

Primjena TiO₂ fotokatalizatora za uklanjanje citostatika iz vode

Tolić Čop, Kristina

Doctoral thesis / Doktorski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:908812>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

Kristina Tolić Čop

PRIMJENA TiO_2 FOTOKATALIZATORA ZA UKLANJANJE CITOSTATIKA IZ VODE

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023



University of Zagreb

FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Kristina Tolić Čop

APPLICATION OF TiO_2 PHOTOCATALYST FOR THE REMOVAL OF CYTOSTATIC DRUGS FROM WATER

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2023



Sveučilište u Zagrebu

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

Kristina Tolić Čop

PRIMJENA TiO_2 FOTOKATALIZATORA ZA UKLANJANJE CITOSTATIKA IZ VODE

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

Zagreb, 2023



University of Zagreb

FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Kristina Tolić Čop

APPLICATION OF TiO_2 FOR THE REMOVAL OF CYTOSTATIC DRUGS FROM WATER

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Prof. Dragana Mutavdžić Pavlović

Zagreb, 2023

Bibliografski podaci:

UDK: 628.349:544.526.5:615.277.3(043.3)

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Znanstvena grana: Primijenjena kemija

Institucija: Sveučilište u Zagrebu

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Zavod za analitičku kemiju

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

Broj stranica: 152

Broj slika: 57

Broj tablica: 32

Broj priloga: 14

Broj literaturnih referenci: 290

Datum obrane: 6. travanj 2023.

Sastav povjerenstva za obranu: Prof. dr. sc. Sandra Babić

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Ivan Brnardić

Metalurški fakultet

Rad je pohranjen u Knjižnici Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Marulićev trg 20; Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb; Biblioteci Sveučilišta u Rijeci, Dolac 1; Biblioteci Sveučilišta u Splitu, Livanjska 5; Biblioteci Sveučilišta u Osijeku, Europska avenija 24.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, održanoj dana 20. prosinca 2021., te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu 29. ožujka 2022.

ZAHVALE

Najprije se zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Dragani Mutavdžić Pavlović koja potiče moj znanstveni rad još od ranih godina studiranja. Hvala na pruženoj prilici upisa poslijediplomskog studija i izrade doktorskog rada, odabranoj temi, brojnim stručnim savjetima i susretljivosti prilikom realizacije istog. Hvala za svaki prijateljski razgovor, moralnu podršku i ukazano povjerenje.

Zahvale upućujem i članovima povjerenstva za obranu teme i doktorata čiji su savjeti doprinijeli kvaliteti rada. Zahvaljujem se prof. dr. sc. Sandri Babić na stručnim sugestijama tijekom izrade i pisanja doktorskog rada. Hvala prof. dr. sc. Tatjani Gazivodi Kraljević na nesebičnom dijeljenju svog vremena tijekom svih godina studiranja, a posebice na pruženoj pomoći prilikom određivanja struktura organskih spojeva. Prof. dr. sc. Ivanu Brnardiću hvala na pomoći i savjetima pruženima prilikom provedbe eksperimentalnog dijela rada. Hvala Vama i Igoru na uvijek brzom pripremi fotokatalizatora potrebnog da se istraživanje i provede.

Veliko hvala svim sadašnjim i bivšim kolegama koji čine naš Zavod ugodnim, prijateljski nastrojenim i motivirajućim mjestom za rad. Hvala svim profesorima, prof. dr. sc. Sandri Babić, prof. dr. sc. Danijeli, prof. dr. sc. Šimi, prof. dr. sc. Tomislavu, Matiji, Viktoriji koji su direktno ili indirektno utjecali na mene kao znanstvenika te pružili pomoć kad god je trebalo.

