineering, University of Utah

指導教授：

林郁真

所長：

張能復

誌謝

看著論文從無到有完成度逐漸增加，有時候連自己都不敢相信即將要完成這個不可能的任務，回顧這段求學生涯我要特別感謝恩師 林郁真老師耐心的教導，兩年來我這個不夠認真的學生總是給老師出了些難題，不論是當初在決定研究方向的撞牆期、論文撰寫不夠專業的迷糊期甚至口試前實驗不順利的亂流期，老師總是以鼓勵的方式建議我該補強哪些部份，同時又不厭其煩地協助我修正論文的細節，老師對我恩重如山，在此表達最誠摯的感謝。

另外承蒙林正芳老師及康佩群老師於口試期間的指導，啟發更多新的想法而讓這篇論文更趨完備，一併致上萬分謝意。

一直以來實驗室成員的情義相挺都是我最堅強的後盾，其中最辛苦的莫過於筱歡學姊，除了三不五時要被我追著討論實驗數據及進度報告，舉凡實驗室大小事務以及儀器操作維護都仰賴學姊的細心照料；同窗瑋潔則是最佳戰友，在數不清不能出去玩的週末一起留在實驗室打拼，而且在我實驗最困頓的時候也不斷勉勵我要一起畢業；婉寧在實驗後段幫了很多忙，有些後續事項要交由她進行，在此預先說聲謝謝；還有宗賢、宇庭、Hank、兆君、明皓、朝舜、涵方、威博、華琳、冠傑、建儒、Jerry，以及環工所一同修過課或曾經在樓梯轉角相遇過的同學們，謝謝你們陪我一起渡過這段難忘的時光。

我也要感謝智慧財產局同意給我這個難能可貴的進修機會，尤其要感謝周圍許多同仁的鼓勵還有吳科長、程副組長、賴組長、各級長官以及王局長的栽培，謝謝大家在近年來局裡人力吃緊的情況下還能容許我完成學業。

最後，謹將這篇論文獻給我最親愛的家人，謝謝你們給我的支持與關懷，就算三更半夜一個人留在學校顧實驗我也知道永遠有個溫暖的家在等著我回去，如果沒有你們的默默付出就不會造就今天的我。

冠岳 謹誌

摘要

本研究主要探討兩種廣泛使用的抗癌藥物環磷醯胺(cyclophosphamide)及 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)在水體環境中的光降解宿命。實驗方法為使用日光模擬器(氙弧燈， 765 W/m^2 ，波長大於 290 nm)模擬日光照射下目標化合物的直接、間接及環境水體中的光降解。實驗室的合成水質為單獨及綜合探討三種光降解前趨物質的影響，包括溶解性有機物質(dissolved organic matter, DOM)、硝酸鹽(nitrate)及碳酸氫鹽(bicarbonate)，另外選擇四個臺灣北部都會區的表面水體做為代表環境水體光降解的不同基質。

研究結果顯示環磷醯胺無法進行直接光降解，然而 5-氟尿嘧啶具有直接光降解的能力，其初始濃度 5 至 $500\text{ }\mu\text{g/L}$ 之半生期為 45.5 ± 5.1 至 74.9 ± 17.8 小時。DOM、硝酸鹽及碳酸氫鹽對於環磷醯胺及 5-氟尿嘧啶的光降解皆具有重要性。經由這三種前趨物質分別產生的氫氧自由基(hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$)及單重激發態氧(singlet oxygen, ${}^1\text{O}_2$)皆能與環磷醯胺及 5-氟尿嘧啶進行反應，然而激發態溶解性有機物質(triplet excited states of dissolved organic matter, ${}^3\text{DOM}^*$)及碳酸自由基(carbonate radical, $\cdot\text{CO}_3^-$)只能與 5-氟尿嘧啶進行反應。四個表面水體的基質雖然相當複雜，但整體光降解趨勢大致與實驗室合成水質得到的結論一致，可說明本研究所選擇的三種前趨物質即為在水體環境中主要影響光降解的物質。環磷醯胺及 5-氟尿嘧啶在景美溪水樣中的光降解半生期分別為 50.1 ± 0.5 及 9.2 ± 0.7 小時，經由本研究可說明環磷醯胺較具持久性而且可能容易殘留在自然水體環境裡。

關鍵字：光降解、環磷醯胺、5-氟尿嘧啶、溶解性有機物質、硝酸鹽、碳酸氫鹽、水體環境

ABSTRACT

This work aimed to investigate the photodegradation of two widely used anticancer drugs, cyclophosphamide and 5-fluorouracil. Direct, indirect and surface water photolysis experiments were processed by sunlight simulator (Xenon–arc lamp, 765 W/m², wavelength above 290 nm). Three precursors which generate photoreactive species including dissolved organic matter (DOM), nitrate and bicarbonate were studied individually and in combination in the indirect photolysis batch experiments. Four surface water samples were collected from the metropolitan area in northern Taiwan and were used to study the effect of different water matrices.

Results show that cyclophosphamide does not undergo direct photolysis while 5-fluorouracil can be directly photodegraded with initial concentration from 5 to 500 µg/L, having corresponding half-lives 45.5 ± 5.1 to 74.9 ± 17.8 hours. DOM, nitrate and bicarbonate demonstrated to be important factors for cyclophosphamide and 5-fluorouracil photodegradation. Produced by the three precursors, the hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and singlet oxygen (${}^1\text{O}_2$) can both react with cyclophosphamide and 5-fluorouracil, but triplet excited states of dissolved organic matter (${}^3\text{DOM}^*$) and carbonate radical ($\cdot\text{CO}_3^-$) can only react with 5-fluorouracil. Although the matrices were quite complex in the four surface water samples, their overall photodegradation rate were consistent with the conclusion of the indirect photolysis batch experiments, it indicates that the selected three precursors are the major materials affecting the photodegradation in the aquatic environments. The half-lives of cyclophosphamide and 5-fluorouracil in JingMei River sample were 50.1 ± 0.5 and 9.2 ± 0.7 hours, indicating that cyclophosphamide is more persistent. This possibly explains its high occurrence in the nature aquatic environments.

Keywords: photodegradation, cyclophosphamide, 5-fluorouracil, dissolved organic matter (DOM), nitrate, bicarbonate, aquatic environments



目錄

摘要	i
ABSTRACT	ii
目錄	iv
圖目錄	vii
表目錄	ix
第一章 緒論	1
1.1 研究緣起	1
1.2 研究目的	2
1.3 研究內容	2
第二章 文獻回顧	3
2.1 Cyclophosphamide (環磷醯胺) 及 5-fluorouracil (5-氟尿嘧啶)	3
2.1.1 物化性質	3
2.1.2 來源與使用	3
2.1.3 藥理機制	4
2.1.4 生物毒性	4
2.1.5 環境生態毒性	5
2.1.6 環境流佈	6
2.1.7 工程處理方法	7
2.2 光降解反應原理與機制	9
2.2.1 直接光降解	9
2.2.2 間接光降解	10
2.3 PPCPs 在環境中的光降解宿命	13
第三章 實驗方法	17
3.1 實驗設計流程	17
3.2 實驗藥品及儀器設備	20
3.2.1 藥品明細	20
3.2.2 儀器設備	20

3.2.3 液相層析串聯質譜儀.....	21
3.3 光降解實驗儀器架設	22
3.4 光降解實驗方式	23
3.4.1 照光實驗(photolysis).....	23
3.4.2 未照光實驗(dark control).....	23
3.4.3 取樣間隔及定量分析	23
3.4.4 數據整理	23
3.5 實驗步驟	24
3.5.1 化合物標準品儲備溶液	24
3.5.2 光降解實驗初始濃度的配置	24
3.5.3 UV-Vis 吸收光譜	24
3.5.4 直接光降解	24
3.5.5 間接光降解(合成水質)	25
3.5.6 環境水體光降解	26
3.6 定量分析方法	29
3.6.1 目標化合物濃度定量分析	29
3.6.2 環境水體水質分析	29
第四章 結果與討論	31
4.1 UV-Vis 吸收光譜	31
4.2 直接光降解	33
4.2.1 初始濃度對直接光降解的影響	33
4.2.2 5-fluorouracil 直接光降解的反應階數(reaction order).....	35
4.2.3 pH 值對於 5-fluorouracil 直接光降解的影響	36
4.2.4 5-fluorouracil 直接光降解的量子產率(quantum yield)	38
4.3 間接光降解(合成水質)	39
4.3.1 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate.....	39
4.3.2 pH 值對於 5-fluorouracil 間接光降解的影響	43
4.3.3 組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate.....	45
4.3.4 加入抑制劑 iPrOH 或 NaN ₃	49

4.3.5	5-fluorouracil 間接光降解副產物(byproduct)的分析	52
4.4	環境水體光降解	54
4.4.1	四個環境水體的光降解.....	54
4.4.2	JingMei River(景美溪, JMR)使用高壓滅菌以及加入抑制劑 iPrOH 及 NaN ₃	60
4.5	全部實驗之半生期	64
第五章	結論與建議.....	66
5.1	結論	66
5.1.1	Cyclophosphamide 在水體環境中的光降解宿命.....	66
5.1.2	5-Fluorouracil 在水體環境中的光降解宿命.....	67
5.2	建議	68
參考文獻	69
附錄	74
7.1	未照光實驗數據	74
7.2	其他實驗數據	78
7.2.1	5-fluorouracil 直接光降解產生的反應性含氧化物質(ROS)	78
7.3	目標化合物標準品之液相層析串聯質譜儀圖譜	80
7.4	Student t test	81

圖 目 錄

圖 3.1	實驗流程	19
圖 3.2	(a) 耐光試驗機(左)及 220V 穩壓器(右) (b) 循環水浴機	22
圖 3.3	(a) 照光實驗進行中 (b) 石英試管置於水浴槽	22
圖 3.4	淡水河流域暨環境水體採樣地點	28
圖 4.1	UV-Vis 吸收光譜實驗，化合物 20 mg/L 於 pH 3、5.6 (去離子水)、8 之 莫耳吸收係數隨吸收波長變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	32
圖 4.2	直接光降解實驗，化合物 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 在去離子水中照光及未照光實驗之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	34
圖 4.3	直接光降解實驗，5-fluorouracil 初始濃度 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 相對於照光 26 hr 降解速率之變化圖	35
圖 4.4	直接光降解實驗，5-fluorouracil 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 在去離子水及調整 pH 8.5 經照光後之濃度隨時間變化圖	36
圖 4.5	直接光降解實驗，5-fluorouracil 的 pseudo-first-order kinetics 線性.....	37
圖 4.6	間接光降解實驗，化合物 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 經照光後之濃度隨時間變化圖(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil ..	41
圖 4.7	間接光降解實驗，單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之 pH (未調整)	42
圖 4.8	間接光降解實驗，5-fluorouracil 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 並調整 pH 經照光後之濃度隨時間變化圖	44
圖 4.9	間接光降解實驗，化合物 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 照光後之濃度隨時間變化圖(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	47
圖 4.10	間接光降解實驗，組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之 pH	48
圖 4.11	間接光降解實驗，化合物 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 搭配 DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN_3 照光後之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	50
圖 4.12	間接光降解實驗，DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN_3 之 pH.....	51
圖 4.13	間接光降解實驗， 5-fluorouracil 5mg/L 及其間接光降解副產物 於照光	

後之 peak area 以及總有機碳(TOC)之隨時間變化圖	52
圖 4.14 間接光降解實驗，5-fluorouracil 間接光降解副產物 可能之化學結構及質譜斷片示意圖	53
圖 4.15 環境水體光降解實驗，化合物 50 $\mu\text{g/L}$ 於四個水體之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	57
圖 4.16 環境水體光降解實驗，四個水體之 pseudo-first-order degradation kinetics 趨勢線(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	58
圖 4.17 環境水體光降解實驗，四個水體之 UV-Vis 吸收光譜圖	59
圖 4.18 環境水體光降解實驗，JMR 經過高壓滅菌後之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	60
圖 4.19 JMR 加入抑制劑 iPrOH 及 NaN_3 之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	62
圖 4.20 cyclophosphamide 全部實驗之半生期數據 (無降解以 0 表示).....	64
圖 4.21 5-fluorouracil 全部實驗之半生期數據	65
圖 7.1 間接光降解實驗，未照光實驗數據(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	74
圖 7.2 間接光降解實驗，未照光實驗數據(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	75
圖 7.3 環境水體光降解實驗，未照光實驗數據 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	76
圖 7.4 環境水體光降解實驗，未照光實驗數據 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil	77
圖 7.5 直接光降解實驗，5-fluorouracil 50 $\mu\text{g/L}$ 分別加入抑制劑 iPrOH 及 NaN_3 經照光後之濃度隨時間變化圖	79
圖 7.6 化合物標準品 0.1 $\mu\text{g/L}$ 之液相層析串聯質譜儀圖譜 (a)cyclophosphamide (b)5-fluorouracil	80

表目錄

表 2.1	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 之物化性質	3
表 2.2	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 對於老鼠及人類的毒性	5
表 2.3	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 對於生態的毒性	6
表 2.4	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的環境流佈	7
表 2.5	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 使用活性污泥法的去除結果	7
表 2.6	cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 之化學鍵斷鍵最大吸收波長	9
表 2.7	反應性含氧化物質(ROS)在自然界表面水的穩態濃度及反應速率常數	11
表 2.8	反應性含氧化物質(ROS)的來源及抑制	11
表 2.9	反應性含氧化物質(ROS)的化學生成方程式	12
表 2.10	近年來探討 PPCPs 在環境中光降解宿命的文獻	14
表 3.1	本研究探討反應性含氧化物質(ROS)的實驗設計	18
表 3.2	使用藥品、純度及廠牌	20
表 3.3	儀器設備、規格型號及廠牌	20
表 3.4	液相層析串聯質譜儀規格型號	21
表 3.5	間接光降解 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之添加方式及目的	25
表 3.6	環境水體採樣地點地理資訊	27
表 3.7	目標化合物之液相層析串聯質譜儀分析參數	29
表 4.1	直接光降解實驗，降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	37
表 4.2	間接光降解實驗，單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	42
表 4.3	間接光降解實驗，DOM、nitrate 及 bicarbonate 調整 pH 後之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	43
表 4.4	間接光降解實驗，組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之合成水質 光降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數 ...	48
表 4.5	間接光降解實驗，DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN ₃ 之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	51

表 4.6	環境水體水質記錄 (數據範圍代表不同採樣日期的量測結果).....	54
表 4.7	環境水體光降解實驗，降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	59
表 4.8	環境水體光降解實驗, JingMei River 加入 iPrOH 及 NaN ₃ 並使用 autoclave 之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	63
表 7.1	直接光降解實驗，加入 iPrOH 及 NaN ₃ 降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數	79



第一章 緒論

1.1 研究緣起

近年來新興污染物 (emerging contaminants) 對人體健康及生態環境的危害廣受國際關注。新興污染物普遍具有「新認定或之前未確認」及「未受法規規範」之性質，目前已知這類污染物伴隨著工業進步及社會發展而不斷地以微量濃度持續釋放至環境之中，且可能因為不易被生物分解而造成持久性 (persistence) 及生物累積性 (bioaccumulation) 並透過食物鏈或飲水系統進入生態圈，導致抗藥性的提高甚至蓄積在生物體內而引發內分泌失調、生育力下降等風險。

新興污染物中藥品和個人護理用品 (pharmaceuticals and personal care products, PPCPs) 的部分，包括醫藥、水產用藥、畜牧用藥、化妝品、清潔抗菌用品等用量龐大且與人類生活密不可分，因此經由這些產品的製造商、各地醫療院所甚至一般家庭所排放的含有 PPCPs 的污水都有可能進入到水體環境 (aquatic environments) 中，許多文獻都已發表在世界各國的主要都市河川中都已偵測出 PPCPs 的殘留。

以臺灣為例，有文獻曾經研究臺灣四座污水處理廠二級處理去除 PPCPs 的效率，結果顯示在 57 種被檢出的化合物中有部分抗生素甚至無任何去除效果，代表傳統污水處理廠之生物處理單元無法有效去除 PPCPs (A.Y.C. Lin *et al.*, 2009)。另外有文獻在臺灣北部的新店溪及大漢溪周邊針對醫院及藥品製造廠的出流水進行採樣，結果檢測出 11 種抗生素、1 種 beta 阻斷劑 (beta-blocker)、3 種雌激素及 5 種非類固醇抗發炎藥物 (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 等，且其中一種藥物 acetaminophen 在藥品製造廠出流水的檢測濃度更高達 417.5 $\mu\text{g/L}$ (A.Y.C. Lin and Tsai, 2009)，這不僅顯示出 PPCPs 已流佈於臺灣的河川之中，也可預期國內每年消耗的大量藥品會使水體環境中 PPCPs 的殘留風險增加。

隨著各種污染物的增加以及生活習慣的改變，癌症成為現代社會聞風喪膽的文明病，根據行政院衛生署的統計資料，2010 年國人十大死因以惡性腫瘤高居榜首，占全年死亡人數 28.4 %，另外 2009 年癌症用藥的健保支出高達 150 億元，約

占全年藥費支出的 12 %，由於抗癌藥物 (anticancer drugs) 的種類及用量逐年遞增，因此本研究主要針對 PPCPs 中的抗癌藥物進行研究，所選擇的研究對象為兩種廣泛使用的藥物 cyclophosphamide (環磷醯胺) 及 5-fluorouracil (5-氟尿嘧啶)，探討這兩種化合物在水體環境中進行光降解的影響因子以及降解速率，藉由瞭解化合物在自然水體環境中的光降解宿命，進一步協助評量化合物的生命週期以及日後進行風險評估。

1.2 研究目的

本研究使用日光模擬器 (sunlight simulator) 於實驗室中模擬日光照射，探討 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的光降解模式，並以實驗室的合成水質及採集臺灣北部四個不同表面水體 (surface water) 分別做為基質進行目標化合物的光降解，建立光降解速率的影響因子，進一步探討不同水質參數對於目標化合物在自然水體環境中光降解所產生的影響。

主要目的如下：

1. 探討目標化合物本身特性對於直接光降解的影響。
2. 探討目標化合物在合成水質及環境水體中光降解的影響因子。
3. 建立目標化合物在自然水體環境中的光降解宿命。

1.3 研究內容

本研究包含之內容如下：

1. 目標化合物 UV-Vis 吸收光譜圖的建立。
2. 以 5 至 500 $\mu\text{g/L}$ 的初始濃度及 pH 5.6 至 8.5 的範圍探討水體環境中目標化合物的直接光降解。
3. 以 dissolved organic matter (DOM)、nitrate 及 bicarbonate 做為合成水質探討水體環境中目標化合物的間接光降解。
4. 以異丙醇(isopropanol)及疊氮化鈉(sodium azide)做為抑制劑探討影響目標化合物光降解的反應性含氧化物質(ROS)。
5. 探討目標化合物在不同環境水體中水質條件與光降解速率的關聯性。

第二章 文獻回顧

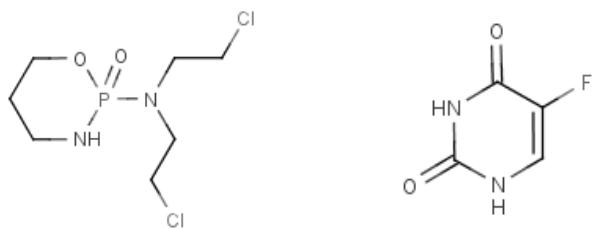
2.1 Cyclophosphamide (環磷醯胺) 及 5-fluorouracil (5-氟尿嘧啶)

2.1.1 物化性質

表 2.1 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 之物化性質

	cyclophosphamide	5-fluorouracil
中文名稱	環磷醯胺	5-氟尿嘧啶
CAS number	50-18-0	51-21-8
分子量	261.03	130.08
熔點 (°C)	51.5	283
pKa	4.09	8.02
log Kow (octanol-water)	0.63	-0.89
水溶解性 (mg/L)	4.0×10^4	11.1×10^4
蒸氣壓 (mmHg)	4.45×10^{-5}	2.68×10^{-6}
亨利常數 (atm·m ³ /mole)	7.03×10^{-11}	1.66×10^{-10}

化學結構



資料來源：U.S. National Library of Medicine

2.1.2 來源與使用

Cyclophosphamide 的 IUPAC 命名為 N,N-bis(2-chloroethyl)-1,3,2-oxazaphosphinan-2-amine 2-oxide, 商品名稱例如 Endoxan®, 1958 年於德國被合成，是一種廣泛使用的抗腫瘤藥物 (anti-neoplastic drugs)，屬於一種烷化劑 (alkylating

agent)，能與 DNA 發生交叉結聯，抑制 DNA 的合成及干擾 DNA 和 RNA 功能而導致細胞凋亡 (apoptosis)。給藥方式為口服或靜脈注射，可單一使用或與其他化療藥物一併使用抑制癌細胞生長，適用病症包括：乳癌、惡性淋巴瘤、肺癌、卵巢癌和多發性骨髓瘤，副作用包括噁心、嘔吐、黏膜發炎、腹瀉、食慾減低、脫髮及出血性膀胱炎等 (Colvin, 1999)。

5-Fluorouracil 的 IUPAC 命名為 5-fluoro-1H-pyrimidine-2,4-dione，商品名稱例如 Adrucil®，1957 年由 Heidelberger 等人合成，屬於一種抗代謝物 (antimetabolite)，能與胸苷酸合成酶 (thymidylate synthase)結合並抑制其作用，使 thymidylate 無法生成，而增進對 DNA 合成的抑制。由於口服效果很差，因此臨床上常使用連續靜脈輸注，可廣泛應用於胃癌、大腸直腸癌、胰臟癌、乳癌等各種癌症的治療，副作用包括口腔潰瘍、腹瀉及骨髓抑制等 (Ghoshal and Jacob, 1997)。

2.1.3 藥理機制

Cyclophosphamide 在肝臟中代謝成無細胞毒性的運送型 (transport form)後進入細胞內。在細胞中可藉著乙醛氧化酶 (aldehyde oxygenase)變成不活化代謝物或不經由酵素作用自動轉變成具細胞毒性的活化代謝物 (Colvin, 1999)。

5-Fluorouracil 本身不具有活性，必需經由代謝才有效果，三種主要活性代謝物為 FdUMP(fluorodeoxyuridine monophosphate)、FUTP(fluorouridine triphosphate) 及 FdUTP(fluorodeoxyuridine triphosphate)，主要的功能為抑制胸苷酸合成酶、結合 RNA 改變蛋白質的合成及結合 DNA 代替正常的 DNA 聚合酶功能 (Cohen *et al.*, 1958; Schmoll *et al.*, 1999)。

2.1.4 生物毒性

Cyclophosphamide 基於充足的動物及人類實驗而被 International Agency for Research on Cancer, IARC 分類為 class 1 確定性的人類致癌因子 (IARC class 1: The substance is carcinogenic to humans)，患者於治療原發性惡性腫瘤時可能於膀胱、骨髓及淋巴組織產生第二惡性腫瘤 (second malignancies)。人類對於

cyclophosphamide 可能產生的不適症狀 (adverse effect) 包括生殖能力的降低、消化系統產生噁心嘔吐、腹部疼痛及白血球減少等現象 (Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005)。另外 cyclophosphamide 及其人體內代謝物會引發致畸作用 (teratogenesis)，包括在大鼠，小鼠，兔子，猴子和人類都可能導致出生缺陷及突變，其中兩份病例報告指出懷孕中的婦女使用 X 放射線及 cyclophosphamide 治療淋巴瘤卻導致胎兒畸形 (Mirkes, 1985)。

5-Fluorouracil 經由長期的研究發現沒有證據會在大鼠身上產生致癌性 (carcinogenesis)，但已被證明能導致沙門氏菌 (Salmonella) 的突變 (mutagenesis) 並且能誘導小鼠產生染色體缺陷 (impairment)，同時可能干擾 DNA、RNA 及蛋白質的合成，人類對於 5-fluorouracil 可能產生的不適症狀包括口腔發炎潰瘍、腹瀉厭食、脫髮及皮膚炎等現象 (Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005)。另外 5-fluorouracil 單次高劑量 (3.0 至 9.0mg) 注入妊娠中的大鼠會導致胎兒的畸形，畸形的程度與化合物注入妊娠中的不同時期及注入劑量都有關係 (Shah and MacKay, 1978)。

表 2.2 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 對於老鼠及人類的毒性

Animals and absorption route	Toxicity	
	cyclophosphamide	5-fluorouracil
LD ₅₀ (oral, rat)	350 mg/kg	230 mg/kg
LD ₅₀ (oral, mouse)	137 mg/kg	115 mg/kg
TD _{Lo} (oral, human)	20 mg/kg	15 mg/kg

LD₅₀: lethal dose 50 percent kill

TD_{Lo}: lowest published toxic dose

資料來源：Tauxe-Wuersch *et al.*, 2005

2.1.5 環境生態毒性

Zounkova *et al.*, 2007 整理文獻中 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的生態毒性 (ecotoxicity)，並研究低濃度 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 對於細菌及藻類生長的抑制、對於蚤類活動力的抑制及對於大腸桿菌及酵母菌基因毒性的試驗，結果如表 2.3 所示。

表 2.3 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 對於生態的毒性

Compound	Bioassays	EC ₅₀ (mg/L)
cyclophosphamide	<i>S. subspicatus</i> (alga, 72-h growth)	11
	<i>B. rerio</i> (fish, 96-h mortality)	70
	<i>P. putida</i> (bacteria)	>1000
	<i>P. subcapitata</i> (alga)	930
	Daphnia magna (crustacean, 48-h immobilization)	1795
5-fluorouracil	<i>V. fisheri</i> (bacterial luminescence)	0.122
	<i>P. promelas</i> (fish, 120-h growth)	400
	<i>P. putida</i> (bacteria)	0.027
	<i>P. subcapitata</i> (alga)	0.11
	Daphnia magna (crustacean)	36

EC₅₀: concentration causing 50 % effect

資料來源：Zounkova *et al.*, 2007

2.1.6 環境流佈

Cyclophosphamide 進入人體後最多會有 20 %的劑量未被代謝而經由尿液直接排出人體 (Bagley *et al.*, 1973)，而 5-Fluorouracil 進入人體後約有 60-90 %的劑量在 24 小時內經由尿液排出 (Heggie *et al.*, 1987)，因此造成環境流佈(occurrence)的可能途徑是經由醫院或家庭所排放的污水中包含未被代謝的藥物。此外若病患停藥後未確實回收多餘藥品而直接丟棄於馬桶，也是藥物進入環境之中的另一種途徑。

表 2.4 收集文獻中曾經偵測到 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的情況，由此可知 cyclophosphamide 經常在水體環境之中被偵測到，但 5-fluorouracil 則除了醫院出流水之外，在其他水體環境中皆未檢出。兩者被偵測到的濃度都在 $\mu\text{g}/\text{L}$ 等級，目前尚無文獻指出 cyclophosphamide 在這種濃度範圍是否會對生態產生危害，但由於 5-fluorouracil 毒性較強，在 $\mu\text{g}/\text{L}$ 等級已經能對微生物產生影響 (2.1.5 節)，因此以 5-fluorouracil 的危害風險較大。

表 2.4 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的環境流佈

Compound /Country	Location	Detected concentration ($\mu\text{g/L}$)	Reference
cyclophosphamide			
Germany	hospital effluent	0.019~4.486	Steger-Hartmann <i>et al.</i> , 1997
	WWTP	0.007~0.143	
Italy	DWTP	N.D.	
	river	0.0022~0.0101	Zuccato <i>et al.</i> , 2000
Switzerland	river sediments	N.D.	
	three WWTP	0.002~0.011	Buerge <i>et al.</i> , 2006
5-fluorouracil			
Australia	hospital effluent	20~122	Mahnik <i>et al.</i> , 2004
	two WWTP	N.D.	
	seven hospital residential area	N.D.	Tauxe-Wuersch <i>et al.</i> , 2005

WWTP: waste water treatment plant

DWTP: drinking water treatment plant

N.D. not detected

2.1.7 工程處理方法

1. 活性污泥法

目前大多數傳統二級污水處理廠仍使用活性污泥法去除微量污染物，文獻指出 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 使用活性污泥法的去除結果（表 2.5），其中 cyclophosphamide 去除速率極慢，可得知活性污泥對於 cyclophosphamide 無效；5-fluorouracil 在活性污泥法的去除效果則相當好。

表 2.5 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 使用活性污泥法的去除結果

Compound	Initial concentration	treatment plant	Result	Reference
cyclophosphamide	10 $\mu\text{g/L}$		17 % removal after 39 days	Steger-Hartmann

			<i>et al.</i> , 1997
150 mg/L	0±5 % removal after 14 days	Kiffmeyer <i>et al.</i> , 1998	
5 mg/L	100±4 % removal after 2 days	Kiffmeyer <i>et al.</i> , 1998	
5 µg/L	> 90 % removal after 1 day	Mahnik <i>et al.</i> , 2007	

2. 濾膜法及活性碳法

Cyclophosphamide 文獻中使用逆滲透膜及奈米級薄膜進行去除，其中逆滲透膜去除效率可超過 90 %，奈米級薄膜只有 20 至 40 %，若使用奈米級薄膜加上薄膜生物反應器 (membrane bioreactor)去除效果則可達到 60 % (Wang *et al.*, 2009)。

5-Fluorouracil 文獻中使用污水處理廠的出流水為基質，並以活性碳吸附進行去除，探討 pH、離子強度及溫度等的影響，去除效率為 24 至 93 % (Lubomira, 2009)。

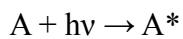


2.2 光降解反應原理與機制

2.2.1 直接光降解

直接光降解 (direct photolysis) 是物質接受光子 (photon) 的能量而由低能階躍升至高能階激發態後化學結構分解 (decomposition) 的反應 (Doede and Walker, 1955)。

直接光降解的機制可由以下公式描述。



其中 A 為反應分子， $h\nu$ 為光能， A^* 為激發態

D_1, D_2 為分解產物

由於光子的能量與波長成反比，故波長較短之紫外光、X 射線、伽瑪射線等比可見光具有較高的能量，然而大氣中的臭氧層會吸收來自太陽的紫外線，使太陽光有效抵達地表之波長約大於 290 nm，因此若是要在實驗室中模擬環境中照射日光的光降解，也應該以大於該波長的光源作為基礎。

表 2.6 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 之化學鍵斷鍵最大吸收波長

	bonds	Dissociation energy (kcal/mole)	Maximum wavelength to break (nm)
cyclophosphamide	C—C	82.6	346.1
	C—H	98.7	289.7
	C—Cl	81.0	353.0
	C—N	72.8	392.7
	C—O	85.5	334.4
	N—H	85.0	336.4
5-fluorouracil	C=C	145.8	196.1
	C—F	116.0	246.5

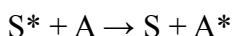
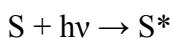
C=O (ketones)	179.0	159.7
C—N	72.8	392.7
N—H	85.0	336.4

資料來源：Legan, 1982

2.2.2 間接光降解

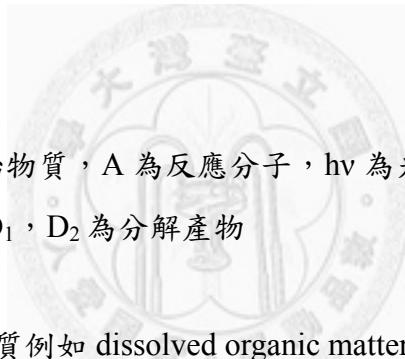
間接光降解 (indirect photolysis)是指系統中的光敏感起始物質(photosensitizer)在吸收足夠光能而達到激發態後，再與其它物質產生反應 (Zepp, 1988)。這種反應可以視為光降解是在催化劑的存在下進行，因此可以增加光降解的速率。

間接光降解的機制可由以下公式描述。



其中 S 為光敏感起始物質，A 為反應分子， $h\nu$ 為光能

S^* 、 A^* 為激發態， D_1 ， D_2 為分解產物



常見的光敏感起始物質例如 dissolved organic matter (DOM)、humic substance、nitrate、nitrite、rose bengal 及 methylene blue 等，這些物質經過照光後會產生反應性含氧化物質 (reactive oxygen species, ROS)，例如單重激發態氧 (singlet oxygen, ${}^1\text{O}_2$)、氫氧自由基 (hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$)、過氧自由基 (peroxy radical, $\cdot\text{OOR}$)、超氧化物自由基 (superoxide radical, $\cdot\text{O}_2^-$)、溶解性電子 (aqueous electron, e_{aq}^-)、激發態的溶解有機物質 (triplet states of dissolved organic matter, ${}^3\text{DOM}^*$)等 (Cooper *et al.*, 1989; Latch *et al.*, 2003; A.Y.C Lin and Reinhard, 2005)。

一般而言在自然界的表面水體 (surface water)中，以氫氧自由基及溶解性電子的反應性最好，但反應選擇性最差，因此這兩者在環境中的穩態濃度 (steady-state concentration)最低，相對而言單重激發態氧雖然反應性中等，但反應選擇性較佳，偏好與電子提供者的物質進行反應。

表 2.7 反應性含氧化物質(ROS)在自然界表面水的穩態濃度及反應速率常數

Reactive species	Steady state concentration (M)	Rate constant ($M^{-1}S^{-1}$)
$\cdot OH$	$10^{-14} \sim 10^{-18}$	$10^7 \sim 10^{10}$
e_{aq}^-	10^{-17}	10^{10}
1O_2	10^{-14}	10^7
$\cdot CO_3^-$	$10^{-13} \sim 10^{-15}$	$10^6 \sim 10^7$
$\cdot OOR$	10^{-9}	10^3

資料來源：Lam *et al.*, 2003

為了區分在光降解中主要是何種反應性含氧化物質(ROS)參與反應，可以加入特定的抑制劑 (inhibitor)或稱為清除者 (quencher or scavenger)來減少特定 ROS，進一步研究反應機制 (mechanism)，常見的抑制劑例如異丙醇 (isopropanol, iPrOH)、疊氮化鈉 (sodium azide, NaN₃)等。

表 2.8 反應性含氧化物質(ROS)的來源及抑制

Reactive species	Source in aquatic environments	Inhibitors or quenchers	Reference
$\cdot OH$	DOM, nitrate, nitrite, $FeOH^{2+}$ ($pH < 5$)	DOM, iPrOH	Lam <i>et al.</i> , 2003 Chen <i>et al.</i> , 2008
e_{aq}^-	DOM	O_2 , nitrate	Chen <i>et al.</i> , 2009
1O_2	DOM	NaN_3 , water	Cooper <i>et al.</i> , 1989
$\cdot CO_3^-$	$\cdot OH$ react with carbonate/bicarbonate	iPrOH	Lam and Mabury, 2005
$\cdot OOR$	DOM	iPrOH	Latch <i>et al.</i> , 2003
³ DOM*	DOM	O_2 , isoprene, sorbic acid	Boreen <i>et al.</i> , 2005 Razavi <i>et al.</i> , 2010

DOM: dissolved organic matter

³DOM*: triplet excited states of DOM

iPrOH: isopropanol

NaN_3 : sodium azide

表 2.9 反應性含氧化物質(ROS)的化學生成方程式

Reactive species	Source	Formation equations	Reference
•OH	nitrate	$\text{NO}_3^- + h\nu \rightarrow [\text{NO}_3^-]^*$ $[\text{NO}_3^-]^* \rightarrow \cdot\text{NO}_2 + \cdot\text{O}^-$ $\cdot\text{O}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$	Mack and Bolton, 1999
$^1\text{O}_2$	DOM	$^1\text{DOM} + h\nu \rightarrow ^3\text{DOM}^*$ $^3\text{DOM}^* + ^3\text{O}_2 \rightarrow ^1\text{DOM} + ^1\text{O}_2$ $^1\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow ^3\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	Cooper <i>et al.</i> , 1989
$\cdot\text{CO}_3^-$	•OH react with carbonate/bicarbonate	$\cdot\text{OH} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \cdot\text{CO}_3^-$ $\cdot\text{OH} + \text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{OH}^- + \cdot\text{CO}_3^-$	Weeks and Rabani, 1966



2.3 PPCPs 在環境中的光降解宿命

近年來已有許多關於 PPCPs 在環境中光降解宿命的文獻發表 (表 2.10)，被研究的 PPCPs 種類眾多，其重要性例如抗生素或雌激素 (Boreen *et al.*, 2004; A.Y.C Lin and Reinhard, 2005) 殘留在環境中可能導致微生物抗藥性的提高或者對內分泌產生干擾，另外一些使用量大的 PPCPs (Chen *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010) 對於環境生態長期無針對性的曝露(nontarget chronic exposure)也可能會產生不良的後果。

在文獻中進行光降解的光源包括自然日光及人造光源，前者照光的效果隨著緯度、季節及時間有所不同，而後者照光的效果隨著波長及強度也有不同，另有文獻使用 laser 為光源 (Latch *et al.*, 2003) 以瞬間脈衝 (flash impulse) 的方式控制激發能量，用來精確量測反應速率。

進行光降解的基質包括去離子水及合成水質 (如添加 DOM、nitrate) 分別用來探討直接光降解及間接光降解的效果，及以環境水體 (湖泊、河川或污水處理廠出流水) 作為基質，也有文獻使用重水 (deuterium oxide) 為基質 (Latch *et al.*, 2003) 研究原本在水中會被抑制之單重激發態氧 (singlet oxygen, ${}^1\text{O}_2$) 的效果。

由文獻中得知許多關於 PPCPs 在環境中光降解的重要結果，例如依照化合物的結構及特性，直接光降解及間接光降解都可能是進行光降解的主要途徑 (Latch *et al.*, 2003)；化合物在不同 pH 值下的離子態及分子態可能會有不同的光降解速率 (Boreen *et al.*, 2004)；激發態的溶解有機物質(${}^3\text{DOM}^*$)造成化合物光降解的原因可能是由於能量移轉、電子移轉或氫原子脫離 (Boreen *et al.*, 2005)；化合物在直接光降解中可能會產生某些 free radicals 的中間產物 (Lam and Mabury, 2005)；在環境水體中低濃度的化合物可能都被吸附在溶解有機物質(DOM)上，因此能與 ${}^1\text{O}_2$ 或 $\cdot\text{OH}$ 的反應機會變小 (Razavi *et al.*, 2010)。

表 2.10 近年來探討 PPCPs 在環境中光降解宿命的文獻

Compounds	Classification	Light source	Matrix	Brief description	Reference
cimetidine ranitidine	antihistamine	natural sunlight Hg-vapor lamp laser	deionized water synthetic water deuterium oxide river	使用 laser flash photolysis 及 Fenton reaction 探討 $^1\text{O}_2$ 及 $\cdot\text{OH}$ 的反應速率，並且探討化 合物的降解位置	Latch <i>et al.</i> , 2003
sulfamethoxazole sulfisoxazole sulfamethizole sulfathiazole sulfamoxole	antibiotics	natural sunlight Hg-vapor lamp laser	deionized water deuterium oxide lake	不同 pH 對直接光降解的影響，及降解產 物的鑑定	Boreen <i>et al.</i> , 2004
sulfamethazine sulfamerazine sulfadiazine sulfachloropyridazine sulfadimethoxine	antibiotics	natural sunlight Hg-vapor lamp Xe-arc lamp laser	deionized water deuterium oxide lake	在 lake 水體中添加 isopene 或移除 O_2 探討 抑制或增加 $^3\text{DOM}^*$ 的降解效果	Boreen <i>et al.</i> , 2005
mexiletine propranolol phenytoin diphenhydramine	anti-arrhythmic beta blocker antiepileptic antihistamine	Xe-arc lamp	deionized water synthetic water	探討 humic substance 及 nitrate 造成的降 解，並移除 O_2 增加 $^3\text{DOM}^*$ 的降解效果	Chen <i>et al.</i> , 2009

antipyrine	NSAIDs				探討 pH 值、化合物不同初始濃度、添加 iron(III)、humic acid 及 nitrate 對降解的影 響	Liu <i>et al.</i> , 2010
acetaminophen	NSAIDs	Hg-vapor lamp	WWTP effluent			
propranolol atenolol metoprolol	beta blocker	natural sunlight Xe-arc lamp	deionized water		比較化合物不同初始濃度及不同光源下的 降解結果並使用 LCMSMS、 ¹ H-NMR 推測 化合物直接光降解途徑	Lam and Mabury, 2005
atorvastatin	lipid regulator	Xe-arc lamp	synthetic water deuterium oxide		添加 NaN ₃ 、sorbic acid 分別抑制 ¹ O ₂ 及 ³ DOM*，並且使用重水(D ₂ O)增加 ³ DOM* 的降解效果	Razavi <i>et al.</i> , 2010
tetracycline	antibiotics	UV-A and UV-B	synthetic water		探討鈣鎂硬度及 pH 對化合物降解的影響	Werner <i>et al.</i> , 2006
cyclophosphamide ifosfamide	anticancer	Hg-vapor lamp	lake		單獨添加 nitrate、humic acid、iPrOH、NaN ₃ 於 lake 中探討降解速率	Buerge <i>et al.</i> , 2006
atrazine bensulfuron methyl ciprofloxacin fluometuron	herbicide			Xe-arc lamp	以不同 pH、nitrate、humic acid、bicarbonate 的組合，探討化合物的降解速率	Lam <i>et al.</i> , 2003
			deionized water synthetic water			

hexazinone	herbicide			
atorvastatin	lipid regulator		以不同濃度的 nitrate 、 humic acid 、	
carbamazepine	anticonvulsant	Xe-arc lamp	bicarbonate 組合，探討化合物的降解速	Lam and
levofloxacin	antibiotics		率，並使用 dark Fenton reaction 探討•OH	Mabury, 2005
sulfamethoxazole	antibiotics		的影響	

NSAIDs: non-steroidal anti -inflammatory drugs

WWTP: waste water treatment plant



第三章 實驗方法

本研究探討 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 在水體環境中的光降解宿命，首先於實驗室中使用合成水質建立目標化合物進行光降解時的各項參數，瞭解各種常見的環境因子之單獨或相互作用對於光降解的影響，次以不同環境水體作為光降解的基質，研究實驗室中所建立的光降解模型是否與環境中情況相符，最後於環境水體中添加抑制劑來抑制特定反應性含氧化物質(ROS)，研究光降解機制。

3.1 實驗設計流程

實驗設計流程如圖 3.1 所示。本研究使用耐光試驗機模擬日光照射，並使用循環水浴控制溫度範圍模擬水體環境的狀況，主要流程內容依序如下：

1. 建立化合物 UV-Vis 吸收光譜：以去離子水 (deionized water) 配置化合物標準品 20 mg/L，探討在不同 pH 3 至 8 的範圍下，化合物在波長 290 nm 以上是否有吸收，以及吸收曲線是否會改變。
2. 直接光降解：在去離子水中加入化合物標準品，實驗分為照光實驗(photolysis) 及未照光實驗(dark control)，探討三種初始濃度 (5、50 及 500 μg/L) 及 pH(去離子水及調整為 8.5) 對於化合物光降解速率的影響。
3. 間接光降解(合成水質)：先於去離子水中單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate，探討三種試劑單獨存在時目標化合物的光降解速率，次以 DOM + nitrate 的組合探討 DOM 清除 free radicals 對於 nitrate 的影響；以 nitrate + bicarbonate 的組合探討所產生的•CO₃⁻ 對於目標化合物是否具有光降解能力，另外以 DOM + nitrate + bicarbonate 的組合作為與環境水體水質條件相互比較的一個基準。最後加入抑制劑 iPrOH 及 NaN₃ 對於•OH、¹O₂ 及 ³DOM* 的效果進行確認 (如表 3.1 所示)。
4. 環境水體光降解：以臺灣北部都會區的四個表面水體為基質進行光降解，探討在不同水質條件下的降解速率差異，並且將其中一個環境水體進行高壓滅菌探討微生物干擾光降解的可能性，及加入特定抑制劑探討反應性含氧化物質(ROS) 是否與間接光降解實驗的結果一致。

表 3.1 本研究探討反應性含氧化物質(ROS)的實驗設計

Selected species	Designed source	Confirmation experiment
•OH	nitrate	inhibit the photodegradation rate with nitrate + iPrOH
$^1\text{O}_2$	DOM	inhibit the photodegradation rate with DOM + NaN ₃
•CO ₃ ⁻	nitrate + bicarbonate	compare the different photodegradation rate with either nitrate or bicarbonate only
³ DOM*	DOM	test the rest contribution of DOM in the indirect photolysis after DOM + iPrOH and DOM + NaN ₃

Reagent	Purpose
DOM + iPrOH	scavenge all free radicals generated by DOM
DOM + NaN ₃	scavenge $^1\text{O}_2$ generated by DOM
nitrate + iPrOH	scavenge •OH generated by nitrate
nitrate + bicarbonate	scavenge •OH generated by nitrate and produces •CO ₃ ⁻

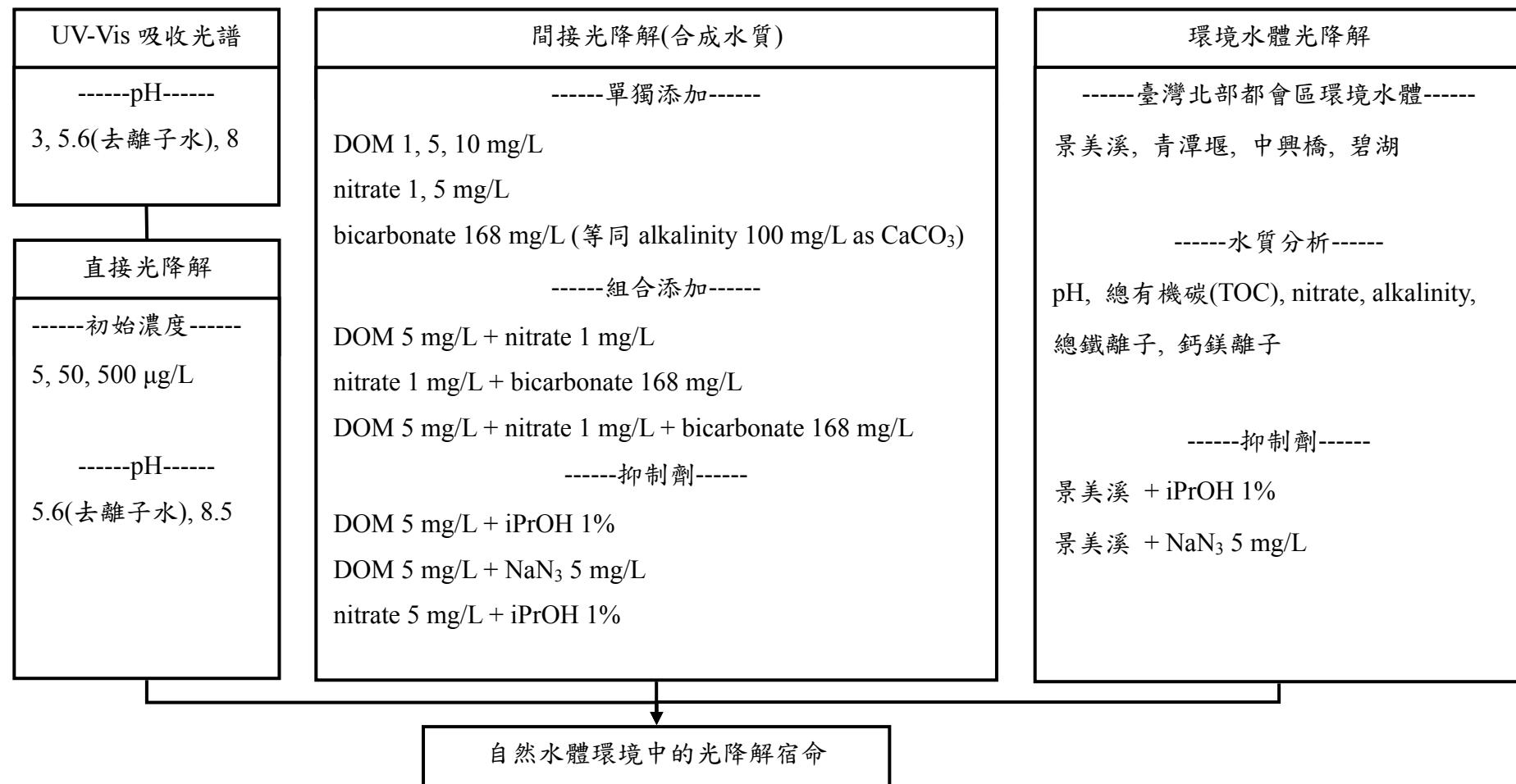


圖 3.1 實驗流程

3.2 實驗藥品及儀器設備

3.2.1 藥品明細

表 3.2 使用藥品、純度及廠牌

Compound	Formula	Purity	Brand
cyclophosphamide monohydrate (環磷醯胺單水合物)	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	99%	Sigma
5-fluorouracil (5-氟尿嘧啶)	C ₄ H ₃ FN ₂ O ₂	99%	Sigma
humic acid (腐植酸)		試藥級	Aldrich
potassium nitrate (硝酸鉀)	KNO ₃	試藥級	Ishisu pharmaceutical
sodium azide (疊氮化鈉)	NaN ₃	試藥級	Nacalai tesque
isopropanol (異丙醇)	C ₃ H ₈ O	99%	Sigma
sodium bicarbonate (碳酸氫鈉)	NaHCO ₃	試藥級	Nacalai tesque
ammonium acetate (醋酸銨)	C ₂ H ₇ NO ₂	7.5M	Sigma
methanol (甲醇)	CH ₄ O	99.9%	Mallinckrodt

3.2.2 儀器設備

表 3.3 儀器設備、規格型號及廠牌

Instrument	Specifications	Brand
耐光試驗機	Model CPS+	Atlas Material Tech.
循環水浴機	B401H	Firstek
石英試管	120x15mm tube	永旭行
純水製造機	Milli-Q water (18.2 MΩ.cm)	Millipore
硝酸鹽檢測機	DR 2800 Spectrophotometer	Hach
UV-Vis 吸收光譜儀	Cintra 20	Rightek
TOC 儀	Model 1010	Systematic instruments

3.2.3 液相層析串聯質譜儀

表 3.4 液相層析串聯質譜儀規格型號

Instrument	Specifications
High performance liquid chromatography, HPLC 高效能液相層析儀	Agilent 1200 series: pump, degasser, autosampler
HPLC column 液相層析管柱	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18: 4.6 x 150 mm, 5 μm pore size
Tandem mass spectrometry 串聯質譜儀	Applied Biosystems API4000: Electrospray ionization, ESI 電噴灑游離源 Triple quadrupole mass 三段四極柱質譜



3.3 光降解實驗儀器架設

本研究使用桌上型耐光試驗機(Suntest CPS+, Atlas®)進行光降解實驗，並且配備 220V 穩壓器及循環水浴機。耐光試驗機使用氙弧燈(Xenon arc lamp)作為發光燈源，光源強度設定為 765 W/m^2 ，且具有反射鏡反射光源及多層濾膜去除波長 290 nm 以下的紫外光。照光用的石英試管併排於耐光試驗機底部的水浴槽，保持在實驗過程中溫度相同。

儀器架設如圖 3.2、圖 3.3 所示。

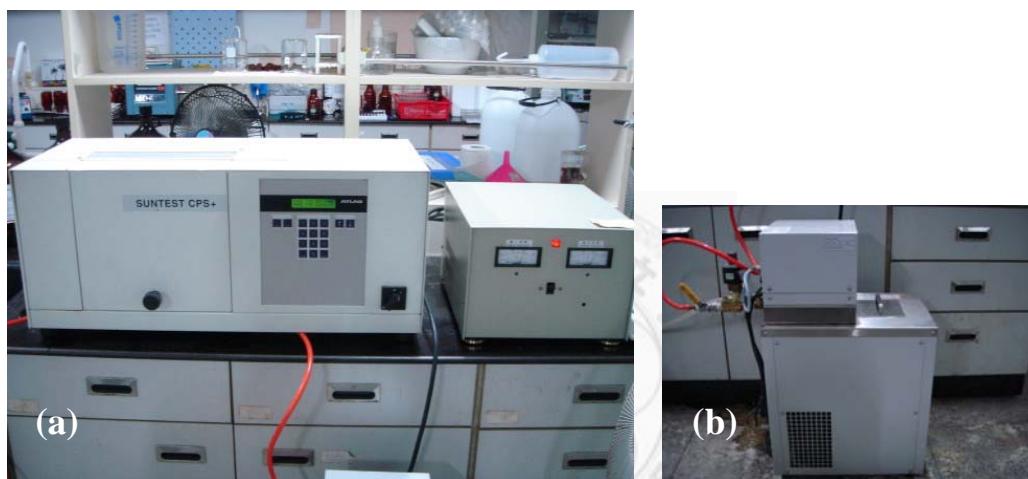


圖 3.2 (a) 耐光試驗機(左)及 220V 穩壓器(右) (b) 循環水浴機

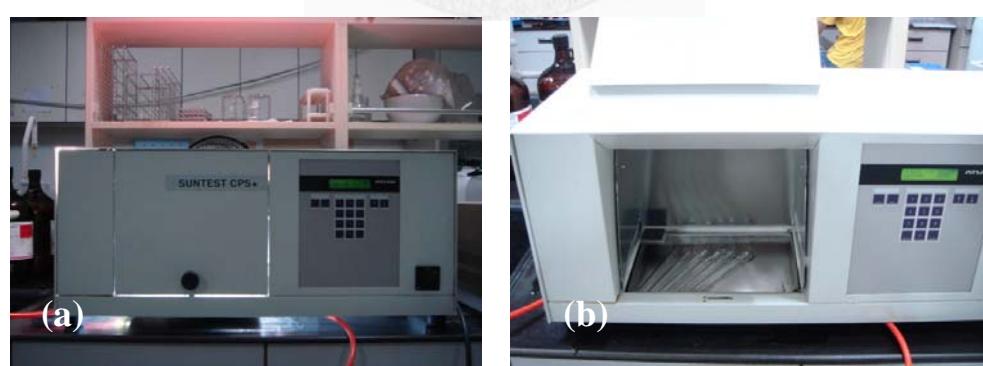


圖 3.3 (a) 照光實驗進行中 (b) 石英試管置於水浴槽

3.4 光降解實驗方式

3.4.1 照光實驗(photolysis)