Od srca hvala mojim curama, Slavici i Tanji, dobrim vilama našeg Zavoda. Pravi ste primjer osoba koje nastoje svojom toplinom, vedrinom i susretljivosti pomoći svakome i pozitivno utjecati na nas tijekom radnog dana, ali i nakon njega. Hvala vam što ste mi svaki dan bile oslonac, bilo poslovno ili privatno... Bruni, cimerici, također hvala na nesebičnom prijateljstvu, podršci, ozbiljnim ili nekad više neozbiljnim razgovorima. Zahvaljujem se i Dariu koji je od prvih dana mog zaposlenja bio uvijek tu za mene kao prijatelj i kolega koji je nesebično dijelio svoje znanje i ohrabrivao moj znanstveni put. Hvala i Martini koja mi je pružala svoju podršku i savjet kad god je zatrebalo. Hvala i organičarki Ivani, prijateljici i kolegici koja je definitivno najbolje razumjela i dijelila skupa sa mnom put na Fakultetu.

Veliko hvala svim mojim prijateljima, kumićima i obitelji, malom krugu velikih ljudi koji su uvijek vjerovali u mene i bili potpora.

Najveće hvala mojim roditeljima zbog kojih sam danas tu gdje jesam. Nema tih riječi kojima se može iskazati količina zahvale na pruženoj ljubavi, motivaciji, bezuvjetnoj podršci i vjeri u moj uspjeh koja me gurala naprijed kroz sve faze života pa tako i kroz profesionalni razvoj. Hvala i bratu Kikiju što je uvijek tu za mene.

Na kraju hvala mom Matku na pruženoj podršci, razumijevanju i poticanju da budem što bolji čovjek i da nikad ne odustajem.

SAŽETAK

Zaštita i očuvanje vodenih resursa izazov je na globalnoj razini s kojim se današnjica susreće. Uz konvencionalne postupke obrade voda razvijaju se i napredni oksidacijski procesi koji su se zbog svog neselektivnog ponašanja pokazali učinkovitijim za uklanjanje malih organskih molekula poput farmaceutika čija prisutnost u okolišu više ne iznenađuje. Među raznim vrstama lijekova, svoj put u okolišu, ponajviše kroz otpadne vode pronašli su i lijekovi protiv raka (citostatici) koji zahtijevaju pažnju zbog povećane potrošnje i bioloških učinaka na organizme, već pri niskim koncentracijama. U ovome radu izabrana su dva citostatika, imatinib i krizotinib čija se mogućnost uklanjanja iz vode ispitala kroz sorpcijsku i fotokatalitičku aktivnost primjenom TiO_2 fotokatalizatora. Prema mehanizmu fotokatalitičkog procesa, ispitivana komponenta podlijevat će razgradnji ako se prethodno sorbira na katalizator pa se sukladno tome, u prvom nizu eksperimenata proučavao sorpcijski afinitet citostatika prema različitim oblicima TiO_2 fotokatalizatora, koristeći nekoliko modela sorpcijskih izoterma. Općenito se, na temelju određene količine sorbirane tvari, ispitala i primjenjivost sorpcije kao jednostavnije i jeftinije metode za uklanjanje imatiniba i krizotiniba iz vode ili kao preteča neke druge oksidacijske metode. Priroda procesa sorpcije, provedenog pri tri različite temperature opisana je promjenom početne koncentracije analita, pH-vrijednosti i ionske jakosti otopine te promjenom mase sorbenta. Visoke vrijednosti regresijskog koeficijenta, R^2 upućuju na prikladnost linearne, Freundlichove i Langmuirove izoterme za opisivanje sorpcije citostatika na suspendirani i imobilizirani oblik TiO_2 . Oba analita pokazuju rastući trend koeficijenta sorpcije s porastom vrijednosti pH u rasponu od 5 do 9 s naglaskom na veću mobilnost imatiniba u slučaju imobiliziranog TiO_2 . Pozitivna korelacija određena je i između temperature, mase sorbenta i koeficijenta sorpcije, dok je porastom ionske jakosti otopine krizotinib pokazao suprotan trend. Termodinamika sorpcije opisana je kao spontan proces fizikalne prirode koji slijedi kinetiku pseudo-drugog reda. Što se tiče eksperimenata fotokatalize, prvo su se odredile vrijednosti početne koncentracije analita i pH otopine pri kojoj citostatici postižu optimalnu razgradnju, primjenom modeliranja odzivnih površina (RSM). Pri dobivenim uvjetima (pH 5 i 5 mg/L) ispitan je mehanizam fotokatalitičke reakcije, određivanjem radikalskih vrsta odgovornih za razgradnju. Vodeću ulogu u razgradnji imatiniba i krizotiniba pokazali su hidroksilni radikali i singletni kisik. U sljedećim eksperimentima pokazana je važnost provođenja fotokatalize u prisustvu raznih anorganskih i organskih tvari kao sastavnica matice vode koji su većinski usporili razgradnju. Kao i svaki drugi proces razgradnje, fotokataliza imatiniba i krizotiniba također je bila