取配置好初始濃度之實驗溶液 $12 \pm 1 \text{ mL}$ 溶液置於具有磨砂玻璃蓋之 20 mL 石英試管，該石英試管長 120 mm 內徑 15 mm 且具有玻璃蓋之固定裝置，確保實驗溶液不外漏。將試管置於耐光試驗機及 $18.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 循環冷卻水浴中接受照光，模擬環境水體之水溫。照光實驗皆為三次重複實驗。

耐光試驗機之光源強度設定為 765 W/m^2 ，每次實驗皆連續照光 26 hr 。文獻指出臺澎金馬地區平均日射量為 $11902 \text{ kJ/m}^2\text{-day}$ (Ou *et al.*, 2008)，因此本研究使用耐光試驗機照光 26 hr 約等於自然環境日照 6.0 day 。

3.4.2 未照光實驗(dark control)

取照光實驗中實驗溶液置於棕色玻璃瓶，於室溫避光儲存，並依照光實驗相同時間間隔分別取出少量溶液進行定量分析。每次照光實驗皆同時進行未照光實驗。

3.4.3 取樣間隔及定量分析

為開始照光前之時間零點 0 hr 及照光後的第 $1, 2, 4, 7, 11, 16, 21, 26 \text{ hr}$ 分別從照光實驗試管及未照光實驗之棕色玻璃瓶中取出 $450 \mu\text{L}$ 溶液置於棕色螺旋蓋樣品瓶 (screw cap vial, $12 \times 32 \text{ mm}$) 並於 4°C 冷藏，實驗結束後儘速使用液相層析串聯質譜儀進行目標化合物的濃度定量分析。

3.4.4 數據整理

數據結果以化合物濃度隨時間變化作圖，圖中各點數據及誤差的表示方法為三次重複實驗之平均值 \pm 標準差 (means \pm standard deviation)

3.5 實驗步驟

3.5.1 化合物標準品儲備溶液

Cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 皆具有良好的水溶解性，因此儲備溶液係使用微量天平精秤標準品 50 mg，以去離子水 (deionized water, DI water) 定容於 50 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶，待溶解後移入適當棕色玻璃瓶密封，置於 4°C 冷藏。配置濃度為 1000 mg/L 作為標準儲備溶液。

3.5.2 光降解實驗初始濃度的配置

本研究除了 UV-Vis 吸收光譜實驗及直接光降解實驗會配置其他濃度外，其餘實驗初始濃度皆為 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，該濃度為文獻中記載曾於水體環境中檢測出目標化合物的殘留濃度範圍內。配法為取 1000 mg/L 之標準品儲備溶液 2.5 μL ，以去離子水定容於 50 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶。

3.5.3 UV-Vis 吸收光譜

化合物的配置濃度為 20 mg/L，配法為取 1000 mg/L 之標準品儲備溶液 1mL，以去離子水定容於 50 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶。

實驗溶液再進一步區分成不同 pH，包括 pH 5.6 (於去離子水) 及分別以 NaOH (1N) 或 H₂SO₄ (10%) 調整 pH 為 3 及 8，pH 的選擇係配合目標化合物的 pKa。隨後使用 UV-Vis 光譜儀(UV-Vis Spectrophotometer)分析，掃描波長設定為 200 至 400 nm。吸收光譜為化合物之莫耳吸收係數對吸收波長作圖。

3.5.4 直接光降解

化合物的初始濃度分別為 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的配法為取 1000 mg/L 之標準品儲備溶液 12.5 μL ，以去離子水定容於 50mL 之棕色玻璃定量瓶，次取 1 mL 該溶液以去離子水定容於 50 mL 之棕色玻璃定量瓶；500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的配法為取 1000 mg/L 之標準儲備溶液 25 μL ，以去離子水定容於 50 mL 之棕色玻璃定量瓶。

直接光降解是以 pH 5.6 的去離子水為基質，另取 50 $\mu\text{g/L}$ 的 5-fluorouracil 實驗溶液以 NaOH (1N) 調整 pH 為 8.5 後再進行直接光降解實驗。

直接光降解量子產率 (quantum yield) 的計算方法係依照文獻上所使用的光化計 (actinometer) *p*-nitroacetophenone / pyridine (PNAP / pyr) 進行實驗 (Dulin and Mill, 1982)，PNAP 的初始濃度為 $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ，pyr 的初始濃度為 $24.9 \times 10^{-3} \text{ M}$ ，該光化劑與 5-fluorouracil 在相同條件下進行照光，於第 0, 4, 8, 14, 22 hr 分別取出少量實驗溶液進行濃度定量分析取得反應速率常數，再依文獻所列公式進行計算。

3.5.5 間接光降解(合成水質)

合成水質是於去離子水中添加三種光降解前趨物質，分別為 DOM、nitrate 及 bicarbonate，濃度之選擇為配合一般水體環境中可能出現之濃度範圍，三種物質的配置及添加分述如下：

表 3.5 間接光降解 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之添加方式及目的

Reagent	Purpose
DOM 1、5 及 10 mg/L	模擬環境中的水質條件及瞭解 DOM 對光降解的影響
nitrate 1 及 5 mg/L	模擬環境中的水質條件及瞭解 nitrate 對光降解的影響
bicarbonate 168 mg/L	等同水中 alkalinity 100 mg/L as CaCO_3
condition A	探討 DOM 清除 free radicals 對 nitrate 的影響
condition B	探討 $\bullet\text{CO}_3^-$ 對於目標化合物間接光降解之功效
condition C	與環境水體光降解實驗的水質條件進行比對
condition A : DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L	
condition B : nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L	
condition C : DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L	

1. 以 humic acid 模擬水體環境中 DOM 的範圍

使用微量天平精秤 humic acid 500 mg，以去離子水定容於 500 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶，振盪攪拌再以 $0.45 \mu\text{m}$ 濾膜過濾掉固形物後備用。最後經由總有機碳(TOC)儀檢測得知該 humic acid 溶液達到 DOM 分別為 1、5、10 mg/L 的

添加量。日後實驗即添加該溶液特定量。

2. 以 potassium nitrate 模擬水體環境中 nitrate 的範圍

使用微量天平精秤 potassium nitrate 50 mg，以去離子水定容於 50 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶，待溶解後移入適當棕色玻璃瓶密封，置於 4°C 冷藏。配置濃度為 1000 mg/L 作為儲備溶液。Nitrate 1 及 5 mg/L 的配法為依次取 1000 mg/L 之標準品儲備溶液 50 及 250 μL，以去離子水定容於 50mL 之棕色玻璃定量瓶。

3. 以 sodium bicarbonate 模擬水體環境中 alkalinity 的範圍

bicarbonate 168 mg/L 對應水中 alkalinity 100 mg/L as CaCO₃，其配法為使用微量天平依次精秤 sodium bicarbonate 42.0 mg，以去離子水定容於 250 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶。

除此之外，為了瞭解間接光降解中主要的反應性含氧化物質(ROS)，分別添加抑制劑 isopropanol (iPrOH)及 sodium azide (NaN₃)，試劑的配置及添加分述如下：

1. 加入 iPrOH 1% 為抑制劑

配法為取 iPrOH 99 % 標準品 500 μL 加入 50 mL 之實驗溶液中。

2. 加入 NaN₃ 5 mg/L 為抑制劑

使用微量天平精秤 NaN₃ 50 mg，以去離子水定容於 50 mL 附有玻璃瓶蓋之棕色玻璃定量瓶，待溶解後移入適當棕色玻璃瓶密封，置於 4°C 冷藏。配置濃度為 1000 mg/L 作為儲備溶液。NaN₃ 5 mg/L 的配法為依次取 1000 mg/L 之標準品儲備溶液 250 μL 加入 50 mL 之實驗溶液中。

3.5.6 環境水體光降解

環境水體光降解是以臺灣北部都會區的四個表面水體為光降解實驗的基質，其中包括三個河川及一個湖泊。水體的採樣方法依據行政院環保署環境檢驗所公告之「河川、湖泊及水庫水質採樣通則 (NIEA W104.51C)」進行，水樣採集後當天以 0.2μm 濾膜過濾，並進行水質分析(pH、TOC、nitrate、alkalinity、總鐵離子及

鈣鎂離子)，最後以棕色玻璃瓶儲存置於4°C冷藏，為了避免水質變化，於採樣後兩天內即以該水樣為基質進行光降解實驗。另外選擇景美溪水樣經過高壓滅菌釜(autoclave)滅菌後再進行光降解實驗，除此之外再以景美溪水樣分別添加抑制劑iPrOH 1 %及NaN₃ 5 mg/L。

採樣地點地理資訊如圖 3.4 所示。採樣場址特性說明如下：

1. JingMei River 景美溪：發源於新北市境內永定溪，流經石碇、深坑、木柵、景美及新店等地，於臺北市萬盛與新店溪會合，主流全長 28.1 km，流域面積 114.95 km²。景美溪中上游具有上千頭豬隻之畜牧業，並且流經臺北市立動物園及鄰近萬芳醫院。取樣地點為景美溪下游接近新店溪會合處前約 300 m 處。
2. ChingTan Weir 青潭堰：位於新店溪上游，為主要功能為提供每日 115 萬 m³ 的公共給水，為臺北市主要公共用水取水點之一。取樣地點為青潭堰堰體下游約 50 m 處。
3. ChungHsing Bridge 中興橋：位於淡水河上，淡水河主流全長 158.7 km，流域面積 2726km²，為臺灣第三大河川。新店溪與大漢溪於江子翠會合後形成淡水河，取樣地點為該會合處下游約 200 m 處。
4. BiHu Lake 碧湖：位於臺北市內湖區，面積 7 km²，原為農田灌溉蓄水池，後改建為公園，周圍為住宅社區及國立戲曲專科學校。取樣地點為湖岸邊。

表 3.6 環境水體採樣地點地理資訊

地點名稱	縮寫	水體描述	水源	行政區	經緯度
JingMei River 景美溪	JMR	景美溪下游	景美溪	臺北市	經度: 121°32'11"
				文山區	緯度: 24°59'19"
ChingTan Weir 青潭堰	CTW	新店溪上游	新店溪	新北市	經度: 121°32'44"
				新店區	緯度: 24°56'44"
ChungHsing Bridge	CHB	淡水河	新店溪	臺北市	經度: 121°30'05"

中興橋	大漢溪	萬華區	緯度: 25°02'42"
BiHu Lake	BHL	湖泊	臺北市 經度: 121°35'04"
碧湖		雨水	內湖區 緯度: 25°04'50"

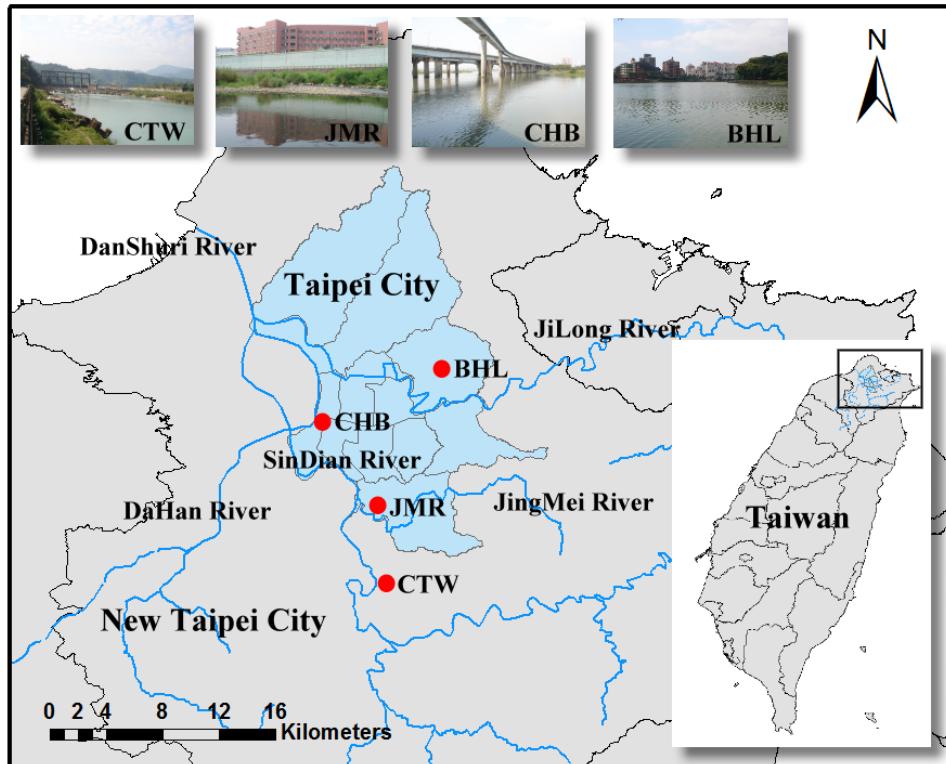


圖 3.4 淡水河流域暨環境水體採樣地點

3.6 定量分析方法

3.6.1 目標化合物濃度定量分析

本研究使用液相層析串聯質譜法。液相層析之動相分別為去離子水及甲醇(皆加入 5 mM 醋酸銨)，注射體積 20 μL，流速為 1.0 mL/min，串聯質譜儀設定為多重反應監測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)。

表 3.7 目標化合物之液相層析串聯質譜儀分析參數

	cyclophosphamide	5-fluorouracil
ESI mode	Positive	Negative
Ionspray volts	4500	-4500
Collision gas	5	5
Q1/Q3 MASS	261/140 major 261/106	129/42 major 129/59
CE(volts)	30, 26	-26, -33
CXP(volts)	12, 7	-5, -8
Run time	7min	7min
Gradient (water phase)	100% at 0, 0.5, 5, 7min 0% at 1.5, 4.0min	100% at 0, 0.5, 5, 7min 0% at 2.5, 4.0min

3.6.2 環境水體水質分析

nitrate 的檢測方法依據 Nitrate method 8039(Cadmium reduction method), DR2800 spectrophotometer procedures manual, Hach company, 2005 進行。

pH 的檢測方法依據行政院環保署環境檢驗所公告之「水之氫離子濃度指數 (pH 值) 測定方法－電極法(NIEA W424.52A)」進行。

TOC 的檢測方法依據行政院環保署環境檢驗所公告之「水中總有機碳檢測方法－過氧焦硫酸鹽加熱氧化／紅外線測定法(NIEA W532.52C)」進行。

alkalinity 的檢測方法依據行政院環保署環境檢驗所公告之「水中鹼度檢測方法—滴定法(NIEA W449.00B)」進行。

總鐵離子及鈣鎂離子依據行政院環保署環境檢驗所公告之「水中金屬及微量元素檢測方法—感應耦合電漿質譜法(NIEA W313.52B)」進行。



第四章 結果與討論

4.1 UV-Vis 吸收光譜

在進行直接光降解實驗之前先行建立化合物的 UV-Vis 吸收光譜，探討化合物是否具有超過 290 nm 的吸收而具有直接光降解的潛力。結果如圖 4.1(a)(b)所示。文獻指出 pH 會影響化合物在水中是呈現分子態或離子態，進而改變 UV-Vis 吸收光譜的曲線 (Werner *et al.*, 2006)，由於 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的 pKa 分別為 4.09 及 8.02，因此選擇 pH 5.6 (去離子水) 及調整 pH 3.0 及 pH 8.0 進行研究，可符合涵蓋化合物的分子態及離子態。pH 的調整方式為使用 10% 硫酸溶液調整 pH 為 3.0 及使用 1N 氢氧化鈉溶液調整 pH 為 8.0。化合物的配置濃度為 20 mg/L。

Cyclophosphamide 超過波長 290 nm 的部分無任何吸收，因此無直接光降解的潛力，在 pH 3 至 8 的範圍內主要為離子態且吸收光譜的曲線無任何變化，因此推論 pH 不會影響 cyclophosphamide 的直接光降解。

5-Fluorouracil 的吸收光譜的曲線隨著 pH 增加呈現不規則變化，尤其在 pH 8.0 的曲線有往較長波長偏移的趨勢，超過 290 nm 的吸收也有增加，因此假設 pH 會影響 5-fluorouracil 的直接光降解，證實這項假設的方法為進行不同 pH 之直接光降解 (如 4.2.3 節所示)。

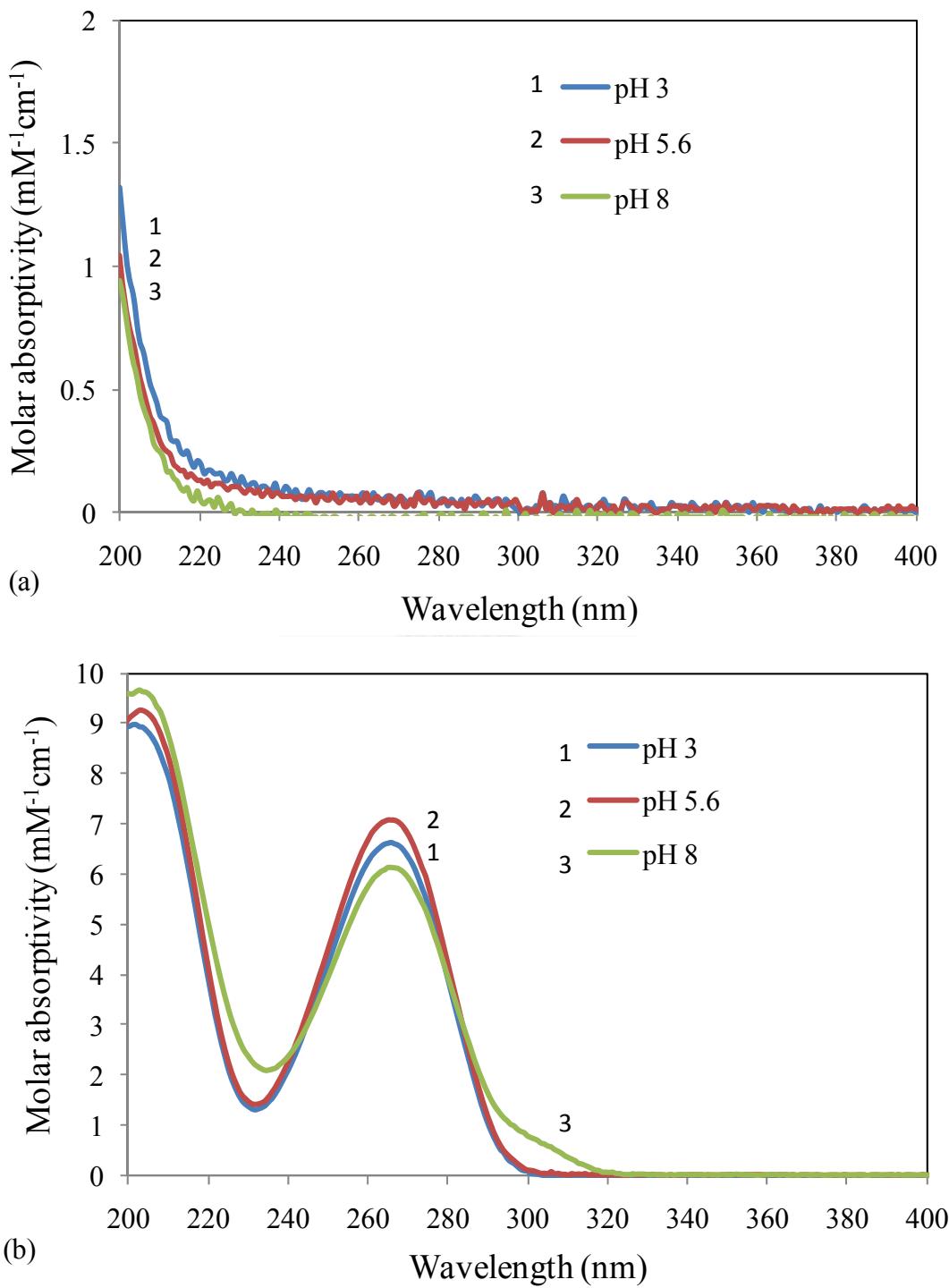


圖 4.1 UV-Vis 吸收光譜實驗，化合物 20 mg/L 於 pH 3、5.6 (去離子水)、8 之
莫耳吸收係數隨吸收波長變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

4.2 直接光降解

直接光降解主要在探討化合物在去離子水中接受照光後所產生的降解情形，由 UV-Vis 吸收光譜已知 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的基本特性，因此針對化合物設計不同實驗。直接光降解實驗共分為四部分：第一部分在探討初始濃度對於 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 直接光降解的影響；第二部分在探討 5-fluorouracil 直接光降解的反應階數；第三部分在探討 pH 值對於 5-fluorouracil 直接光降解的影響；第四部分在探討 5-fluorouracil 直接光降解的量子產率 (quantum yield)。

4.2.1 初始濃度對直接光降解的影響

文獻指出 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 在水體環境中曾經被偵測到的濃度範圍分別為 0.01 至 4.49 $\mu\text{g/L}$ 及 20 至 122 $\mu\text{g/L}$ (2.1.6 節)，因此直接光降解配置 5、50 及 500 $\mu\text{g/L}$ 三種不同初始濃度來模擬在環境中的濃度範圍，結果如圖 4.2 (a)(b) 及表 4.1 所示，圖中各點數據及誤差的表示方法皆為三次重複實驗之平均值 ± 標準差。

Cyclophosphamide 三種不同初始濃度在照光 26 hr 之後皆無直接光降解，符合 UV-Vis 吸收光譜解讀 cyclophosphamide 無直接光降解潛力。

5-Fluorouracil 具有直接光降解，三種不同初始濃度在照光 26 hr 之後降解半生期為 45.5 至 74.9 hr，增加初始濃度會使得降解速率些許變慢，許多文獻皆指出提高化合物濃度會減慢光降解的現象(Liu *et al.*, 2010; Razavi *et al.*, 2010)，這是由於光子(photon)在將能量傳遞給化合物的過程中，因為化合物高濃度的影響而受到限制(Chowdhury *et al.*, 2011)。另外未照光實驗皆無降解現象，代表未照光情況下 5-fluorouracil 在水中穩定。

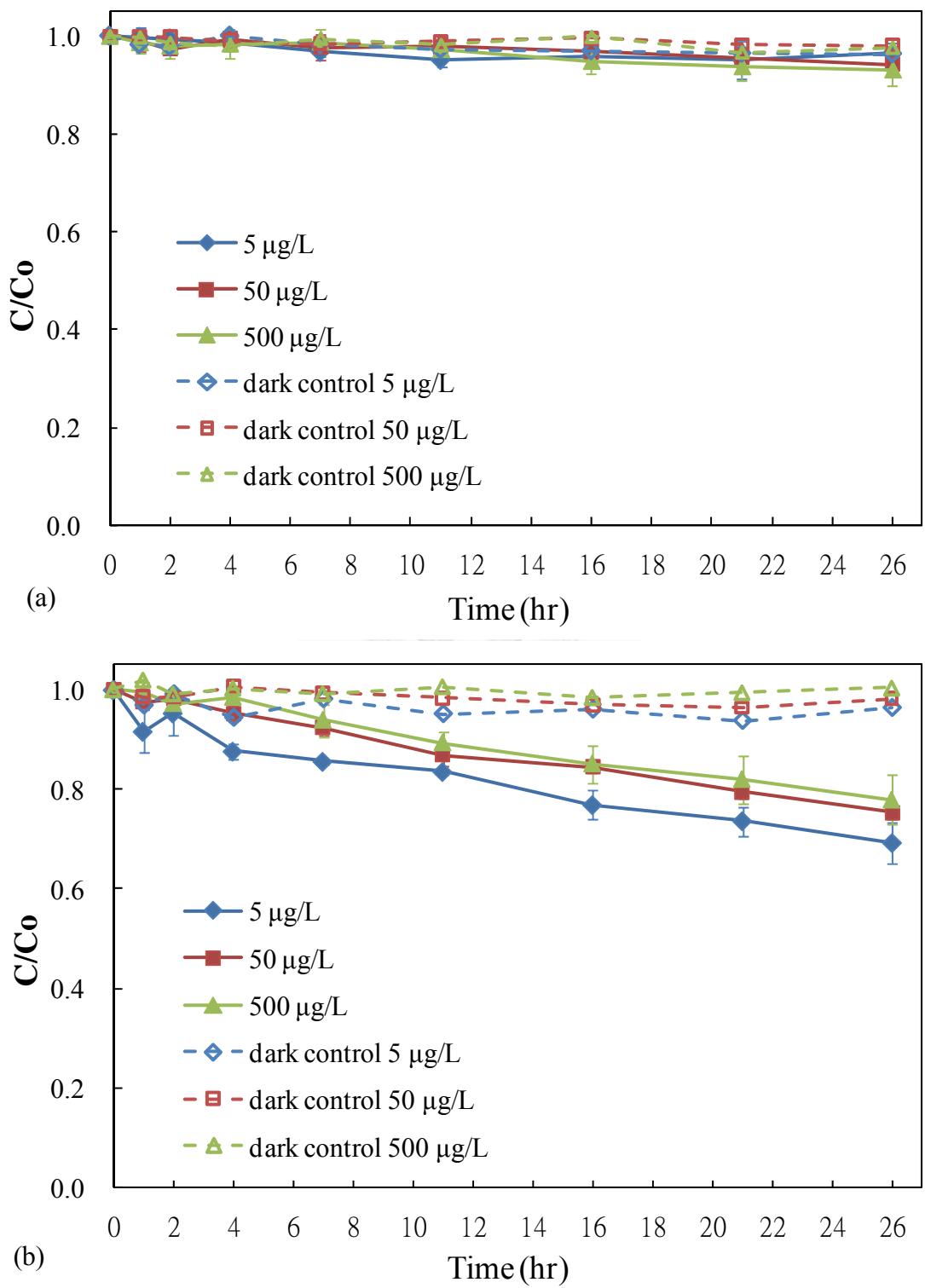


圖 4.2 直接光降解實驗，化合物 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 在去離子水中照光及未照光
實驗之濃度隨時間變化圖 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