popraćena stvaranjem nusprodukata čije su strukture i putevi razgradnje predloženi korištenjem spektrometrije masa visokog razlučivanja. Potencijalna opasnost razgradnih produkata procijenjena je testom akutne toksičnosti prema morskoj bakteriji *Vibrio fischeri*, pri čemu je postignuta značajna inhibicija luminiscencije tijekom fotokatalitičke razgradnje krizotiniba u razdoblju od 90. do 180. minute. Kao fotokatalizator koristio se TiO_2 imobiliziran na staklene mrežice koji je olakšao samu provedbu eksperimenata pritom misleći na filtriranje uzoraka.

Ključne riječi: citostatici, imatinib, krizotinib, titanijev (IV) oksid (TiO_2), sorpcija, fotokataliza, razgradni produkti, toksičnost

ABSTRACT

The protection and conservation of water resource is a global challenge facing humanity today. In addition to conventional water treatment, advanced oxidation processes are also being developed to non-selectively and efficiently remove small organic molecules such as pharmaceuticals, whose presence in the environment is no longer surprising. Among the different classes of pharmaceuticals, anti-cancer drugs (cytostatics) have also found their way into the environment, mostly through wastewater, which requires attention due to their increased consumption and biological effects, even at low concentrations. In this work, two cytostatics, imatinib and crizotinib, were selected and their ability to be removed from water was tested by sorption and photocatalytic activity with TiO_2 photocatalysts. The prerequisite step of the photocatalytic process is the sorption of the tested component on the catalyst, so in the first series of experiments the sorption affinity of cytostatics to different forms of TiO_2 was investigated. In addition, based on the studied sorption affinity, the applicability of sorption as a simpler and less expensive method for the removal of imatinib and crizotinib or as a complementary method to some oxidation processes was tested. The nature of the sorption process was described by changing the initial concentration of the analyte, the pH value and the ionic strength of the solution, and by performing experiments at three different ambient temperatures and different sorbent dosages. The suitability of the linear, Freundlich, and Langmuir isotherm models for describing the sorption of cytostatics on the suspended and immobilized forms of TiO_2 was indicated by high values of the regression coefficient, R^2 . Both analytes showed an increasing trend in the sorption coefficient with increasing pH values in the range of 5 to 9, highlighting the greater mobility of imatinib in the case of immobilized TiO_2 . A positive correlation was also observed between temperature, sorbent mass and sorption coefficient, while the increase in ionic strength of crizotinib solution showed the opposite trend. The thermodynamics of sorption is described as a spontaneous process of physical nature that follows pseudo-second-order kinetics.