4.2.2 5-fluorouracil 直接光降解的反應階數(reaction order)

假設 5-fluorouracil 的直接光降解為 n 階反應，此 n 階降解的反應方程式為 $-dC/dt = kC^n$ ，其中 k 為反應常數，n 為反應階數，該方程式取 log 並且以 $\log(-dC/dt)$ vs. $\log C_0$ 作圖，可得斜率為 n。將 5-fluorouracil 的 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 三種不同初始濃度及照光時間 26 hr 之三次重複實驗之數據分別代入方程式，結果如圖 4.3 所示。

5-Fluorouracil 直接光降解的反應階數 n 為 0.8858，近似 n 為 1 的情況，文獻上一般亦使用 pseudo-first-order kinetics 來描述光降解反應。

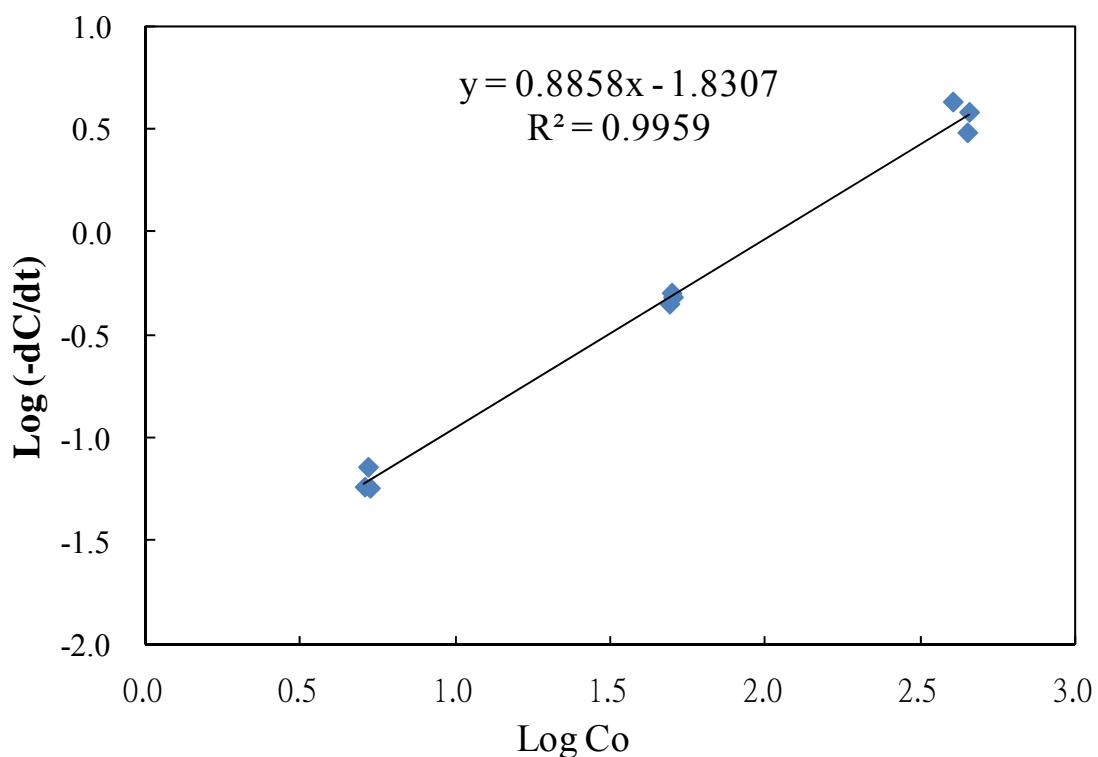


圖 4.3 直接光降解實驗，5-fluorouracil 初始濃度 5、50 及 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 相對於照光 26 hr 降解速率之變化圖

4.2.3 pH 值對於 5-fluorouracil 直接光降解的影響

在 UV-Vis 吸收光譜實驗中 5-fluorouracil 在去離子水及調整 pH 8 的情形下會有不同的吸收光譜曲線，且在大於 290 nm 的吸收曲線有改變，因此假設 pH 會影響 5-fluorouracil 的光降解。5-fluorouracil 的 pKa 為 8.02，因此以去離子水及調整 pH 8.5 這兩種情形分別進行直接光降解實驗，結果如圖 4.4 及表 4.1 所示。

5-Fluorouracil 在調整 pH 8.5 後與在去離子水(pH 5.6)為基質的降解速率無顯著差異，因此 pH 對於 5-fluorouracil 直接光降解的影響可忽略，且可得知 5-fluorouracil 在水中的分子態或離子態並無顯著影響直接光降解。

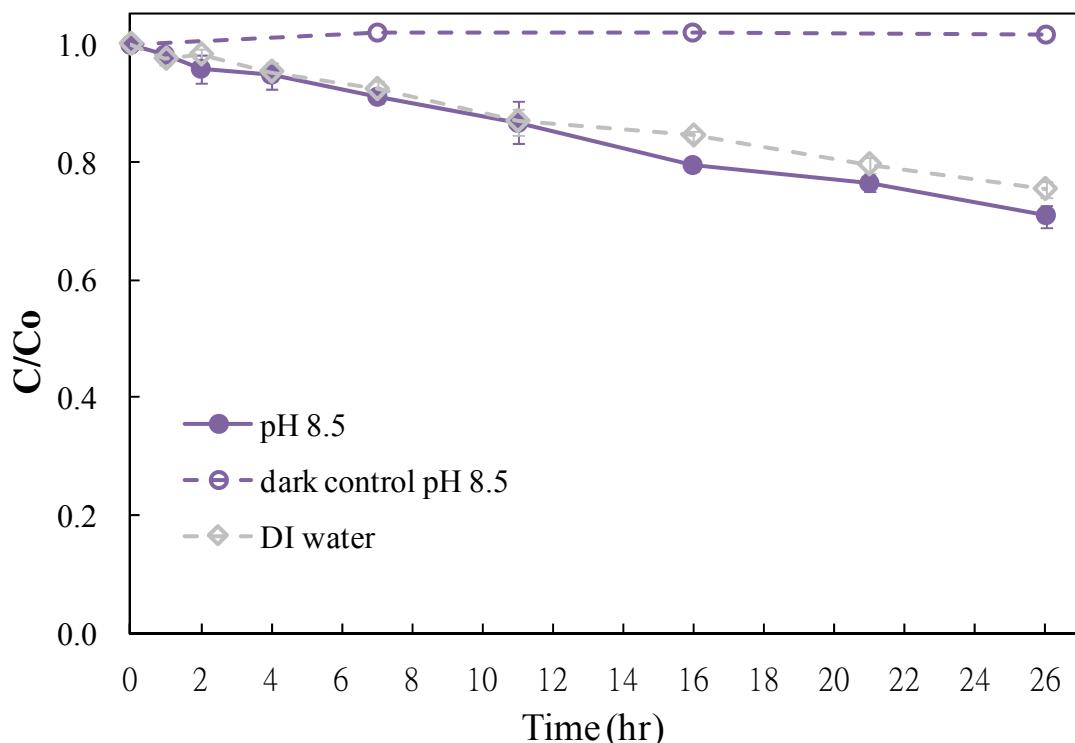


圖 4.4 直接光降解實驗，5-fluorouracil 50 µg/L 在去離子水及調整 pH 8.5 經照光後之濃度隨時間變化圖

表 4.1 直接光降解實驗，降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	*Degraded after 26 hr (%)	**Photolysis rate constant ($\text{hr}^{-1} \times 10^2$)	**Half-lives (hr)	r^2
cyclophosphamide				
5 $\mu\text{g/L}$	No degraded			
50 $\mu\text{g/L}$	No degraded			
500 $\mu\text{g/L}$	No degraded			
5-fluorouracil				
5 $\mu\text{g/L}$	30.8 ± 4.2	1.54 ± 0.18	45.5 ± 5.1	0.88
50 $\mu\text{g/L}$ pH 5.6 (DI water)	24.7 ± 1.3	1.10 ± 0.06	62.9 ± 3.4	0.97
500 $\mu\text{g/L}$	22.1 ± 5.0	0.97 ± 0.26	74.9 ± 17.8	0.88
50 $\mu\text{g/L}$ pH 8.5	29.2 ± 1.8	1.34 ± 0.11	52.0 ± 4.2	0.97

*由光降解實驗終了(26 hr) 與實驗開始(0 hr) 化合物濃度之比值求得

**由 pseudo-first-order kinetics 趨勢線求得

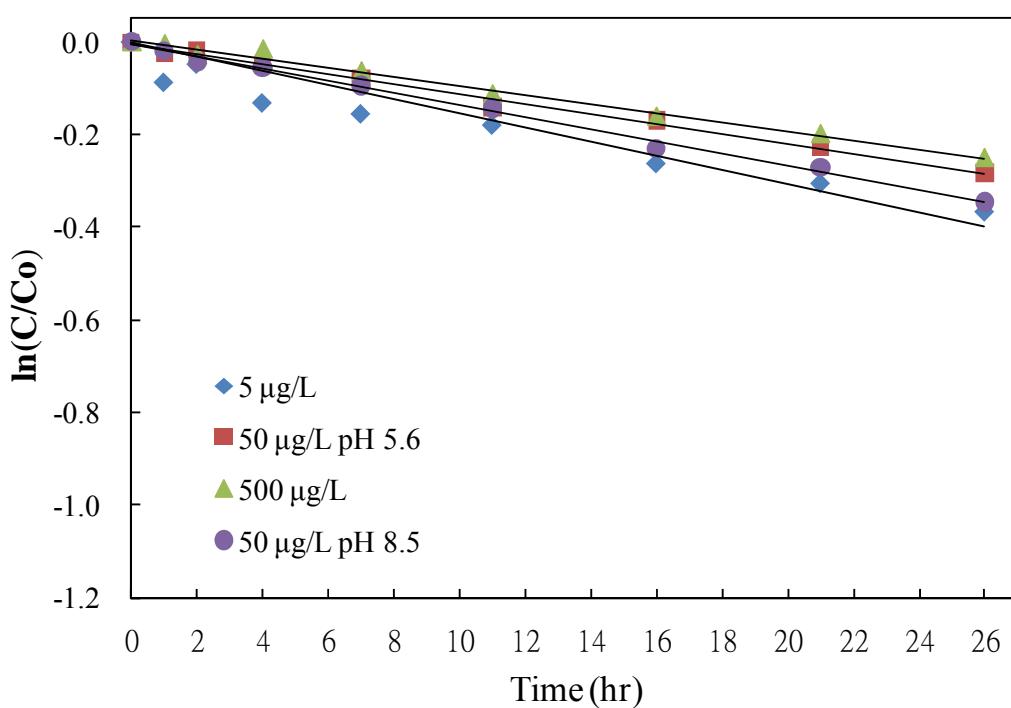


圖 4.5 直接光降解實驗，5-fluorouracil 的 pseudo-first-order kinetics 線性

4.2.4 5-fluorouracil 直接光降解的量子產率(quantum yield)

為了量測 5-fluorouracil 直接光降解的量子產率，本研究使用光化計(actinometer) *p*-nitroacetophenone / pyridine (PNAP / pyr)進行實驗，PNAP 的初始濃度為 1.0×10^{-5} M，pyr 的初始濃度為 24.9×10^{-3} M，該光化計與 5-fluorouracil 在相同條件下進行照光。PNAP 的量子產率計算公式為 $\Phi_a = 0.0169$ [pyr]，5-fluorouracil 的量子產率計算公式為 $\Phi_c = \Phi_a \{ (k_c * \sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^a) / (k_a * \sum L_\lambda \varepsilon_\lambda^c) \}$ ，其中 k 為反應速率常數，L 為 irradiance, ε 為 extinction coefficient, a 及 c 分別代表 actinometer 及 compound。

5-Fluorouracil 在去離子水(pH 5.6)的直接光降解量子產率經由以下數據計算得到 0.021，文獻中量子產率相似的化合物例如 sulfathiazole 0.02 (pH 3.9, Boreen *et al.*, 2004), sulfamethoxazole 0.02 (Lam and Mabury, 2005), naproxen 0.026 (A.Y.C. Lin and Reinhard, 2005)。

照光波長 (nm)	強度(L) (W/m ²)	extinction coefficient (ε)		照光波長 (nm)	強度(L) (W/m ²)	extinction coefficient (ε)	
		PNAP (M ⁻¹ cm ⁻¹)	5-fluorouracil (M ⁻¹ cm ⁻¹)			PNAP (M ⁻¹ cm ⁻¹)	5-fluorouracil (M ⁻¹ cm ⁻¹)
250	0.001	561.40	4621.5	326	0.369	1066.78	0
252	0.000	0	5044.0	328	0.400	964.40	0
254	0.000	57.60	5453.5	330	0.431	817.98	0
256	0.000	1899.03	6045.0	332	0.449	770.88	0
258	0.001	1653.98	6376.5	334	0.475	672.42	0
260	0.000	3500.35	6649.5	336	0.495	614.02	0
262	0.000	7607.98	6942.0	338	0.525	537.15	0
264	0.000	14097.58	7039.5	340	0.549	475.24	0
266	0.000	24869.86	7059.0	342	0.565	400.53	0
268	0.000	38756.28	6974.5	344	0.566	377.38	0
270	0.000	55223.03	6773.0	346	0.587	345.45	0
272	0.000	65792.12	6311.5	348	0.614	287.35	0
274	0.000	46440.32	5960.5	350	0.610	291.34	0
276	0.000	28051.24	5453.5	352	0.635	242.60	0
278	0.000	18689.00	4647.5	354	0.656	203.11	0
280	0.000	13845.45	4088.5	356	0.685	191.27	0
282	0.000	10861.76	3536.0	358	0.662	155.93	0
284	0.000	9246.16	2697.5	360	0.675	140.54	0
286	0.003	7914.19	2145.0	362	0.719	129.11	0
288	0.005	6864.34	1664.0	364	0.714	101.05	0
290	0.009	5900.40	1033.5	366	0.730	79.91	0
292	0.014	5153.69	721.5	368	0.813	67.00	0
294	0.021	4547.95	487.5	370	0.858	47.59	0
296	0.028	4022.53	292.5	372	0.767	41.41	0
298	0.045	3615.47	182.0	374	0.800	19.16	0
300	0.054	3316.02	97.5	376	0.827	11.30	0
302	0.070	3009.56	52.0	378	0.864	6.14	0
304	0.085	2855.89	32.5	380	0.962	0	0
306	0.116	2641.39	19.5	382	0.992	0	0
308	0.138	2487.98	13.0	384	0.974	0	0
310	0.151	2367.27	0	386	0.996	0	0
312	0.175	2215.81	19.5	388	1.028	0	0
314	0.210	2074.30	26.0	390	1.111	0	0
316	0.240	1858.79	13.0	392	1.126	0	0
318	0.263	1717.03	0	394	1.227	0	0
320	0.279	1547.32	0	396	1.642	0	0
322	0.329	1404.20	0	398	1.552	0	0
324	0.352	1241.50	0	400	1.243	0	0

	PNAP	5-fluorouracil
$\Sigma L\varepsilon$	9881.547	97.706
k	0.022	0.011
Φ	0.00042	0.021

4.3 間接光降解(合成水質)

間接光降解主要在探討化合物在合成水質中接受照光後所產生的降解情形，瞭解各種水質條件對於光降解的影響。間接光降解實驗共分為五部份：第一部分在探討水中三種代表性的物質 dissolved organic matter (DOM)、nitrate 及 bicarbonate 單獨添加時對 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 光降解的影響；第二部分在探討 pH 對於 5-fluorouracil 間接光降解的影響；第三部分在探討 DOM、nitrate 及 bicarbonate 三種物質組合添加時的影響以及探討 $\bullet\text{CO}_3^-$ 的功效；第四部分以 DOM 加入抑制劑 iPrOH 或 NaN_3 探討 DOM 所產生的反應性含氧化物質(ROS)為 free radicals、 $^1\text{O}_2$ 或未被抑制的 $^3\text{DOM}^*$ ，另外以 nitrate 加入抑制劑 iPrOH，驗證 $\bullet\text{OH}$ 是否為造成化合物光降解的因素；第五部分在探討 5-fluorouracil 間接光降解副產物 (byproduct)的分析。

4.3.1 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate

DOM、nitrate 及 bicarbonate 是水體環境中主要能影響光降解的物質，文獻指出在水體偵測到的濃度範圍分別為 0.3 至 30 mg/L、0.2 至 20 mg/L 及 34 至 370 mg/L (Lam *et al.*, 2003)，一般而言流經都市河川正常的水質接近 DOM 5 mg/L，nitrate 1 mg/L 及 bicarbonate 168 mg/L (等同 alkalinity 100 mg/L as CaCO_3)，因此分別配置 DOM 1、5 及 10 mg/L，nitrate 1 及 5 mg/L 及 bicarbonate 168 mg/L 做為合成水質，探討這三種物質對於化合物的間接光降解。結果如圖 4.6(a)(b)及表 4.2 所示，實驗的 pH 值如圖 4.7 所示，未照光實驗之數據如附錄 7.1 所示。

Cyclophosphamide 能經由 DOM 及 nitrate 進行間接光降解，隨著 DOM 及 nitrate 的濃度增加都會使得降解速率增快，但其中 DOM 5 及 10 mg/L 的降解速率相似(半生期 47.7 及 50.7 hr)，這是因為 DOM 在照光後同時扮演產生及清除 free radicals 的角色，文獻指出高濃度 DOM 在清除 free radicals 的效果會比產生要好 (Lam *et al.*, 2003)，因此 DOM 增加間接光降解的效果有限。另外 bicarbonate 對於 cyclophosphamide 無任何間接光降解效果，文獻指出 bicarbonate 對於大於 290 nm 的波長無吸收 (Chowdhury *et al.*, 2011)，bicarbonate 在間接光降解中並不是良好的光敏感起始物質 (photosensitizer)。

5-Fluorouracil 能經由 DOM、nitrate 及 bicarbonate 進行間接光降解。其中 DOM 及 nitrate 對於間接光降解的影響特性與 cyclophosphamide 的結果相似，不同之處在於 bicarbonate 對於 5-fluorouracil 具有降解效果，由未照光實驗的結果顯示未照光情況下無任何降解（附錄圖 7.1(b)），代表是照光後才產生的光降解反應，文獻中指出以 UV-B ($< 313\text{ nm}$) 為光源進行實驗時 bicarbonate 對於 4-halogenophenols 亦具有光降解效果，即添加 bicarbonate 後的初始降解速率 (initial rate, k_{Co}) 變快，bicarbonate 有可能與化合物的激發態有反應 (Vione *et al.*, 2009)，而 5-fluorouracil 與文獻中的化合物的共通點為同樣具有鹵素及共軛雙鍵，在此僅能推測 bicarbonate 對於 5-fluorouracil 具有降解的效果可能與 5-fluorouracil 化學結構的特性有關。



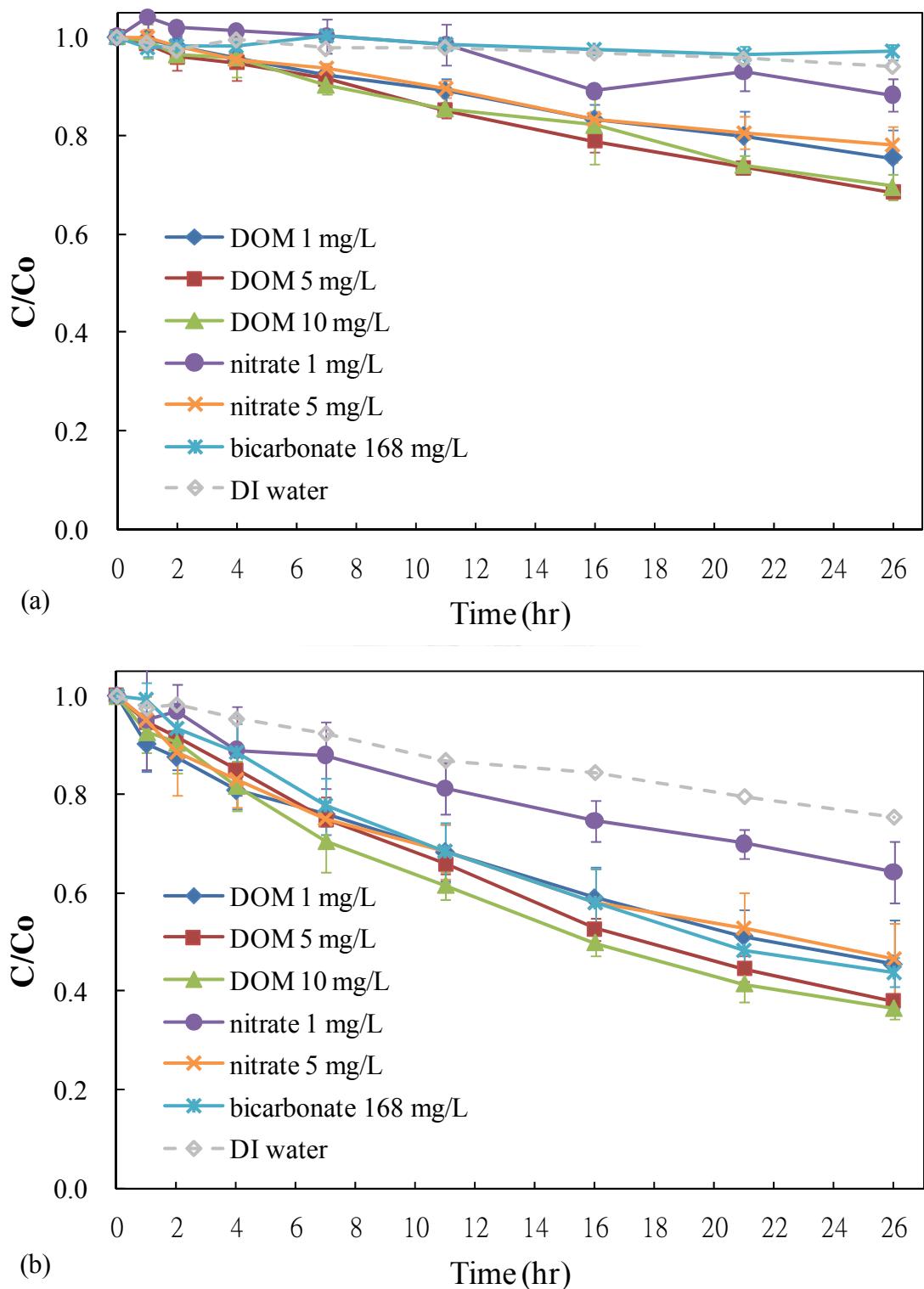


圖 4.6 間接光降解實驗，化合物 $50 \mu\text{g/L}$ 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 經照光後之濃度隨時間變化圖(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

表 4.2 間接光降解實驗，單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之降解結果、
pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant ($\text{hr}^{-1} \times 10^2$)	Half-lives (hr)	r^2
cyclophosphamide				
DOM 1 mg/L	24.6 ± 5.8	1.10 ± 0.26	65.9 ± 17.9	0.92
DOM 5 mg/L	31.5 ± 1.3	1.46 ± 0.12	47.7 ± 3.7	0.97
DOM 10 mg/L	30.4 ± 2.7	1.39 ± 0.20	50.7 ± 6.9	0.93
nitrate 1 mg/L	11.7 ± 3.2	0.43 ± 0.15	173.6 ± 51.6	0.72
nitrate 5 mg/L	21.8 ± 3.7	1.01 ± 0.16	69.5 ± 9.9	0.93
bicarbonate 168 mg/L	No degraded			
5-fluorouracil				
DOM 1 mg/L	54.5 ± 8.9	3.25 ± 0.66	21.9 ± 4.6	0.91
DOM 5 mg/L	61.9 ± 0.9	3.83 ± 0.20	18.1 ± 1.0	0.97
DOM 10 mg/L	63.6 ± 1.8	4.15 ± 0.33	16.8 ± 1.3	0.94
nitrate 1 mg/L	35.8 ± 6.2	1.77 ± 0.37	40.4 ± 8.4	0.83
nitrate 5 mg/L	53.5 ± 7.4	3.18 ± 0.63	22.5 ± 4.9	0.89
bicarbonate 168 mg/L	56.1 ± 3.0	3.34 ± 0.47	21.0 ± 2.8	0.94

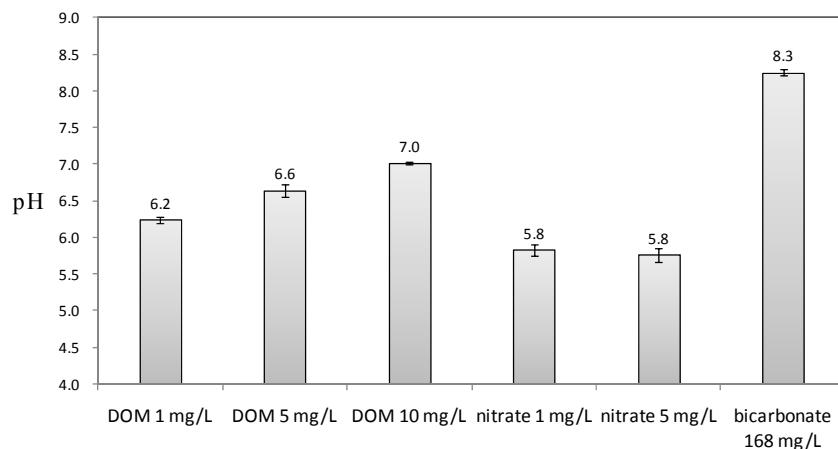


圖 4.7 間接光降解實驗，單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之 pH (未調整)

4.3.2 pH 值對於 5-fluorouracil 間接光降解的影響

pH 可能會影響 DOM、nitrate 及 bicarbonate 產生反應性含氧化物質(ROS)的效率進而影響化合物的光降解。本節以 5-fluorouracil 為探討的化合物，其 pKa 為 8.02，因此配合調整 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之 pH 再分別進行間接光降解實驗，其中 DOM 5 mg/L 未調整前之 pH 為 6.6，以 1N 氢氧化鈉調整為 8.5，nitrate 5 mg/L 未調整前之 pH 為 5.8，以 1N 氢氧化鈉調整為 7.0 及 8.5，bicarbonate 168 mg/L 未調整前之 pH 為 8.3，以 10 % 硫酸調整為 7.0，結果如圖 4.8 及表 4.3 所示。

DOM 提高 pH 後會使 5-fluorouracil 間接光降解速率減慢，文獻中對 DOM 產生 ROS 的反應機制尚未完全瞭解，僅能推測提高 pH 不利於 DOM 產生 ROS。

Nitrate 提高 pH 後亦會使 5-fluorouracil 間接光降解速率減慢，由表 2.9 得知 nitrate 照光後會產生 $\cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ ，因此提高 pH 不利於 $\cdot\text{OH}$ 的生成而造成間接光降解速率減慢。

Bicarbonate 降低 pH 後不影響 5-fluorouracil 間接光降解，由於碳酸的 pKa 分別為 6.3 及 10.3，故在本實驗 pH 範圍內 bicarbonate 皆為 dominant species。

表 4.3 間接光降解實驗，DOM、nitrate 及 bicarbonate 調整 pH 後之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant ($\text{hr}^{-1} \times 10^2$)	Half-lives (hr)	r^2
5-fluorouracil				
DOM 5 mg/L pH 8.5	53.8 ± 1.7	2.98 ± 0.11	23.3 ± 0.9	0.98
nitrate 5 mg/L pH 7	39.6 ± 2.9	1.85 ± 0.13	37.5 ± 2.7	0.99
nitrate 5 mg/L pH 8.5	39.2 ± 0.9	1.83 ± 0.05	37.8 ± 1.1	0.99
bicarbonate 168 mg/L pH 7	55.1 ± 2.6	3.04 ± 0.15	22.9 ± 1.1	0.99

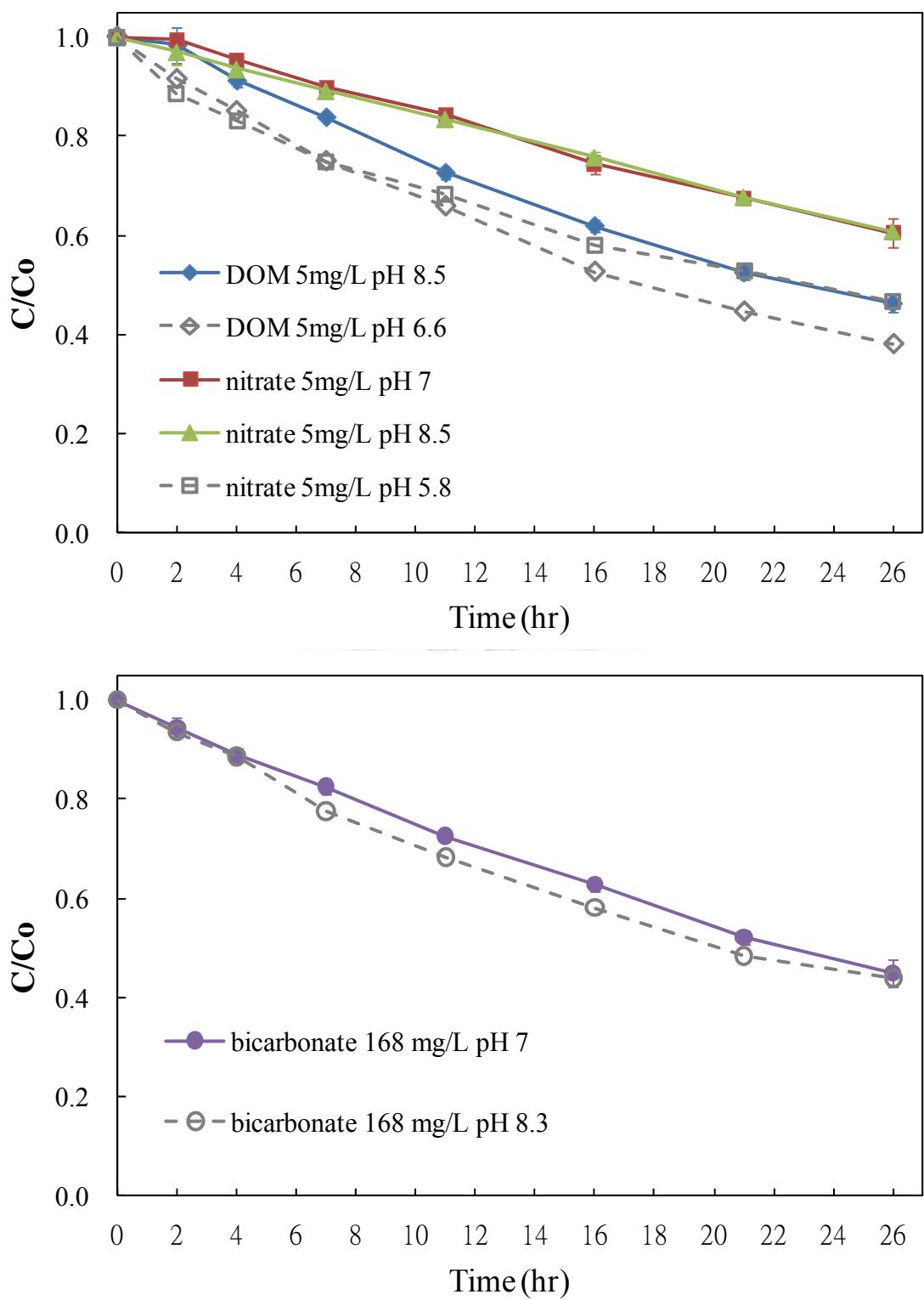


圖 4.8 間接光降解實驗，5-fluorouracil 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 單獨添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 並調整 pH 經照光後之濃度隨時間變化圖

4.3.3 組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate

本節配置三種組合添加方式：文獻指出 DOM 在照光後同時扮演產生及清除 free radicals 的角色且高濃度 DOM 在清除 free radicals 的效果會比產生要好(Lam *et al.*, 2003)，因此配置 DOM 5mg/L + nitrate 1 mg/L 的組合 (condition A)探討兩者的交互作用。其次文獻指出 bicarbonate 是 nitrate 照光產生的•OH 之清除者 (scavenger) 並且產生•CO₃⁻ (Lam *et al.*, 2003)，因此配置 nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L 的組合(condition B)探討•CO₃⁻的作用。另外水體環境中 DOM、nitrate 及 bicarbonate 常為同時存在，且正常的水質情況下大致接近 DOM 5 mg/L，nitrate 1 mg/L 及 bicarbonate 168 mg/L (等同 alkalinity 100 mg/L as CaCO₃)，除了單獨探討個別的效果，也要組合所有參數來模擬環境的情形，因此配置 DOM 5mg/L + nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L 的組合(condition C)探討三種物質同時存在下的影響，該組合為最接近環境水體實際的情形。結果如圖 4.9(a)(b)及表 4.4 所示，實驗的 pH 值如圖 4.10 所示，未照光實驗之數據如附錄 7.1 所示。

Cyclophosphamide 由 condition A 得知 DOM + nitrate 的組合半生期 39.7 hr 比單獨添加 DOM 半生期 47.7 hr 略快，說明在此實驗條件下 DOM 仍為影響光降解的主要因素。由 condition B 得知 nitrate + bicarbonate 的組合無光降解現象，且原有 nitrate 1 mg/L 間接光降解的效果也消失不見，因此得知此組合照光所產生的•CO₃⁻對 cyclophosphamide 無降解效果，文獻指出•CO₃⁻偏好與電子密集(electron rich)的化合物進行反應 (Vione *et al.*, 2009)，由於 cyclophosphamide 的化學結構缺乏共軛雙鍵，並非電子密集的化合物，因此•CO₃⁻與 cyclophosphamide 沒有反應符合邏輯。同理可知 condition C 之 DOM + nitrate + bicarbonate 的組合也會因為 DOM 或 nitrate 照光產生的•OH 被 bicarbonate 所清除而產生無降解效果之•CO₃⁻，造成降解速率比單獨只有 DOM 還要更慢。

5-Fluorouracil 由 condition A 得知 DOM + nitrate 的組合半生期 20.6 hr 比單獨添加 DOM 半生期 18.1 hr 略慢，說明在此實驗條件下 DOM 仍為影響光降解的主要因素。由 4.3.1 節得知 bicarbonate 會造成光降解，半生期為 21.0 hr，而 condition B 之 nitrate + bicarbonate 的組合之半生期 15.3 hr，降解速率更快，文獻指出 nitrate

+ bicarbonate 的組合所產生•CO₃⁻的濃度比單獨只有 nitrate 產生•OH 的濃度更高 (Vione *et al.*, 2009)，因此 nitrate + bicarbonate 的組合加快降解速率是由於•CO₃⁻的影響，且由此實驗可得知•CO₃⁻對於 5-fluorouracil 具有降解效果。由 condition C 得知 DOM + nitrate + bicarbonate 的組合與 nitrate + bicarbonate 的組合結果相似，文獻指出 DOM 對於•CO₃⁻也有清除(scavenge)作用 (Vione *et al.*, 2009)，因此整體降解效果反而沒有顯著變化符合邏輯。



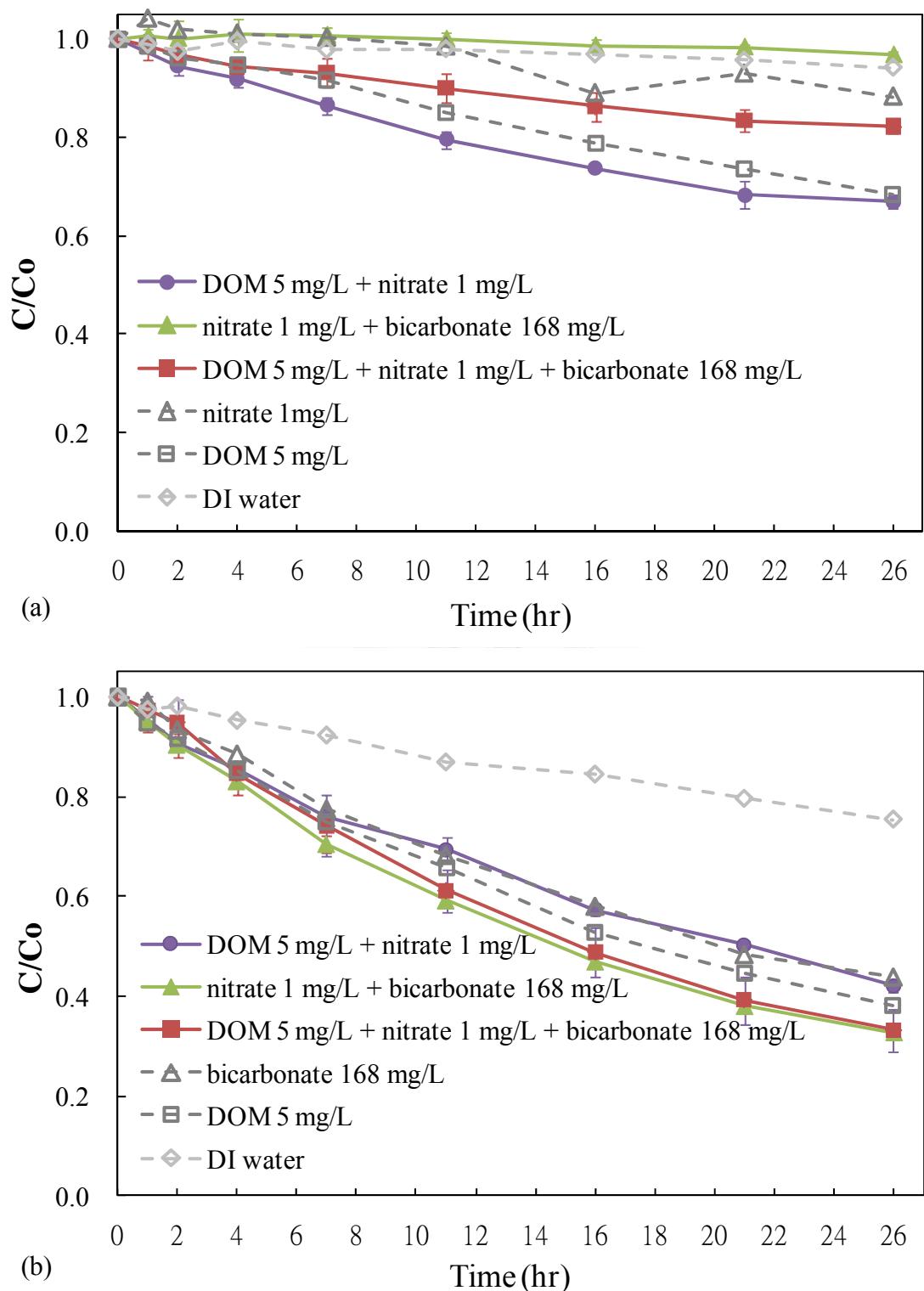


圖 4.9 間接光降解實驗，化合物 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 照光後之濃度隨時間變化圖(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

表 4.4 間接光降解實驗，組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之合成水質
光降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant ($\text{hr}^{-1} \times 10^2$)	Half-lives (hr)	r^2
cyclophosphamide				
condition A	33.0 ± 1.5	1.75 ± 0.06	39.7 ± 1.4	0.95
condition B		No degraded		
condition C	17.8 ± 1.4	0.85 ± 0.06	81.9 ± 5.8	0.89
5-fluorouracil				
condition A	57.8 ± 1.2	3.36 ± 0.04	20.6 ± 0.3	0.98
condition B	67.3 ± 0.5	4.52 ± 0.04	15.3 ± 0.1	0.96
condition C	66.7 ± 4.2	4.37 ± 0.59	16.0 ± 2.0	0.95
condition A : DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L				
condition B : nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L				
condition C : DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L				

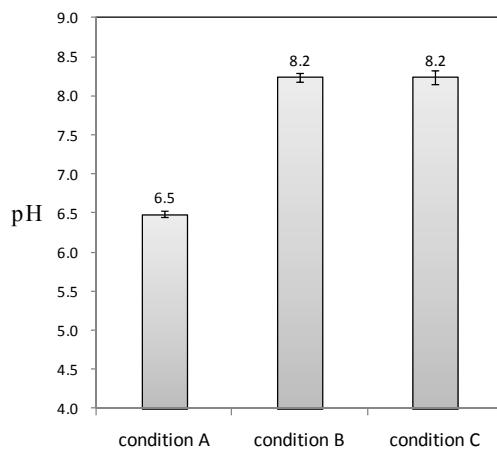


圖 4.10 間接光降解實驗，組合添加 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之 pH

4.3.4 加入抑制劑 iPrOH 或 NaN₃

在間接光降解實驗中探討水中三種代表性物質 DOM、nitrate 及 bicarbonate 的影響，其中 DOM 照光後會產生的反應性含氧化物質(ROS)主要為 free radicals、¹O₂ 及 ³DOM* (Cooper *et al.*, 1989)，nitrate 照光後會產生•OH (Mack and Bolton, 1999)，bicarbonate 則是•OH 之清除者 (Lam *et al.*, 2003)。加入抑制劑之目的在於驗證目標化合物的確是受到特定反應性含氧化物質的影響而產生間接光降解，例如使用 iPrOH 可抑制 free radicals，若依照水體環境中的穩態濃度 (如表 2.7 所示)則以•OH、•CO₃⁻ 及•OOR 為最可能被抑制的對象，但本節內容並無使用 bicarbonate，故不考慮•CO₃⁻。另外使用 NaN₃ 可抑制 ¹O₂。因此本研究針對 DOM 分別使用 iPrOH 及 NaN₃，及針對 nitrate 使用 iPrOH 進行抑制 (如表 3.1 所示)，結果如圖 4.11(a)(b)及表 4.5 所示，實驗的 pH 值如圖 4.12 所示，未照光實驗之數據如附錄 7.1 所示。

Cyclophosphamide 原本經由 nitrate 5 mg/L 的間接光降解半生期為 69.5 hr，但是 nitrate + iPrOH 的抑制組合則無任何降解，證實 nitrate 產生的•OH 具有降解功效。原本經由 DOM 5 mg/L 的間接光降解半生期為 69.5 hr，但是 DOM + iPrOH 或 DOM + NaN₃ 的抑制組合則無任何降解，證實 DOM 產生的 free radicals 及 ¹O₂ 具有降解功效，同時未被抑制之 ³DOM* 無降解效果。文獻中指出 cyclophosphamide 以湖水為基質的光降解分別加入 iPrOH 及 NaN₃ 也都觀察到降解速率變慢 (Buerge *et al.*, 2006)，與本研究所得到的結果一致。

5-Fluorouracil 原本經由 nitrate 5 mg/L 的間接光降解半生期為 22.5 hr，但是 nitrate + iPrOH 的抑制組合的半生期 57.1 hr 接近直接光降解的半生期 62.9 hr，證實 nitrate 產生的•OH 具有降解功效。原本經由 DOM 5 mg/L 的間接光降解半生期為 18.1 hr，但是 DOM + iPrOH 或 DOM + NaN₃ 的抑制組合的半生期分別為 41.7 及 40.5 hr 仍比直接光降解快，證實 DOM 產生的 free radicals 及 ¹O₂ 具有降解功效，且未被抑制之 ³DOM* 亦具有降解效果。

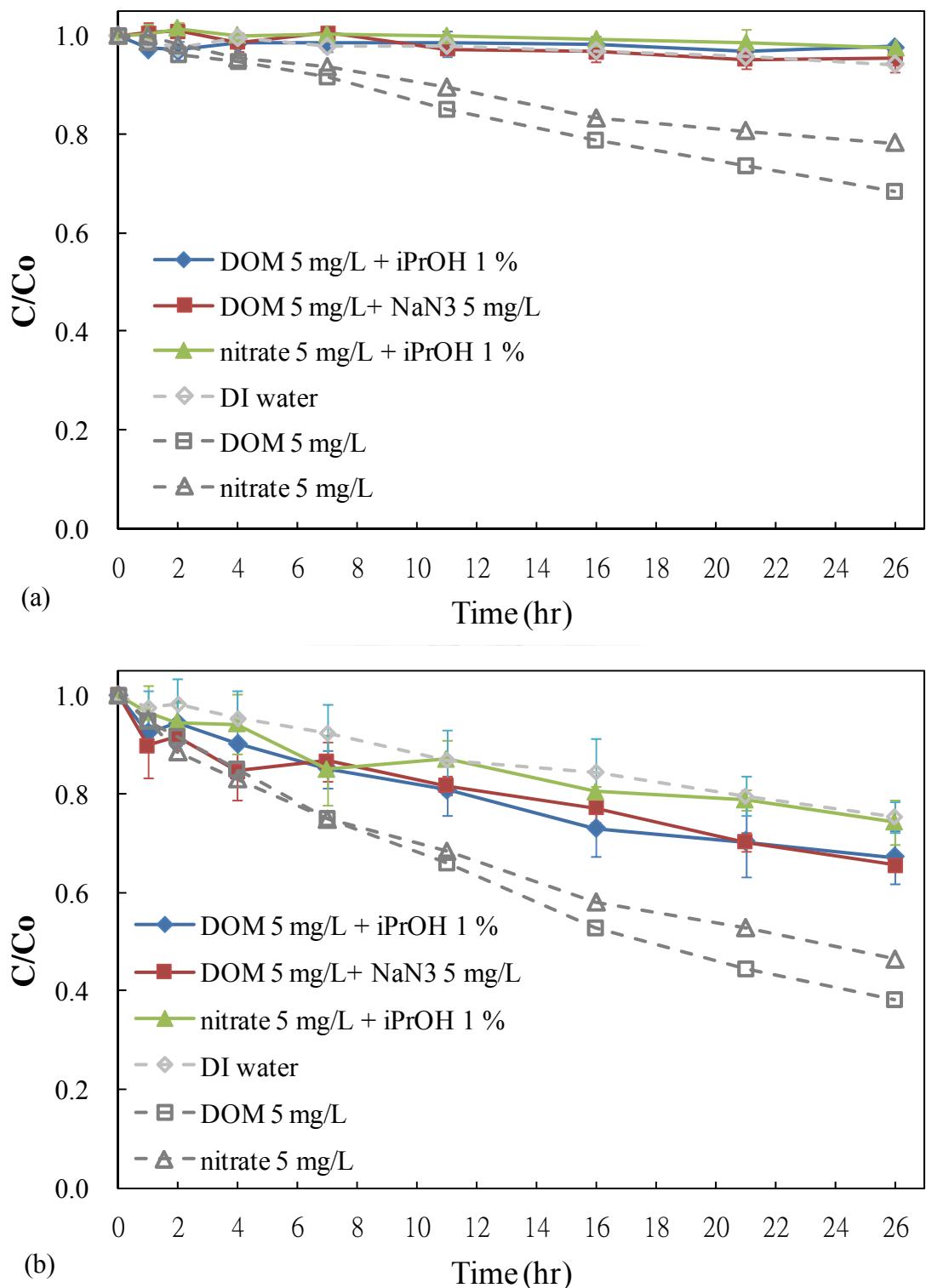


圖 4.11 間接光降解實驗，化合物 50 µg/L 搭配 DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN_3 照光後之濃度隨時間變化圖(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

表 4.5 間接光降解實驗，DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN₃ 之降解結果、
pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant (hr ⁻¹ × 10 ²)	Half-lives (hr)	r ²
cyclophosphamide				
DOM 5 mg/L + iPrOH 1 %	No degraded			
DOM 5mg/L + NaN ₃ 5mg/L	No degraded			
nitrate 5 mg/L + iPrOH 1 %	No degraded			
5-fluorouracil				
DOM 5 mg/L + iPrOH 1 %	32.9 ± 5.3	1.74 ± 0.42	41.7 ± 10.9	0.85
DOM 5mg/L + NaN ₃ 5mg/L	34.5 ± 1.1	1.72 ± 0.10	40.5 ± 2.5	0.85
nitrate 5 mg/L + iPrOH 1 %	25.7 ± 4.6	1.24 ± 0.22	57.1 ± 11.0	0.78

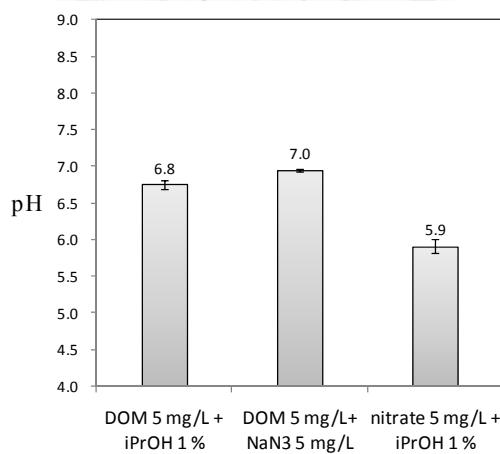


圖 4.12 間接光降解實驗，DOM 及 nitrate 分別加入 iPrOH 及 NaN₃ 之 pH

4.3.5 5-fluorouracil 間接光降解副產物(byproduct)的分析

為探討 5-fluorouracil 間接光降解副產物，本研究配置高濃度 5-fluorouracil 5 mg/L 並加入 nitrate 20 mg/L 進行間接光降解實驗，串聯質譜儀的分析方法設定為 ESI negative mode 及多重反應監測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)，結果如圖 4.13 所示。

5-Fluorouracil 於光降解過程中偵測到一個副產物之質荷比為 104，且其濃度隨照光時間持續增加，但由於該副產物在進行濃度分析時並未稀釋，因此由圖中可知該副產物濃度還未及 5-fluorouracil 配置濃度的百分之一。另外總有機碳 (TOC) 的數據先降後升，推測 5-fluorouracil 光降解的機制可能包括化學結構產生轉變 (transformation)，即光降解的最終產物可能並非完全礦化 (mineralization)。

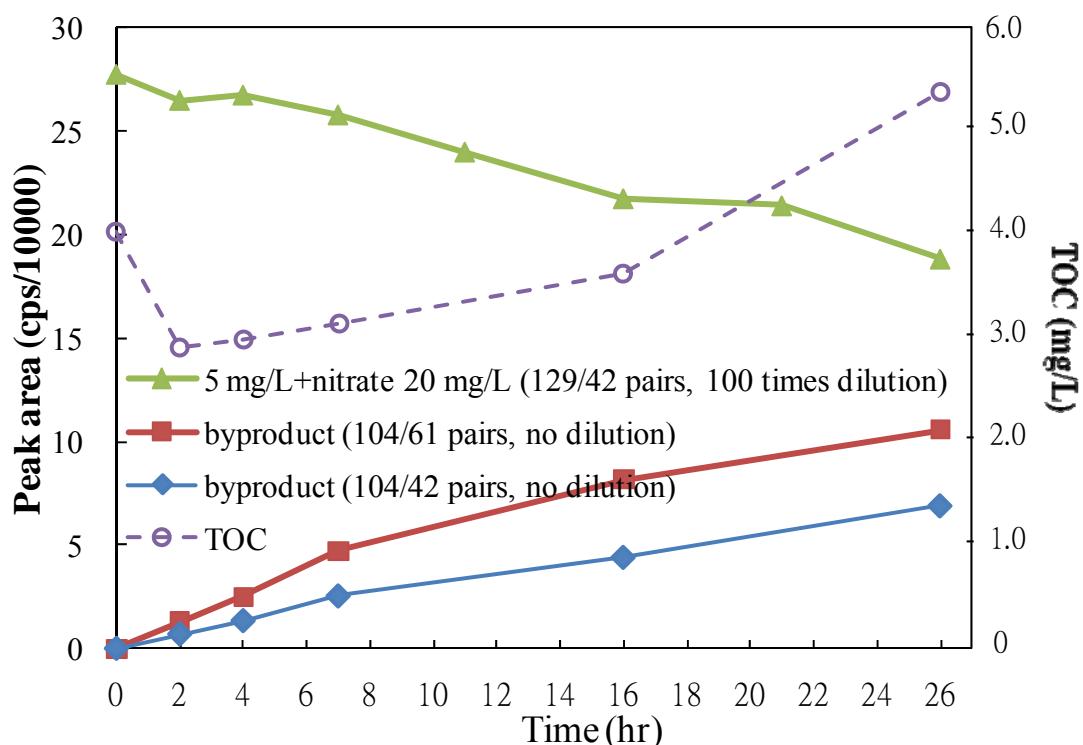


圖 4.13 間接光降解實驗，5-fluorouracil 5mg/L 及其間接光降解副產物於照光後之 peak area 以及總有機碳(TOC)之隨時間變化圖

另一方面，藉由質譜儀的分析參數可以協助瞭解 5-fluorouracil 光降解副產物的化學結構，本研究共使用四個 5-fluorouracil 的 MRM pairs，分別為使用 129/59、129/42 偵測 5-fluorouracil 的濃度，以及使用 104/61、104/42 偵測副產物的濃度，根據以上四個 pairs 找出最有可能的副產物化學結構及質譜斷片，結果如圖 4.14 所示，圖中 MW 代表 molecular weight， $[M-H^+]$ 代表 mass-to-charge ratio due to ESI-，虛線箭頭代表光降解路徑，實線箭頭代表 MRM 質譜斷片。