In the first step of the photocatalytic experiments, the initial concentration of the analyte and the pH of the solution, at which the cytostatic reaches the optimal degradation, were tested using response surface modelling (RSM). Under the conditions obtained (pH 5 and 5 mg/L), the mechanism of the photocatalytic reaction was studied by determining the main radical species involved in the degradation. Hydroxy radicals and singlet oxygen played the main role in the degradation of imatinib and crizotinib. The importance of performing photocatalysis in the presence of various organic and inorganic substances as common

components of the water matrix was also demonstrated, since most of them slow down the degradation. Like any other degradation process, photocatalysis of imatinib and crizotinib was accompanied by the formation of by-products, whose structures and degradation pathways were suggested by high-resolution mass spectrometry. The hazard potential of the degradation products was assessed by an acute toxicity assay with the marine bacterium *Vibrio fischeri*, with significant inhibition of luminescence during photocatalytic degradation of crizotinib over period of 90 to 180 minutes. TiO₂ immobilized on glass meshes was used as the photocatalyst, which facilitated the performance of the experiments by avoiding filtering of the samples.

Keywords: cytostatics, imatinib, crizotinib, titanium (IV) oxide, sorption, photocatalysis, degradation products, toxicity

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Farmaceutici u okolišu	3
2.1.1. Sudbina farmaceutika u okolišu	7
2.2. Lijekovi protiv raka – citostatici	9
2.2.1. Inhibitori tirozin kinaze.....	12
2.2.1.1. Imatinib	13
2.2.1.2. Krizotinib	13
2.3. Uklanjanje farmaceutika iz vode.....	14
2.3.1. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika	19
2.3.1.1. Titanijev (IV) oksid - TiO_2	22
2.3.1.2. Parametri koji utječu na kinetiku fotokatalitičke razgradnje	24
2.3.2. Sorpcija	27
2.3.2.1. Sorpcijske izoterme.....	30
2.3.2.2. Kinetika sorpcije	31
2.4. Identifikacija razgradnih i transformacijskih produkata u okolišu.....	32
2.5. Toksičnost	39
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	42
3.1. Materijali.....	42
3.1.1. Kemikalije i reagensi	42
3.1.2. Farmaceutici.....	43
3.1.3. Titanijev dioksid	43
3.1.4. Otpadna voda	46
3.2. Instrumenti	46
3.2.1. Tresilica.....	47
3.2.2. Fotokatalitički reaktor	47
3.2.3. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti s DAD detektorom	48
3.2.4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti vezan sa spektrometrom masa visoke razlučivosti.....	49
3.2.5. Luminometar.....	49
3.3. Metode rada	50
3.3.1. Priprema standardnih otopina farmaceutika.....	50
3.3.2. Određivanje sorpcije mućkanjem.....	51

3.3.3. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika	52
3.3.4. Analiza uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti.....	53
3.3.5. Identifikacija razgradnih produkata	53
3.3.6. Toksičnost	55
3.3.7. Ispitivanje stabilnosti krizotiniba – studija prisilne razgradnje.....	55
4. REZULTATI I RASPRAVA	57
4.1. Razvoj HPLC-DAD metode	57
4.2. Preliminarni eksperimenti	58
4.3. Sorpcija farmaceutika na TiO ₂	59
4.3.1. Određivanje kontaktnog vremena analit/sorbens	59
4.3.2. Kinetika sorpcije	62
4.3.3. Sorpcijske izoterme – utjecaj pH	65
4.3.4. Utjecaj ionske jakosti na sorpciju farmaceutika.....	69
4.3.5. Utjecaj mase TiO ₂	70
4.3.6. Termodinamika procesa sorpcije	71
4.3.7. Statistička analiza parametara koji utječu na sorpciju	72
4.4. Fotokatalitička razgradnja citostatika	73
4.4.1. Utjecaj pH i početne koncentracije citostatika na fotokatalitičku razgradnju.....	75
4.4.2. Utjecaj matice vode.....	79
4.4.2.1. Utjecaj nitrata na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika.....	80
4.4.2.2. Utjecaj hidrogenkarbonata na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika	82
4.4.2.3. Utjecaj fosfata i klorida na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika.....	84
4.4.2.4. Utjecaj huminskih kiselina na kinetiku razgradnje citostatika.....	87
4.4.2.5. Utjecaj realne matice vode.....	89
4.4.3. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje citostatika	93
4.4.4. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje citostatika.....	95
4.4.4.1. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje imatiniba.....	96
4.4.4.2. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje krizotiniba....	100
4.4.5. Procjena toksičnosti citostatika i njihovih razgradnih produkata.....	105
5. ZAKLJUČAK	108
6. LITERATURA.....	110
7. PRILOZI.....	135

1. UVOD

Farmaceutici su male i kompleksne molekule, biološki aktivne čija svakodnevna potrošnja u humanoj i veterinarskoj medicini povećava vjerojatnost njihove pojave ili opstanka u okolišu, bilo zbog nemogućnosti razgradnje ili kontinuiranog ispuštanja. Zbog svojih fizikalno-kemijskih karakteristika utječu na vodene ekosustave u koje dospijevaju kroz postrojenja za obradu otpadnih voda, bolničke vode, proizvodnju, nepropisno odlaganje, itd. Oni lipofilniji akumuliraju se u tlu i sedimentu dok će polarnije komponente završiti u podzemnim, površinskim ili čak pitkim vodama i biti izravno ili neizravno izloženi procesima fotolize i hidrolize pri čemu mogu nastati produkti, često toksičniji od polaznog spoja. Posljedično shvaćanju da se kvaliteta vode mora održavati, dugi niz godina razvijaju se napredni oksidacijski procesi (NOP) koji će uz konvencionalne metode obrade voda poput adsorpcije, membranskih tehnologija i sl., poslužiti za što bolje uklanjanje farmaceutika u okolišu. Fotokataliza se pokazala kao jedan od naprednih oksidacijskih procesa kojim se pomoću poluvodičkog materijala kao što je TiO_2 i neselektivnih hidroksilnih radikala uspješno eliminiraju razne vrste spojeva iz vode pa tako i farmaceutici koji u manjim ili većim koncentracijama utječu na ekosustav. Uz uobičajeno ispitivane klase farmaceutika poput antibiotika, predmet istraživanja postali su i citostatici. Iako i dalje prisutni u niskim koncentracijama, ta činjenica nije ohrabrujuća s obzirom da njihovi dugoročni utjecaji na vodeni i kopneni okoliš nisu poznati.

Cilj doktorskog rada bio je odrediti fotokatalitičku razgradnju imatiniba i krizotiniba, inhibitora tirozin-kinaze koji su odabrani kao subjekt istraživanja zbog svoje predviđene otpornosti ka biorazgradnji i postojanosti u vodi, a njihova sudbina i ponašanje u okolišu do sad je još uvijek neistražena. S obzirom da aktivaciji katalizatora izvorom zračenja prethodi sorpcija analita na aktivna mjesta katalizatora, detaljno je istražena mogućnost TiO_2 u ulozi sorbenta za uklanjanje citostatika iz vodenog medija.

Opširnije, istraživanje je podijeljeno u nekoliko dijelova. Prvo su razvijene metode tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti vezane s detektorom s nizom dioda kako bi se imatinib i krizotinib mogli pouzdano detektirati i kvantificirati. Nadalje, sorpcijsko ponašanje citostatika na TiO_2 ispitano je kroz utjecaj početne koncentracije, pH, ionske jakosti otopine, temperature i mase sorbenta. Sljedećim eksperimentima praćena je fotokatalitička razgradnja citostatika primjenom TiO_2 imobiliziranog na staklene mrežice. Odredile su se vrijednosti početne koncentracije citostatika i pH-vrijednost otopine pri kojoj postižu najučinkovitiju razgradnju. Također, ispitan je i utjecaj matice vode na kinetiku fotokatalitičke razgradnje mijenjajući sastav nitrata, bikarbonata, fosfata, klorida i huminskih kiselina nakon čega se proveo dodatan eksperiment s otpadnom vodom kao realnim izvorom