5-Fluorouracil 由表 2.6 得知其中 C—N 鍵的鍵能最低且最大斷鍵吸收波長為 392.7 nm，因此照光後容易沿著 C—N 鍵斷裂，另外 nitrate 照光產生的•OH 是強氧化劑，容易與雙鍵反應產生過氧化物，且由以上機制產生的副產物化學結構亦符合 $[M-H^+]=104$ 及質譜斷片的計算，因此為最有可能之副產物。

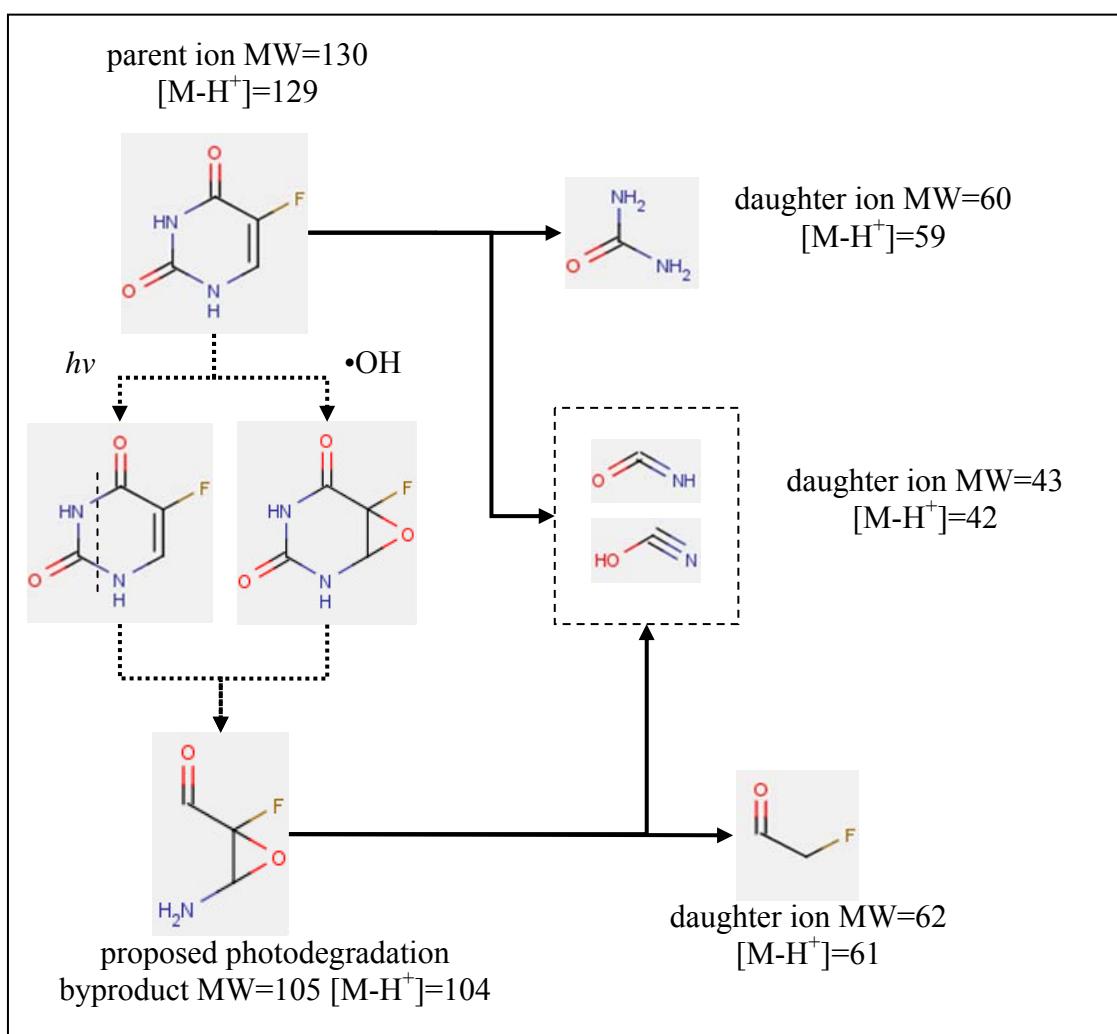


圖 4.14 間接光降解實驗，5-fluorouracil 間接光降解副產物

可能之化學結構及質譜斷片示意圖

4.4 環境水體光降解

環境水體光降解實驗分為二部分。第一部分在探討臺灣北部鄰近都會區之四個環境水體對 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 光降解的影響，四個水體的名稱及代號分別為 JingMei River (景美溪, JMR)、ChingTan Weir (青潭堰, CTW)、ChungHsing Bridge (中興橋, CHB)及 BiHu Lake (碧湖, BHL)。第二部分將 JMR 進行高壓滅菌 (autoclave)探討微生物是否會干擾光降解實驗，以及將 JMR 加入抑制劑 iPrOH 及 NaN₃ 探討環境水體中的 ROS。

4.4.1 四個環境水體的光降解

環境水體光降解實驗主要在探討化合物在不同水體的水質條件下接受照光後所產生的降解情形，所量測的水質條件包括 pH、total organic carbon (TOC)、nitrate、alkalinity、總鐵離子及鈣鎂離子。上述水質條件對應本研究所選取的三種光降解前趨物質為 DOM (以水質 TOC 結果表示)、nitrate 及 bicarbonate (以水質 alkalinity 結果表示)，另外將環境水體光降解結果與間接光降解實驗中 DOM + nitrate + bicarbonate 的組合 (condition C)進行對照。結果如圖 4.15(a)(b)、圖 4.16(a)(b)及表 4.7 所示，水質分析結果如表 4.6 所示，四個水體的 UV-Vis 吸收光譜如圖 4.17 所示，未照光實驗之數據如附錄 7.1 所示。

表 4.6 環境水體水質記錄 (數據範圍代表不同採樣日期的量測結果)

	pH range	TOC (mg/L)	nitrate (mg/L)	alkalinity	
				mg/L as CaCO ₃	mg/L as bicarbonate
JMR	7.5~7.7	2.0~4.0	2.0~2.2	85.0	143
CTW	7.6~7.9	0.6~1.0	0.2~0.4	25.0	42
CHB	7.5~7.8	2.4~6.3	0.2~0.2	137.5	231
BHL	8.0~9.2	4.1~5.5	0.1~0.1	61.3	103

total Fe (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)
--------------------	----------------------------	----------------------------

JMR	0.26	8.34	3.37
CTW	0.07	1.16	1.42
CHB	0.28	25.79	55.84
BHL	0.14	5.94	3.46

Cyclophosphamide 由 4.2 及 4.3 節得知沒有直接光降解且 DOM 及 nitrate 會增加降解速率，但 bicarbonate 會清除•OH 使得降解速率變慢。四個環境水體水質互相比較後，CTW 為最乾淨的水質(DOM、nitrate 及 bicarbonate 皆最低)，但也使得 cyclophosphamide 因為缺乏間接光降解的機制而導致降解變慢；其它三個水體的 bicarbonate 皆大於 100 mg/L，對於 cyclophosphamide 的降解速率皆是減慢的效果；JMR 在四個水體中降解最快，在水質參數中 JMR 具有最高的 nitrate 濃度，但由 4.3 節得知 nitrate 對於間接光降解的重要性尚不及 DOM，因此推論 JMR 可能具有未被偵測且能影響光降解之水質參數，使其表現異於其他水體。

另外 cyclophosphamide 在四個環境水體的表現可與間接光降解實驗中 DOM + nitrate + bicarbonate (condition C)的組合進行比較後可得知 condition C 的降解速率介於四個環境水體之間，將 condition C 的光降解速率常數與降解最快的 JMR 進行比較，比值為 $0.85 / 1.38 = 62\%$ 。以水體的水質分析而言，JMR 可能具有未被偵測且能影響光降解之水質參數因此降解比 condition C 快；CTW 缺乏間接光降解因此降解比 condition C 慢；CHB 的 bicarbonate 最高因此降解比 condition C 慢；BHL 水質與 condition C 無顯著差異，但是降解比 condition C 慢。整體而言 condition C 對於四個環境水體的降解情況具有相當程度的代表性。

Cyclophosphamide 文獻指出在湖泊(Lake Zurich, northern of Switzerland, pH 8.1, DOM 1.6 mg/L, nitrate 0.7 mg N/L, bicarbonate 210 mg/L)的光降解 pseudo-first-order 速率常數為 $0.07 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ (Buerge *et al.*, 2006)，遠低於本研究 condition C 的 $0.85 \times 10^{-2} \text{ hr}^{-1}$ ，是由於 Lake Zurich 的 DOM 及 nitrate 的貢獻不足且 bicarbonate 又高，因此降解緩慢，與本研究所得到結論一致。

5-Fluorouracil 由 4.2 及 4.3 節得知具有直接光降解且 DOM、nitrate 及 bicarbonate

都會加快降解。四個環境水體水質互相比較後，CTW 為最乾淨的水質同樣會使 5-fluorouracil 缺乏間接光降解而導致降解變慢；另外三個水體由於都具有 DOM、nitrate 及 bicarbonate 的因素而會加快降解。

另外 5-fluorouracil 在四個環境水體的表現可與間接光降解實驗中 DOM + nitrate + bicarbonate (condition C)的組合進行比較後可得知 condition C 的降解速率與 CTW 相近而低於其它三個環境水體，另外將 condition C 的光降解速率常數與降解最快的 JMR 進行比較，比值為 $4.37 / 7.54 = 58\%$ 。以水體的水質分析而言，CTW 的 DOM、nitrate 及 bicarbonate 都比 condition C 更低，但降解速率卻與 condition C 相近，因此 condition C 對於四個環境水體的代表性略顯不足，可能的原因如下：

1. 不同水體中的 ${}^3\text{DOM}^*$ ，由間接光降解實驗得知 ${}^3\text{DOM}^*$ 對於 5-fluorouracil 光降解也有貢獻，且由於不同環境水體中的 DOM 變化無法預期，因此會影響降解速率。
2. 其他未被量測的水質條件，例如水中 nitrite (亞硝酸鹽) 也會產生 $\cdot\text{OH}$ 增加降解，或是水中溶氧會影響 e_{aq}^- 及 ${}^3\text{DOM}^*$ 的存在(表 2.8)，因此會影響降解速率。
3. 水中其他影響光降解的因子，例如文獻指出水中硬度(鈣鎂離子)會與化合物產生鍵結而導致光降解的速率改變 (Werner *et al.*, 2006)。
4. 水中微生物的干擾，本研究環境水體採樣後皆以 $0.2 \mu\text{m}$ 濾膜過濾並避光冷藏，採樣後二日內進行光降解實驗，為確認微生物是否會干擾光降解，將水樣進行高壓滅菌，結果如 4.4.2 節所示。

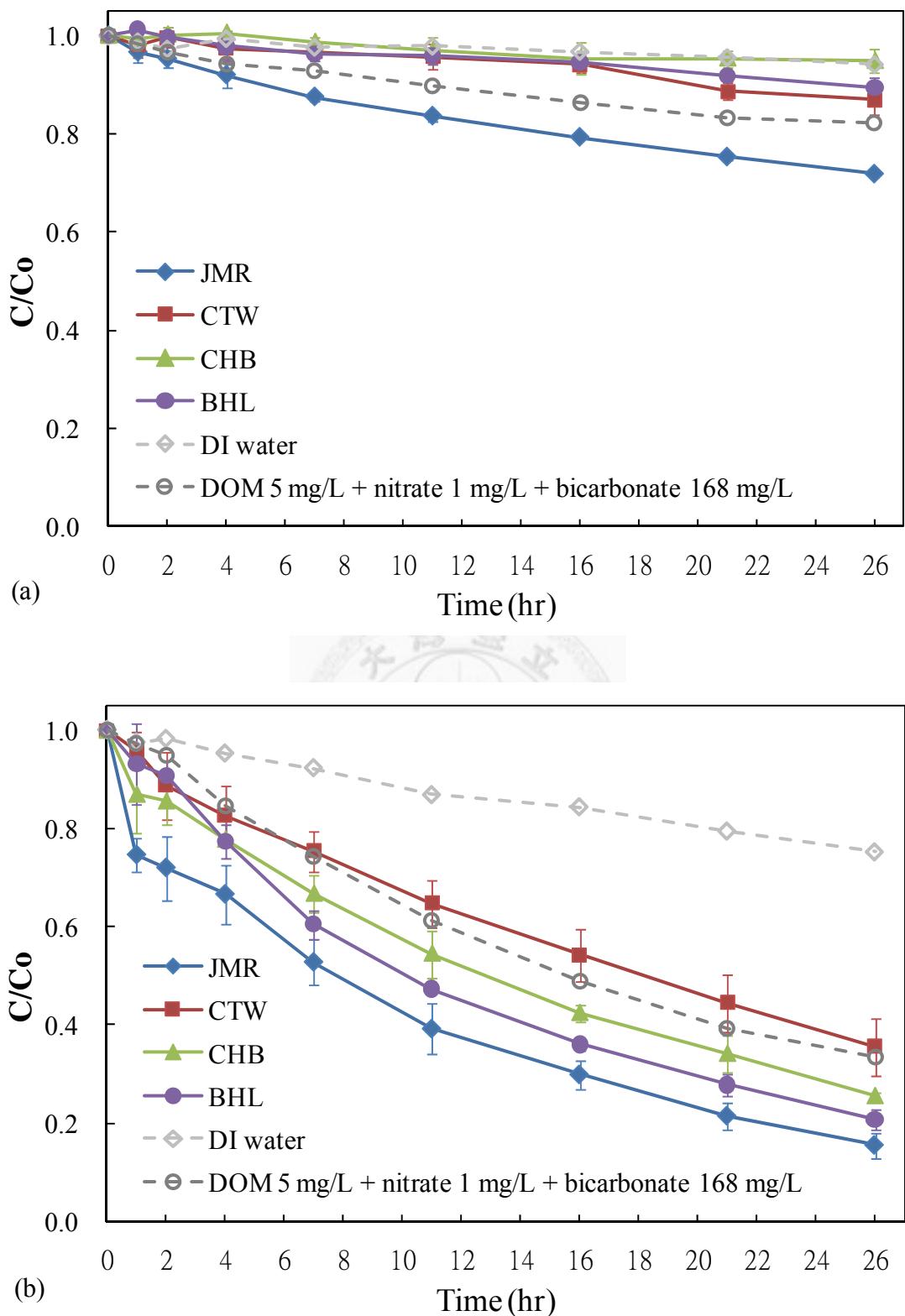


圖 4.15 環境水體光降解實驗，化合物 $50 \mu\text{g/L}$ 於四個水體之濃度隨時間變化圖
 (a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

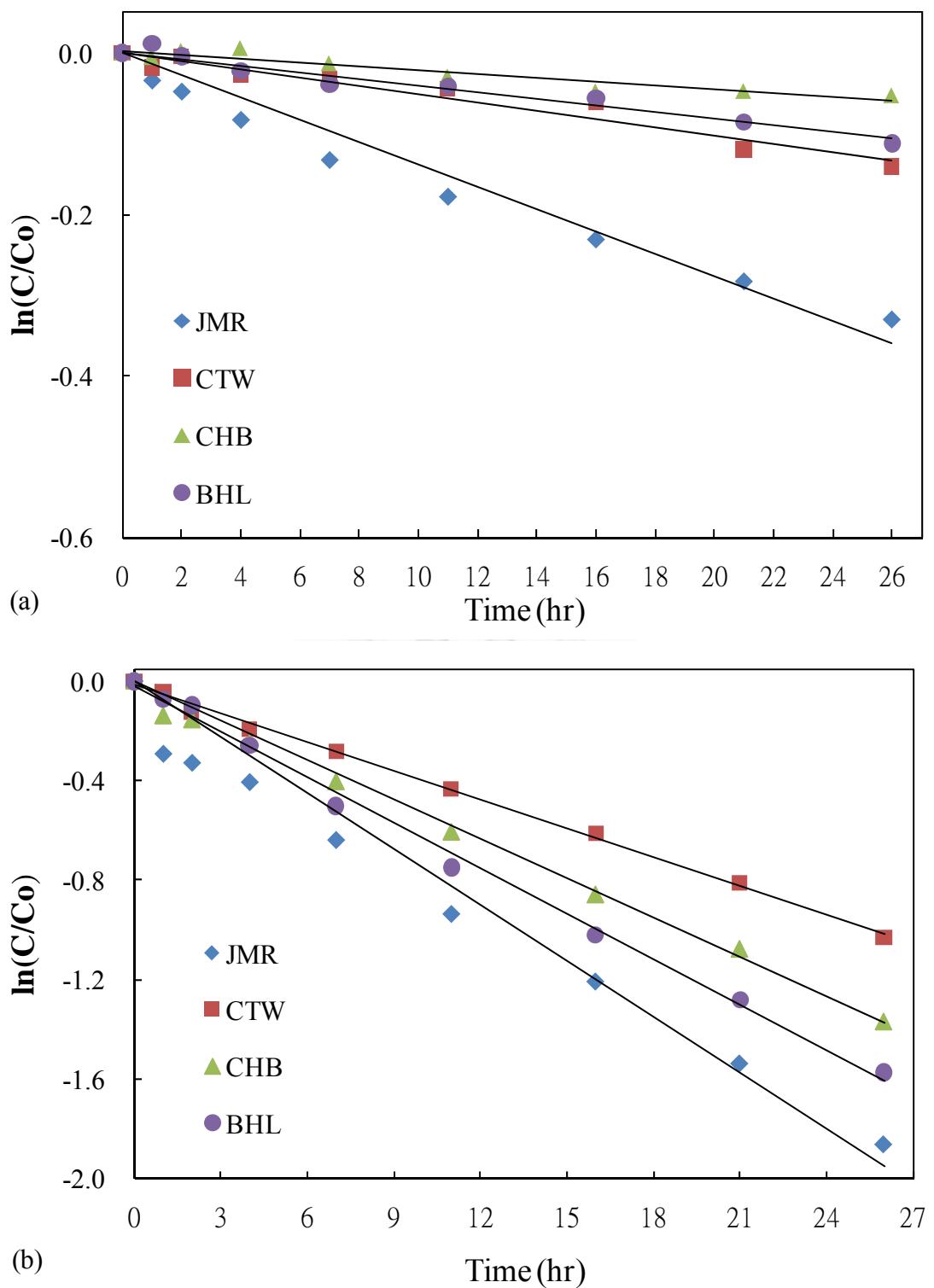


圖 4.16 環境水體光降解實驗，四個水體之 pseudo-first-order degradation kinetics
 趨勢線(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

表 4.7 環境水體光降解實驗，降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant ($\text{hr}^{-1} \times 10^2$)	Half-lives (hr)	r^2
cyclophosphamide				
JMR	28.2 ± 0.7	1.38 ± 0.01	50.1 ± 0.5	0.95
CTW	13.1 ± 4.0	0.51 ± 0.17	147.0 ± 53.8	0.75
CHB	No degraded			
BHL	10.6 ± 2.6	0.41 ± 0.11	179.8 ± 59.5	0.80
5-fluorouracil				
JMR	84.5 ± 2.5	7.54 ± 0.59	9.2 ± 0.7	0.88
CTW	64.4 ± 5.8	3.96 ± 0.63	17.8 ± 3.0	0.95
CHB	74.6 ± 0.9	5.31 ± 0.33	13.1 ± 0.8	0.95
BHL	79.3 ± 1.9	6.23 ± 0.20	11.1 ± 0.4	0.93

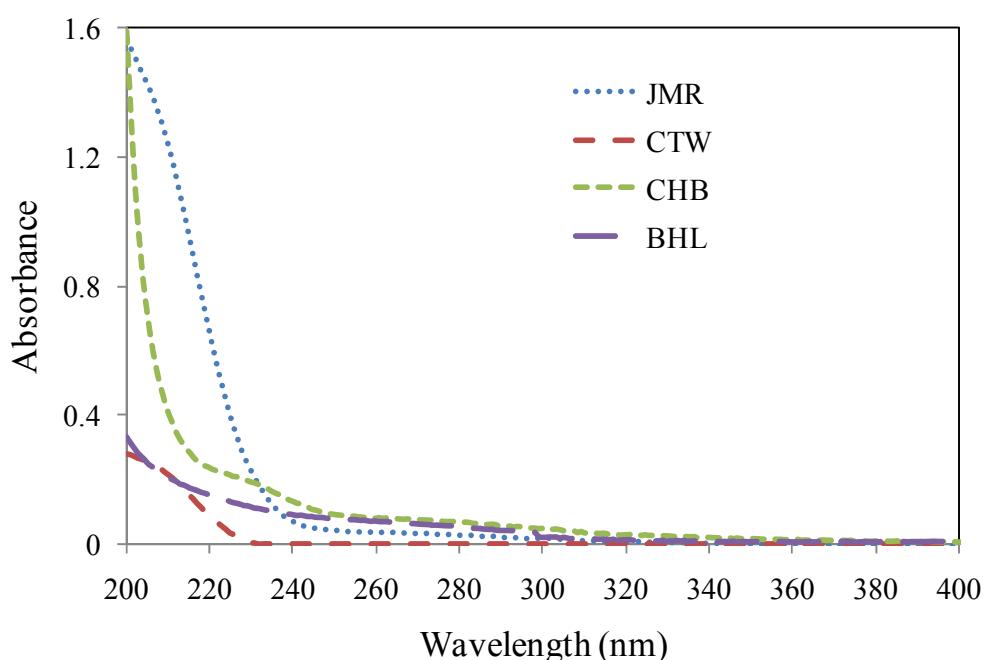


圖 4.17 環境水體光降解實驗，四個水體之 UV-Vis 吸收光譜圖

4.4.2 JingMei River(景美溪，JMR) 使用高壓滅菌以及加入抑制劑 iPrOH 及 NaN₃

針對 JMR 先以 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 濾膜過濾再使用高壓滅菌探討水中微生物是否會干擾光降解。結果如圖 4.18(a)(b)及表 4.8 所示，未照光實驗之數據如附錄 7.1 所示。

進行高壓滅菌前後 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 的降解皆無顯著變化，初步排除水中微生物的干擾。

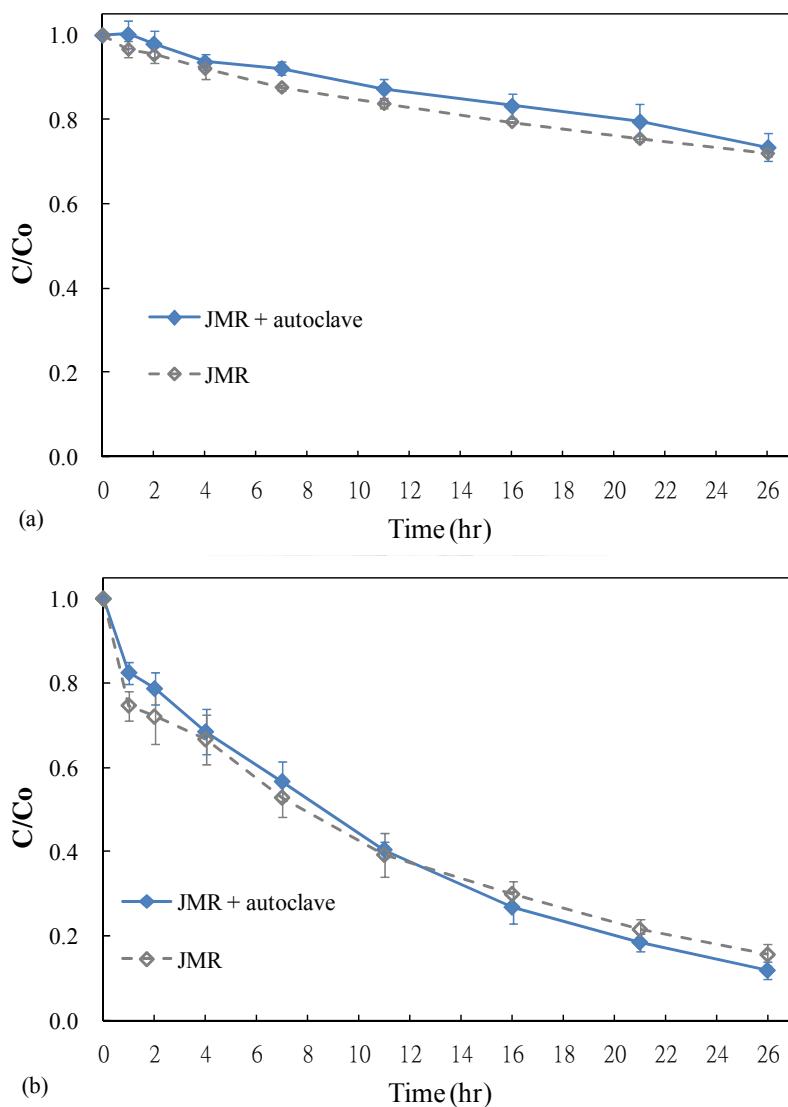


圖 4.18 環境水體光降解實驗，JMR 經過高壓滅菌後之濃度隨時間變化圖
(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

JMR 加入抑制劑之目的在於與間接光降解實驗加入抑制劑的實驗結果進行比對，探討在環境水體及合成水質中反應性含氧化物質(ROS)是否一致，DOM、nitrate 及 bicarbonate 與反應性含氧化物質(ROS)的關係如 4.3.4 節所示。在環境水體中使用 iPrOH 可抑制 free radicals，最有可能被抑制的物質包括 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{CO}_3^-$ 及 $\cdot\text{OOR}$ (如表 2.7 所示)，使用 NaN_3 可抑制 $^1\text{O}_2$ 。結果如圖 4.19 及表 4.8 所示。

Cyclophosphamide 在 JMR 未經抑制的光降解半生期為 50.1 hr，加入抑制劑 iPrOH 及 NaN_3 後都無降解效果，證實 JMR 的水質條件照光後產生的 free radicals 及 $^1\text{O}_2$ 具有降解功效，同時未被抑制之 $^3\text{DOM}^*$ 無降解效果。與間接光降解實驗得到的結論一致。