farmaceutika u okolišu. Analizom uzoraka koristeći spektrometriju masa visoke razlučivosti, točnije Q-TOF instrumentom omogućena je identifikacija razgradnih produkata i predlaganje njihovih puteva razgradnje pri čemu su prethodno određene kisikove radikalske vrste koje sudjeluju u reakciji. Zadnji dio istraživanja uključivao je procjenu akutne toksičnosti nastale smjese citostatika i razgradnih produkata primjenom testnog organizma *Vibrio fischeri*. Zaključno, očekuje se da će opisano istraživanje doprinijeti postojećim spoznajama o razgradnji i upotpuniti sliku sudbine i postojanosti citostatika te olakšati njihovo uklanjanje iz vodenog okoliša uzimajući u obzir opisane procesne parametre.

2. TEORIJSKI DIO

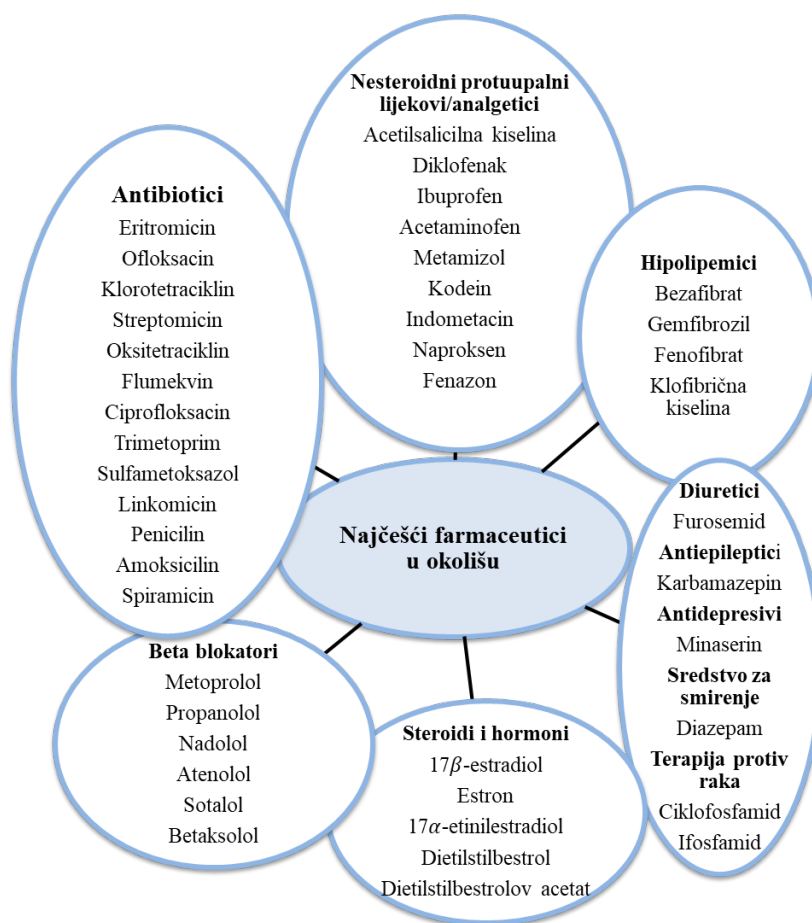
2.1. Farmaceutici u okolišu

Zadnjih nekoliko desetaka godina, sve veća pažnja usmjerena je na praćenje novih vrsta zagađivala koje utječu na vodeni i kopneni ekosustav te u konačnici na kvalitetu, svima nam za život neophodne vode. Pored pesticida, dezinfekcijskih nusprodukata, industrijskih kemikalija, proizvoda za osobnu njegu, mirisa, deterdženata, farmaceutici su također jedna od relevantnih klasa spojeva prepoznata kao izravna prijetnja okolišu [1-3]. Smatraju se novim zagađivalima¹ jer još uvijek nisu postavljeni zakonski okviri i potvrđene regulative za vode pa se farmaceutici i dalje kontinuirano i nekontrolirano (većina spojeva) unose u okoliš. Okarakterizirani su kao “pseudopostojani” jer se u okoliš ispuštaju većom brzinom nego što se razgrađuju [4-6]. U Europskoj Uniji odobreno je otprilike 3000 farmaceutski aktivnih spojeva koji su dizajnirani za sprječavanje i liječenje raznih bolesti, te za promicanje i održavanje kvalitete zdravlja ljudi i životinja [7-9]. To su uglavnom složene organske molekule malih masa (200 – 500 Da), različitih fizikalno-kemijskih karakteristika, kemijski stabilne, te lipofilne i umjereno topljive radi dobre bioraspoloživosti [10]. Najčešće se dijele prema terapijskoj namjeni i biološkoj aktivnosti i to na antibiotike za liječenje bakterijskih infekcija, antineoplastike za terapije protiv raka, analgetike za ublažavanje boli, antihelmintike kao antiparazitne lijekove, protuupalne lijekove, diuretike, antidepresive, narkotike, itd. Poznata je i podjela prema kemijskoj strukturi unutar određene vrste farmaceutika pa tako unutar skupine antibiotika razlikujemo peniciline, kinoline, cefalosporine, β -laktame, sulfonamide. Nešto rjeđa podjela odnosi se na način djelovanja (npr. antimetaboliti) pri čemu različite kemijske strukture spojeva rezultiraju različitim sudbinama u okolišu [4, 11].