5-Fluorouracil 在 JMR 未經抑制的光降解半生期為 9.2 hr，加入抑制劑 iPrOH 及 NaN_3 後半生期分別為 16.1 及 13.5 hr，降解速率都仍比直接光降解半生期 62.9 hr 更快，證實 JMR 的水質條件照光後產生的 free radicals 及 $^1\text{O}_2$ 具有降解功效，同時未被抑制之 $^3\text{DOM}^*$ 也有降解效果。與間接光降解實驗得到的結論一致。



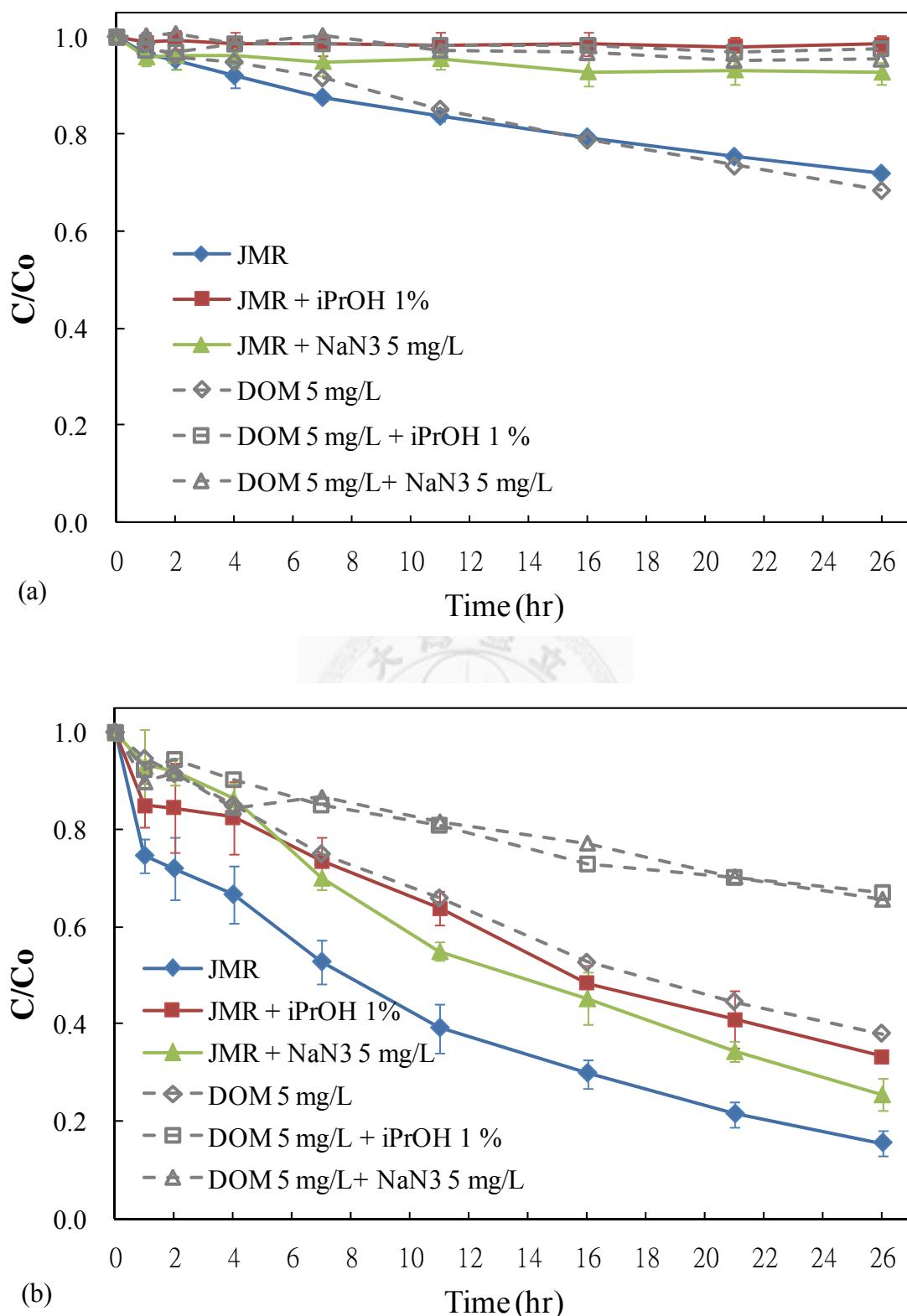


圖 4.19 JMR 加入抑制劑 iPrOH 及 NaN₃ 之濃度隨時間變化圖

(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

表 4.8 環境水體光降解實驗, JingMei River 加入 iPrOH 及 NaN₃ 並使用 autoclave 之降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant (hr ⁻¹ × 10 ²)	Half-lives (hr)	r ²
cyclophosphamide				
JMR	28.2 ± 0.7	1.38 ± 0.01	50.1 ± 0.5	0.95
JMR + iPrOH 1%		No degraded		
JMR + NaN ₃ 5 mg/L		No degraded		
JMR + autoclave	26.7 ± 4.3	1.17 ± 0.30	61.5 ± 13.9	0.89
5-fluorouracil				
JMR	84.5 ± 2.5	7.54 ± 0.59	9.2 ± 0.7	0.88
JMR + iPrOH 1%	66.7 ± 0.8	4.32 ± 0.29	16.1 ± 1.1	0.93
JMR + NaN ₃ 5 mg/L	74.4 ± 3.3	5.16 ± 0.40	13.5 ± 1.0	0.96
JMR + autoclave	88.2 ± 2.0	8.23 ± 0.60	8.5 ± 0.6	0.93



4.5 全部實驗之半生期

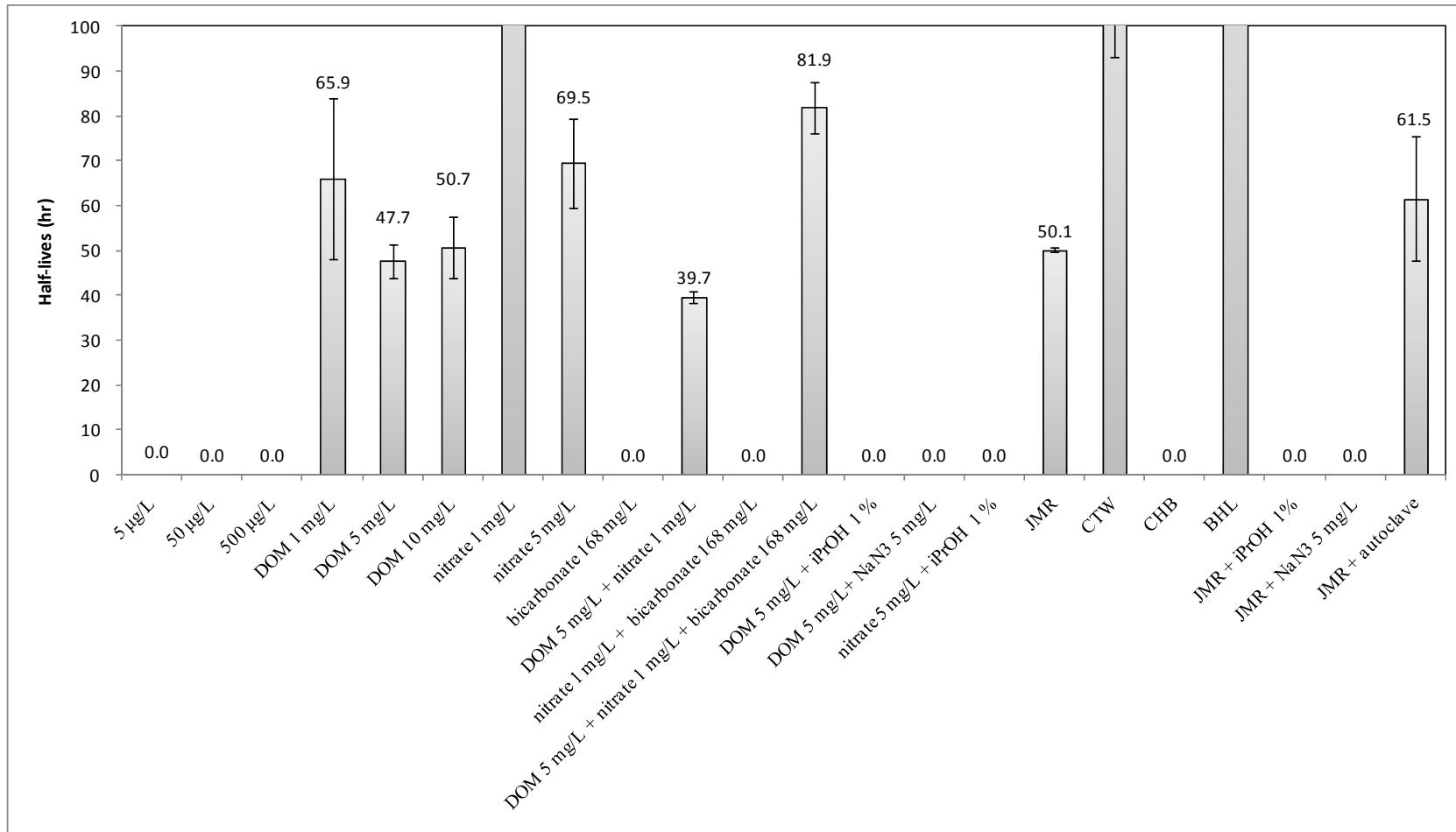


圖 4.20 cyclophosphamide 全部實驗之半生期數據 (無降解以 0 表示)

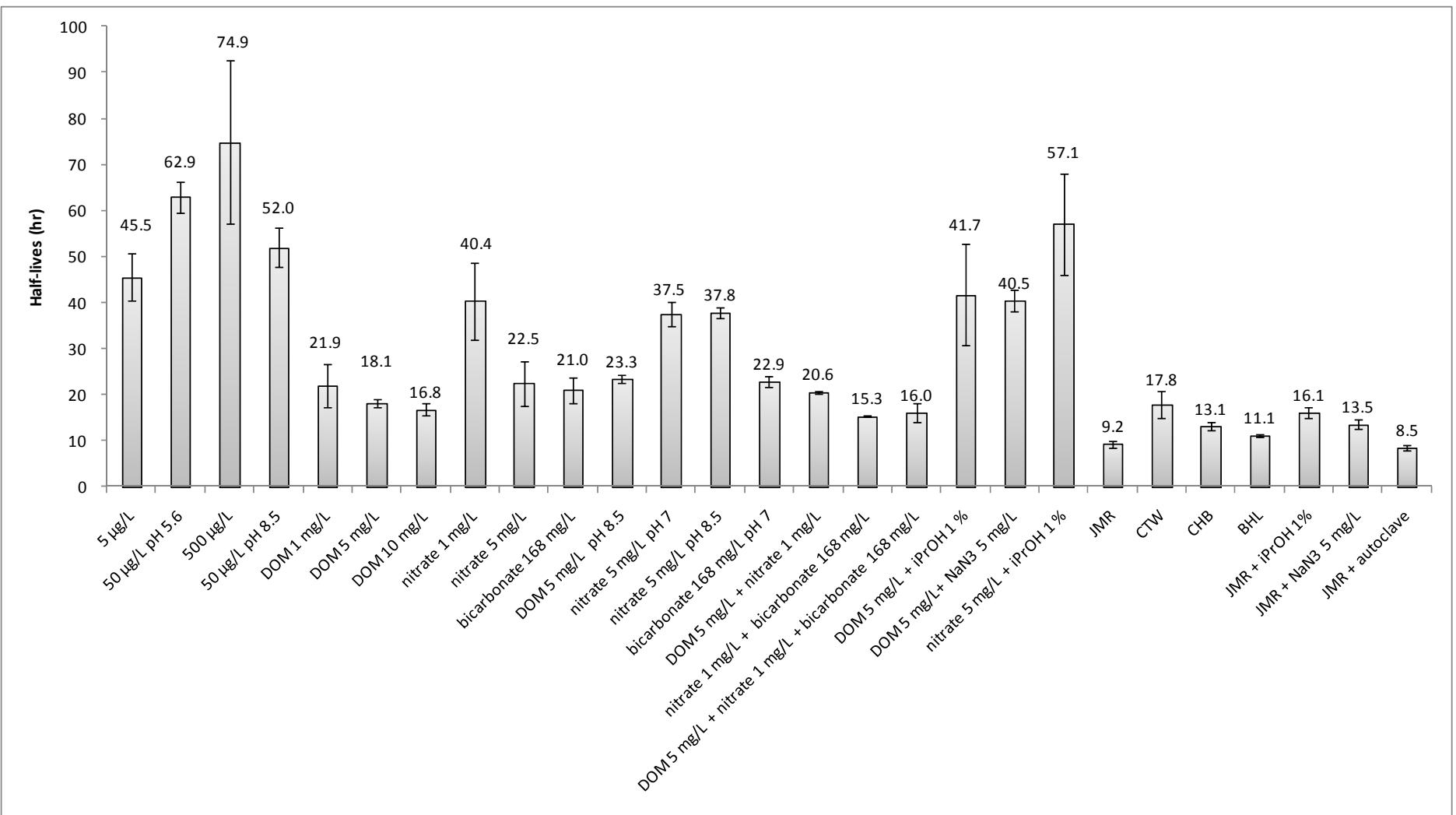


圖 4.21 5-fluorouracil 全部實驗之半生期數據

第五章 結論與建議

5.1 結論

本研究之目的為探討 cyclophosphamide 及 5-fluorouracil 在水體環境中的光降解宿命，瞭解水體中的常見因子對於光降解的影響以及實驗室合成水質與自然表面水體之光降解差異，實驗的結論如下：

5.1.1 Cyclophosphamide 在水體環境中的光降解宿命

1. 直接光降解：無，未照光情況下在水中的濃度穩定。
2. 間接光降解：
 - a. Dissolved organic matter (DOM): 有助於間接光降解，濃度由 1 mg/L 提高至 5 mg/L 半生期分別為 65.9 及 47.7 hr 合計縮短 28 %，但 DOM 濃度由 5 mg/L 提高至 10 mg/L 的半生期分為別 47.7 及 50.7 hr 兩者並無顯著差異的原因是高濃度 DOM 在清除 free radicals 的效果會比產生要好。照光後產生具有降解效果的反應性含氧化物質 (reactive oxygen species, ROS) 為 free radicals 及 $^1\text{O}_2$ (singlet oxygen)，但是 $^3\text{DOM}^*$ (triplet excited states of DOM) 則無效果。
 - b. Nitrate: 有助於間接光降解，濃度由 1 mg/L 提高至 5 mg/L 半生期分別為 173.6 及 69.5 hr 合計縮短 60 %。照光後產生具有降解效果的 ROS 為 $\cdot\text{OH}$ (hydroxyl radical)。
 - c. Bicarbonate: 無助於間接光降解，且 $\cdot\text{OH}$ 與 bicarbonate 反應後產生的 $\cdot\text{CO}_3^-$ (carbonate radical) 也無降解效果，因此 bicarbonate 藉由清除 $\cdot\text{OH}$ 的機制也會減少經由 DOM 或 nitrate 的間接光降解效果。
3. 環境水體光降解：
 - a. 在四個臺灣北部環境水體的半生期範圍為無降解至 50.1 hr。
 - b. 使用 DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L 的組合來預測環境水體降解速率，其降解速率常數為景美溪(JMR)的 62 % 且介於四個水體之間，因此該組合對於環境水體具有相當程度的代表性。以水體中平衡濃度而言影響光降解最重要的因素為 DOM 及 bicarbonate，而 nitrate 由於濃度低影響程度次之。

- c. 環境水體中的 ROS 與間接光降解實驗得到的結論一致。
4. 光降解宿命：在水體環境中光降解途徑全部為間接光降解，且受到上述 DOM、nitrate 及 bicarbonate 不同特性的影響，導致光降解速率緩慢，因此具有持久性質而容易殘留在水體環境裡。

5.1.2 5-Fluorouracil 在水體環境中的光降解宿命

1. 直接光降解：
 - a. 初始濃度：在 5 至 500 $\mu\text{g/L}$ 的範圍內具有直接光降解，半生期的範圍為 45.5 至 74.9 hr，初始濃度低降解速率較快。未照光情況下在水中的濃度穩定。
 - b. pH 值：化合物 pKa 為 8.02，在 pH 8.5 的降解速率與在 DI water (去離子水，pH 5.6)無顯著差異。
2. 間接光降解：
 - a. pH 值：pH 值會改變 DOM 及 nitrate 對於間接光降解的效果，但 pH 值對於 bicarbonate 的效果無影響。
 - b. DOM：有助於間接光降解，濃度 1、5 及 10 mg/L 半生期分別為 21.9、18.1 及 16.8 hr，濃度提高降解速率較快。照光後產生具有降解效果的 ROS 為 free radicals、 $^1\text{O}_2$ 及 $^3\text{DOM}^*$ 。
 - c. Nitrate：有助於間接光降解，濃度由 1 mg/L 提高至 5 mg/L 半生期分別為 40.4 及 22.5 hr。照光後產生具有降解效果的 ROS 為 $\cdot\text{OH}$ 。
 - d. Bicarbonate：有助於間接光降解，且經由 $\cdot\text{OH}$ 與 bicarbonate 反應後產生的 $\cdot\text{CO}_3^-$ 亦具有降解效果。
3. 環境水體光降解：
 - a. 在四個臺灣北部環境水體的半生期範圍為 9.2 至 17.8 hr。
 - b. 使用 DOM 5 mg/L + nitrate 1 mg/L + bicarbonate 168 mg/L 的組合來預測環境水體降解速率，其降解速率常數為景美溪(JMR)的 58 %且皆低於四個水體，因此該組合對於環境水體之代表性略有不足，這是由於 $^3\text{DOM}^*$ 也會影響降解而使得不確定的因素增加。以水體中平衡濃度而言影響光降解最重要的因素為 DOM 及 bicarbonate，而 nitrate 由於濃度低影響程度次之。
 - c. 環境水體中的 ROS 與間接光降解實驗得到的結論一致。

4. 光降解宿命：在水體環境中光降解途徑包括直接及間接光降解，且以間接光降解為主要的光降解途徑。由於 DOM、nitrate 及 bicarbonate 都有助於光降解，因此光降解速率快，殘留在水體環境裡的機會低。

5.2 建議

1. 文獻指出氧氣是大多數激發態(triplet states)物質的抑制劑 (Chen *et al.*, 2009)，本研究以 DOM 加入 iPrOH 及 NaN₃ 的結果得知 ³DOM* 會與 5-fluorouracil 反應，若要進一步驗證 ³DOM* 的效果可利用曝氮氣或加入其他 ³DOM* 抑制劑，如 sorbic acid。
2. 環境水體的降解速率普遍都比間接光降解實驗的合成水質快，說明合成水質的代表性仍有不足，可以再重新檢視文獻中出現過的光降解影響因素，針對 DOM、nitrate 及 bicarbonate 之外的因素再設計實驗進行研究，或著使用其它種類的 humic substance 來模擬水中 DOM，例如使用 fulvic acid，來探討不同光敏感起始物質(photosensitizer)的影響。



參考文獻

- A. Tauxe-Wuersch, L. F. De Alencastro, D. Grandjean, and J. Tarradellas. 2005. Trace determination of Tamoxifen and 5-Fluorouracil in hospital and urban wastewaters. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.
- Bagley, C.M., F.W. Bostick, and V.T. DeVita. 1973. Clinical Pharmacology of Cyclophosphamide. *Cancer Research*. 33:226-233.
- Boreen, A.L., W.A. Arnold, and K. McNeill. 2004. Photochemical Fate of Sulfa Drugs in the Aquatic Environment: Sulfa Drugs Containing Five-Membered Heterocyclic Groups. *Environmental Science & Technology*. 38:3933-3940.
- Boreen, A.L., W.A. Arnold, and K. McNeill. 2005. Triplet-Sensitized Photodegradation of Sulfa Drugs Containing Six-Membered Heterocyclic Groups: Identification of an SO₂ Extrusion Photoproduct. *Environmental Science & Technology*. 39:3630-3638.
- Bouillon, R.-C., and W.L. Miller. 2005. Photodegradation of Dimethyl Sulfide (DMS) in Natural Waters: Laboratory Assessment of the Nitrate-Photolysis-Induced DMS Oxidation. *Environmental Science & Technology*. 39:9471-9477.
- Buerge, I.J., H.-R. Buser, T. Poiger, and M.D. Müller. 2006. Occurrence and Fate of the Cytostatic Drugs Cyclophosphamide and Ifosfamide in Wastewater and Surface Waters†. *Environmental Science & Technology*. 40:7242-7250.
- Chen, Y., C. Hu, X. Hu, and J. Qu. 2009. Indirect Photodegradation of Amine Drugs in Aqueous Solution under Simulated Sunlight. *Environmental Science & Technology*. 43:2760-2765.
- Chen, Y., C. Hu, J. Qu, and M. Yang. 2008. Photodegradation of tetracycline and formation of reactive oxygen species in aqueous tetracycline solution under simulated sunlight irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 197:81-87.

Chowdhury, R.R., P.A. Charpentier, and M.B. Ray. 2011. Photodegradation of 17[β]-estradiol in aquatic solution under solar irradiation: Kinetics and influencing water parameters. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 219:67-75.

Colvin, O.M. 1999. An overview of cyclophosphamide development and clinical applications. *Current Pharmaceutical Design*. 5:555-560.

Cooper, W.J., R.G. Zika, R.G. Petasne, and A.M. Fischer. 1989. Sunlight-Induced Photochemistry of Humic Substances in Natural Waters: Major Reactive Species. 219:333-362.

Doede, C.M., and C.A. Walker. 1955. Photochemical Engineering. *Chem. & Eng.*:159.

Dulin, D., and T. Mill. 1982. Development and evaluation of sunlight actinometers. *Environmental Science & Technology*. 16:815-820.

Ghoshal, K., and S.T. Jacob. 1997. An alternative molecular mechanism of action of 5-fluorouracil, a potent anticancer drug. *Biochemical Pharmacology*. 53:1569-1575.

Heggie, G.D., J.-P. Sommadossi, D.S. Cross, W.J. Huster, and R.B. Diasio. 1987. Clinical Pharmacokinetics of 5-Fluorouracil and Its Metabolites in Plasma, Urine, and Bile. *Cancer Research*. 47:2203-2206.

Kiffmeyer, T., H.-J. Götze, M. Jursch, and U. Lüders. 1998. Trace enrichment, chromatographic separation and biodegradation of cytostatic compounds in surface water. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 361:185-191-191.

Lam, M.W., and S.A. Mabury. 2005. Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. *Aquatic Sciences*. 67:177-188.

Lam, M.W., K. Tantuco, and S.A. Mabury. 2003. PhotoFate: A New Approach in Accounting for the Contribution of Indirect Photolysis of Pesticides and Pharmaceuticals in Surface Waters. *Environmental Science & Technology*. 37:899-907.

- Latch, D.E., B.L. Stender, J.L. Packer, W.A. Arnold, and K. McNeill. 2003. Photochemical Fate of Pharmaceuticals in the Environment: Cimetidine and Ranitidine. *Environmental Science & Technology*. 37:3342-3350.
- Legan, R.W. 1982. Ultraviolet light take on CPI roles. *Chemical Engineering*. 89:95-100.
- Lin, A.Y.-C., and M. Reinhard. 2005. Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24:1303-1309.
- Lin, A.Y.-C., and Y.-T. Tsai. 2009. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Science of The Total Environment*. 407:3793-3802.
- Lin, A.Y.-C., T.-H. Yu, and S.K. Lateef. 2009. Removal of pharmaceuticals in secondary wastewater treatment processes in Taiwan. *Journal of Hazardous Materials*. 167:1163-1169.
- Liu, Q.-T., and H.E. Williams. 2006. Kinetics and Degradation Products for Direct Photolysis of β -Blockers in Water. *Environmental Science & Technology*. 41:803-810.
- Liu, Y., Y. Tong, and J. Liu. 2010. Photodegradation of Acetaminophen in Secondary Effluent of Sewage Treatment Plant under Simulated Sunlight Irradiation. *Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE), 2010 4th International Conference on* 1-4.
- Lubomira, K. 2009. Cytostatics in the aquatic environment : analysis, occurrence, and possibilities for removal.
- Mack, J., and J.R. Bolton. 1999. Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 128:1-13.
- Mahnik, S., K. Lenz, N. Weissenbacher, R. Mader, and M. Fuerhacker. 2007. Fate of 5-fluorouracil, doxorubicin, epirubicin, and daunorubicin in hospital wastewater

- and their elimination by activated sludge and treatment in a membrane-bio-reactor system. *Chemosphere*. 66:30-37.
- Mahnik, S., B. Rizovski, M. Fuerhacker, and R. Mader. 2004. Determination of 5-fluorouracil in hospital effluents. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 380.
- Mirkes, P.E. 1985. Cyclophosphamide teratogenesis: A review. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*. 5:75-88.
- Ou, W.-S., M.-C. Ho, J.-L. Chen, J.-F. Chen, and S.-C. Lo. 2008. The Study on the Typical Radiation for Solar Architecture Design of Taiwan. *Journal of Architecture*. 64:103-118.
- Razavi, B., S. Ben Abdelmelek, W. Song, K.E. O'Shea, and W.J. Cooper. 2011. Photochemical fate of atorvastatin (lipitor) in simulated natural waters. *Water Research*. 45:625-631.
- Schmoll, H.J., T. Büchele, A. Grothey, and W. Dempke. 1999. Where do we stand with 5-fluorouracil? *Seminars in Oncology*. 26:589-605.
- Seymour. S. Cohen, Joel G. Flaks, Hazel D. Barner, Marilyn R. Loeb, and J. Lichtenstein. 1958. The mode of action of 5-fluorouracil and its derivatives. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 44:1004–1012.
- Shah, R.M., and R.A. MacKay. 1978. Teratological evaluation of 5-fluorouracil and 5-bromo-2-deoxyuridine on hamster fetuses. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*. 43:47-54.
- Steger-Hartmann, T., K. Kümmerer, and A. Hartmann. 1997. Biological Degradation of Cyclophosphamide and Its Occurrence in Sewage Water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 36:174-179.
- Vione, D., S. Khanra, S.C. Man, P.R. Maddigapu, R. Das, C. Arsene, R.-I. Olariu, V. Maurino, and C. Minero. 2009. Inhibition vs. enhancement of the nitrate-induced phototransformation of organic substrates by the •OH scavengers bicarbonate and carbonate. *Water Research*. 43:4718-4728.

- Wang, L., C. Albasi, V. Faucet-Marquis, A. Pfohl-Leszkowicz, C. Dorandeu, B. Marion, and C. Causserand. 2009. Cyclophosphamide removal from water by nanofiltration and reverse osmosis membrane. *Water Research*. 43:4115-4122.
- Weeks, J.L., and J. Rabani. 1966. The Pulse Radiolysis of Deaerated Aqueous Carbonate Solutions. I. Transient Optical Spectrum and Mechanism. II. pK for OH Radicals¹. *The Journal of Physical Chemistry*. 70:2100-2106.
- Werner, J.J., W.A. Arnold, and K. McNeill. 2006. Water Hardness as a Photochemical Parameter: Tetracycline Photolysis as a Function of Calcium Concentration, Magnesium Concentration, and pH[†]. *Environmental Science & Technology*. 40:7236-7241.
- Zepp, R.G. 1988. Factors affecting the photochemical treatment of hazardous waste. *Environmental Science & Technology*. 22:256-257.
- Zounková, R., P. Odráška, L. Doležalová, K. Hilscherová, B. Maršíálek, and L. Bláha. 2007. Ecotoxicity and genotoxicity assessment of cytostatic pharmaceuticals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26:2208-2214.
- Zuccato, E., D. Calamari, M. Natangelo, and R. Fanelli. 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet*. 355:1789-1790.

附錄

7.1 未照光實驗數據

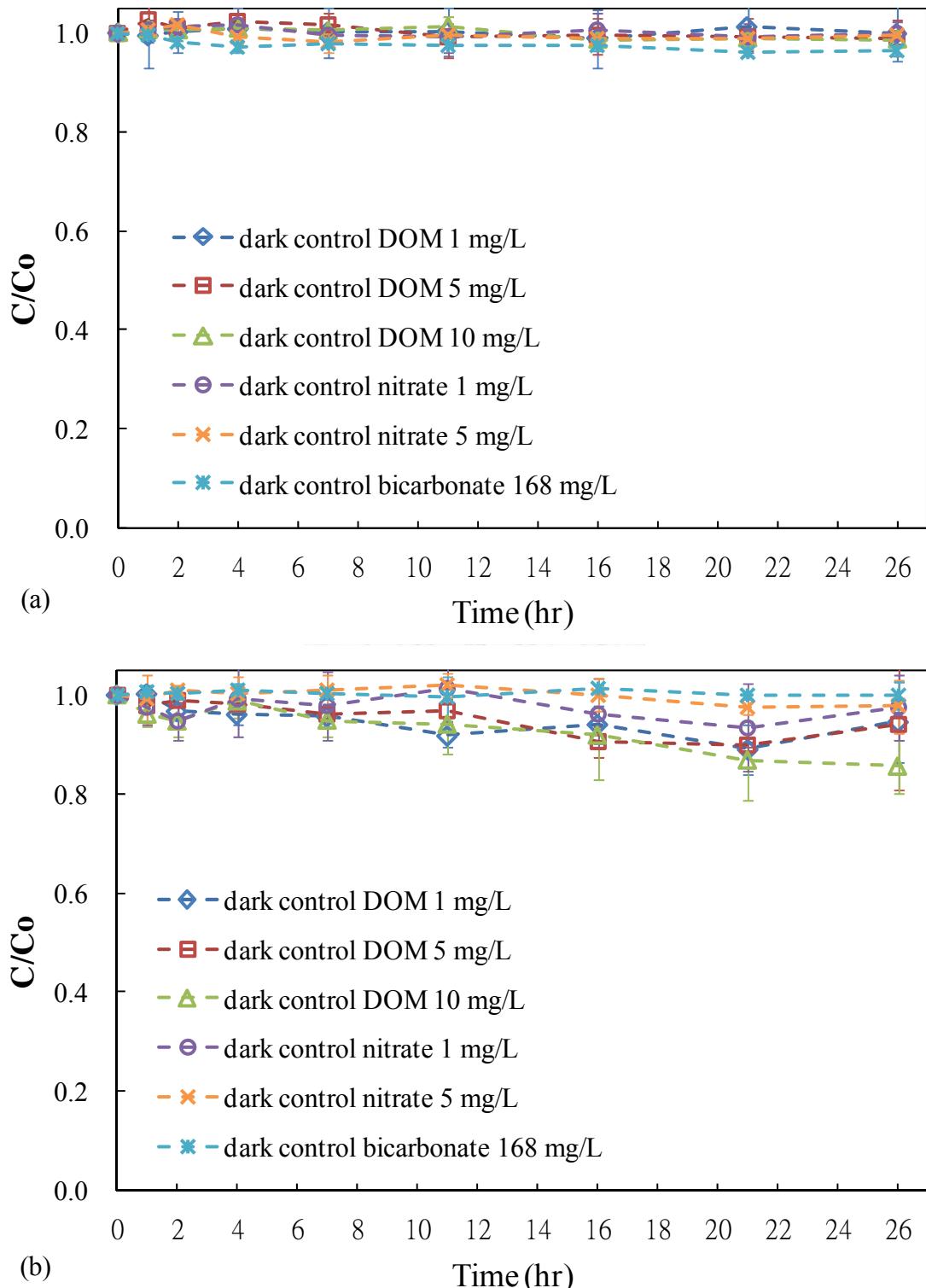


圖 7.1 間接光降解實驗，未照光實驗數據(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

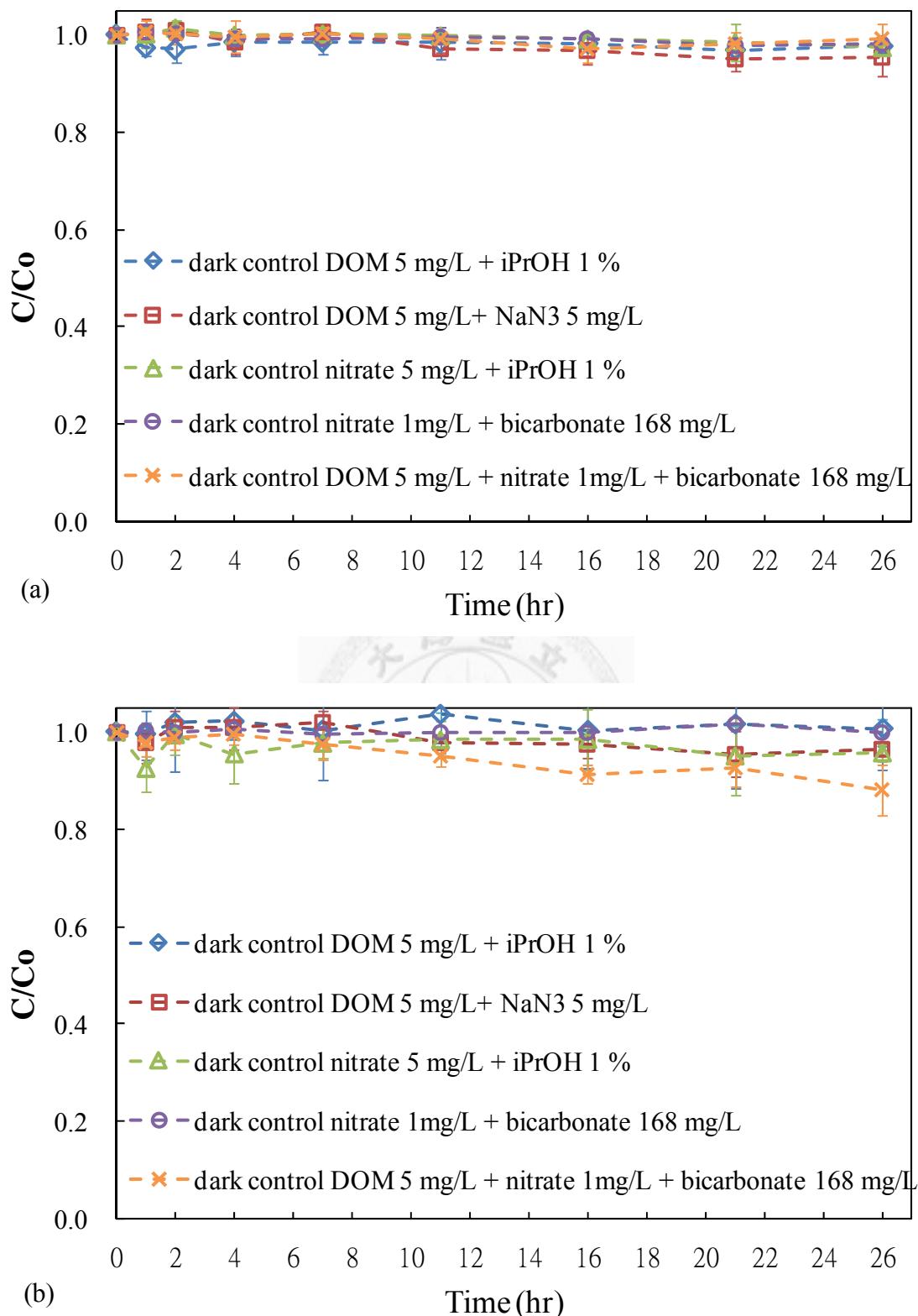


圖 7.2 間接光降解實驗，未照光實驗數據(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

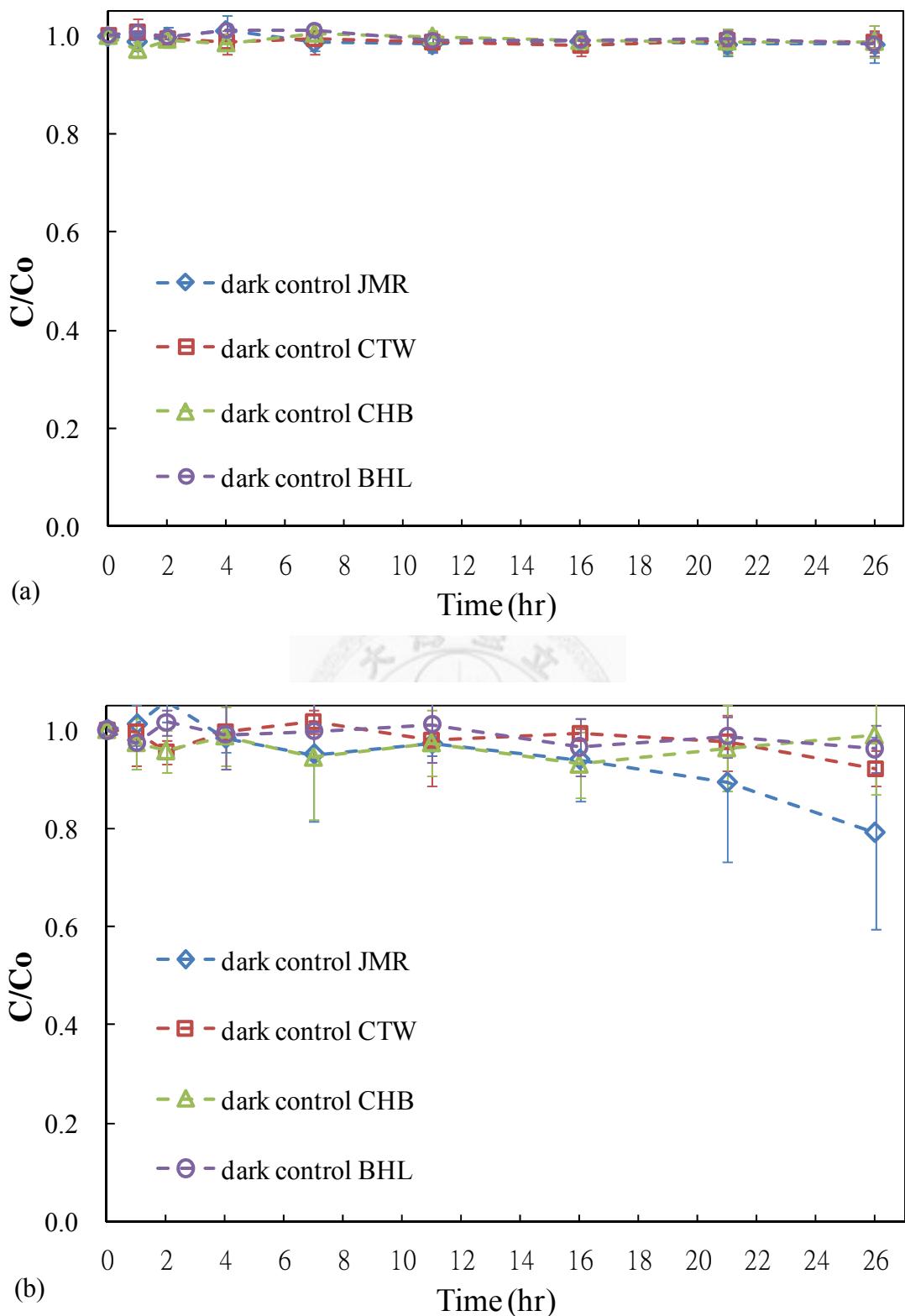


圖 7.3 環境水體光降解實驗，未照光實驗數據

(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

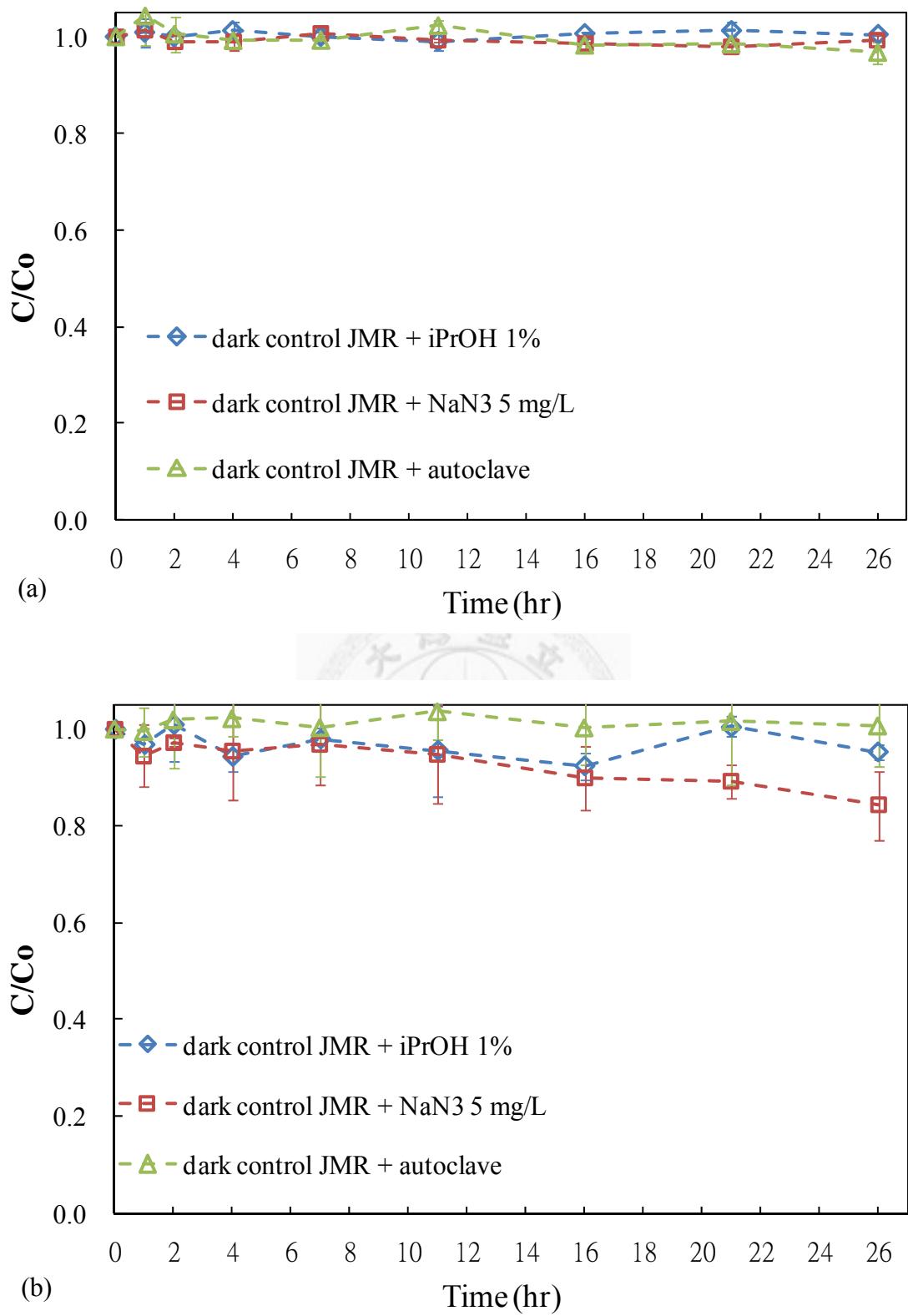


圖 7.4 環境水體光降解實驗，未照光實驗數據

(a) cyclophosphamide (b) 5-fluorouracil

7.2 其他實驗數據

7.2.1 5-fluorouracil 直接光降解產生的反應性含氧化物質(ROS)

造成直接光降解的原因可能為化合物本身進行自我感光激發過程 (self-sensitization process)而在照光之後自己產生反應性含氧化物質(ROS)如 ${}^1\text{O}_2$ 或 $\cdot\text{OH}$ (Latch *et al.*, 2003)，添加抑制劑能找出在直接光降解中是產生哪種主要的反應性含氧化物質(ROS)。本研究所使用常見之抑制劑異丙醇(isopropanol, iPrOH)及疊氮化鈉(sodium azide, NaN₃)，分別用來抑制 free radicals 及 ${}^1\text{O}_2$ ，結果如圖 7.5 及表 7.1 所示。

5-fluorouracil 對加入 NaN₃ 後與未加入前的直接光降解的情形使用 student t test 檢定 (附錄 7.4 節)得到檢定值為 0.90 大於顯著水準 $\alpha = 0.05$ ，無法拒絕與直接光降解的數據有差異。對加入 iPrOH 之後數據使用 student t test 檢定兩者是否有差異，得到檢定值為 0.01 小於顯著水準 $\alpha = 0.05$ ，拒絕虛無假設，故降解速率有些微變化。文獻指出化合物的直接光降解可能會產生 free radicals 的中間產物 (Lam and Mabury, 2005)，可能可以用來解釋 5-fluorouracil 的實驗數據。但由於本研究間接光降解實驗 (4.3.4 節)亦使用 nitrate + iPrOH 的組合來探討抑制效果，得到的結論卻是抑制後降解速率與直接光降解相近，與本節結論略有差異，因此若要進一步確認本節結論應先考慮增加實驗次數 (本節為三次重複實驗)，瞭解實驗誤差範圍後再進行後續討論較恰當。

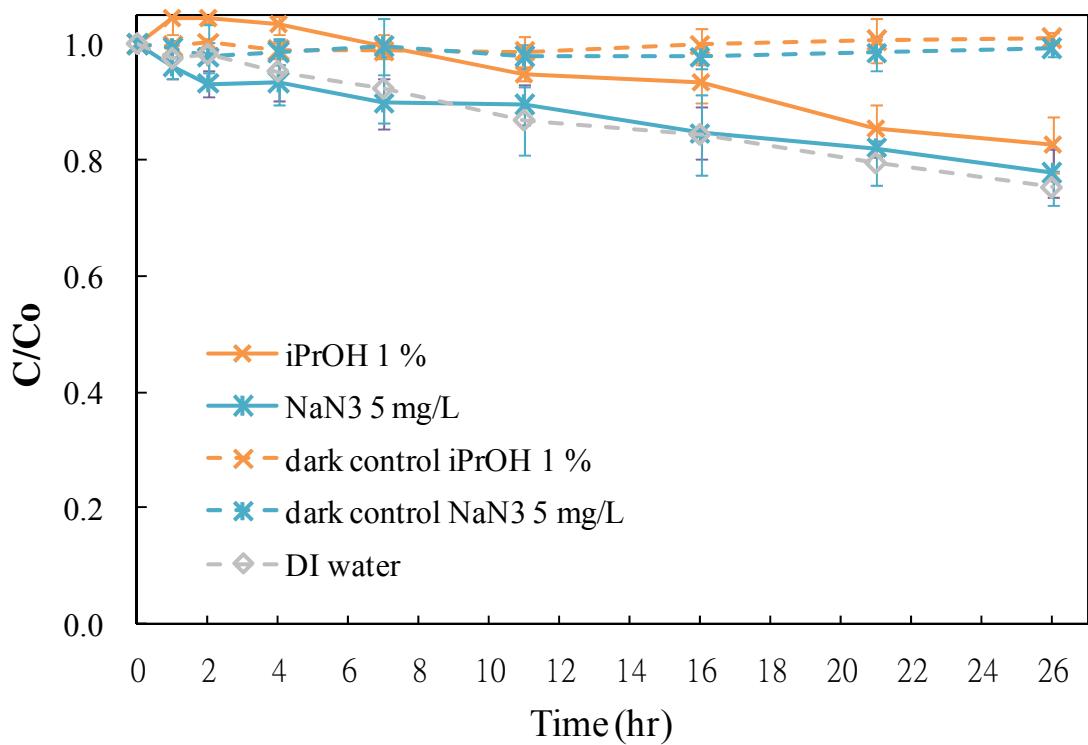


圖 7.5 直接光降解實驗，5-fluorouracil 50 µg/L 分別加入抑制劑 iPrOH 及 NaN₃ 經照光後之濃度隨時間變化圖

表 7.1 直接光降解實驗，加入 iPrOH 及 NaN₃ 降解結果、pseudo-first-order kinetics 速率常數、半生期及相關係數

Compounds / condition	Degraded after 26 hr (%)	Photolysis rate constant (hr ⁻¹ × 10 ²)	Half-lives (hr)	r ²
5-fluorouracil				
50 µg/L	24.7 ± 1.3	1.10 ± 0.06	62.9 ± 3.4	0.97
50 µg/L + NaN ₃ 5 mg/L	22.2 ± 4.1	1.01 ± 0.17	70.1 ± 12.3	0.83
50 µg/L + iPrOH 1 %	17.4 ± 4.8	0.63 ± 0.20	117.9 ± 34.1	0.85

7.3 目標化合物標準品之液相層析串聯質譜儀圖譜

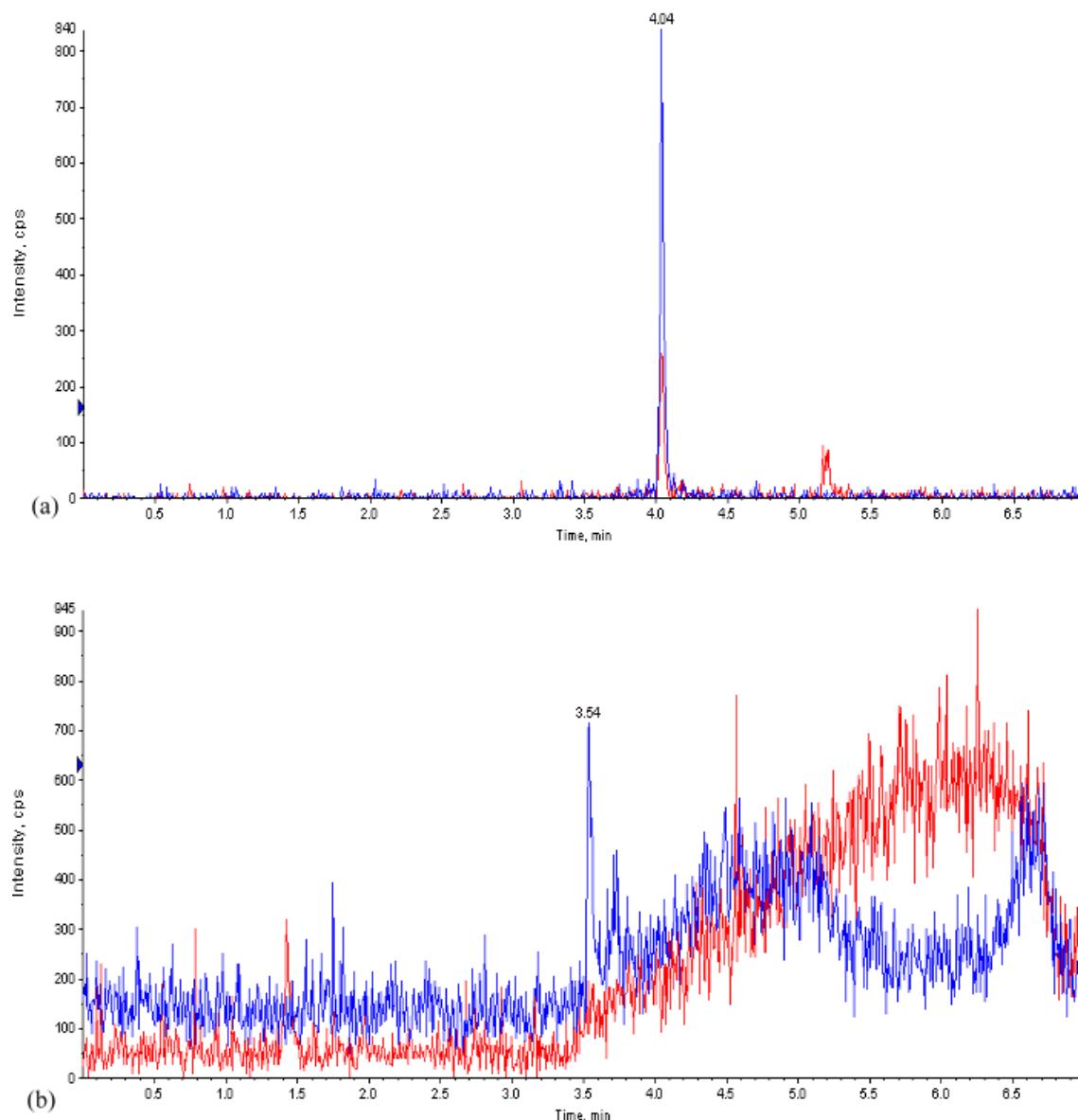


圖 7.6 化合物標準品 $0.1 \mu\text{g/L}$ 之液相層析串聯質譜儀圖譜

(a)cyclophosphamide (b)5-fluorouracil

7.4 Student t test

Type: Two-sample (independent) t test

Purpose	Test for significant differences between means
Null hypothesis	$H_0: \mu_A = \mu_B$
Significant level	$\alpha=0.05$
Calculation	p-value
Conclusion	if $p < \alpha$, reject H_0 if $p \geq \alpha$, can not reject H_0

Cyclophosphamide

t test	direct photolysis	DOM + iPrOH	DOM + NaN ₃	Nitrate + iPrOH	p-value	Reject Ho
test 1	X	X			0.49	No
test 2	X		X		0.44	No
test 3	X			X	0.01	Yes

5-Fluorouracil

t test	direct photolysis	NaN ₃	iPrOH	p-value	Reject Ho
test 1	X	X		0.90	No
test 2	X		X	0.01	Yes