S jedne strane svakodnevno olakšavaju i spašavaju milijune života, a s druge pak strane njihov direktan ili indirektan utjecaj pospješuje zagađenje vode, jedno od najvećih ekoloških prijetnji današnjice [5, 12, 13]. Od prvih otkrivanja u otpadnoj vodi 80-ih godina prošlog stoljeća pa sve do danas, farmaceutici predstavljaju analite od interesa raznih studija zbog neistraženih rizika na ekosustav [14, 15]. Neizostavni su primjer spojevi koji su uzrokovali bespovratne, negativne utjecaje na organizme u okolišu poput estrogena (etinilestradiola) koji je utjecao na reproduktivan sustav riba u moru, diklofenaka čija je neopravdana uporaba u terapiji stoke na indijskom potkontinentu dovela do naglog izumiranja supova koji su se

¹ eng. *emerging contaminants*

njime hranili, promoviranja rezistentnosti bakterija prema određenim vrstama antibiotika koji se neregulirano ispuštaju u okoliš, itd. Navedene katastrofe ukazuju na potrebu istraživanja farmakoloških utjecaja i sudbine farmaceutskih proizvoda u ekosustavu prije nego što nastanu posljedice koje se ne mogu ispraviti [15, 16]. Razvoj osjetljivijih analitičkih tehnika omogućio je identifikaciju velikog broja spojeva u mikrogramskim ili čak nanogramskim koncentracijama u postrojenjima za obradu otpadnih voda, podzemnim vodama, površinskim vodama poput mora, rijeka, jezera, te pitkim vodama [1, 17-20]. Oni lipofilniji pronađeni su kao dio matice tla i sedimenta [10]. Istraživačka grupa iz Njemačke objavila je da je prepoznato više od 600 farmaceutika kao zagađivala u svijetu [5]. Danas se moderno društvo susreće s pandemijama, trenutno aktivnim koronavirusom čija prisutnost iziskuje upotrebu lijekova u velikim količinama čije će izlučivanje ili nepropisno odlaganje loše djelovati po okoliš. To se vidi na primjeru antibiotika azitromicina čija je koncentracija u površinskim vodama tijekom pandemije porasla na 935 ng/L [21]. Najčešće pronađeni farmaceutici u okolišu predstavljeni su na **slici 1** dok su u **tablici 1** navedene detektirane koncentracije pojedinih farmaceutika u uzorcima vode i tla.

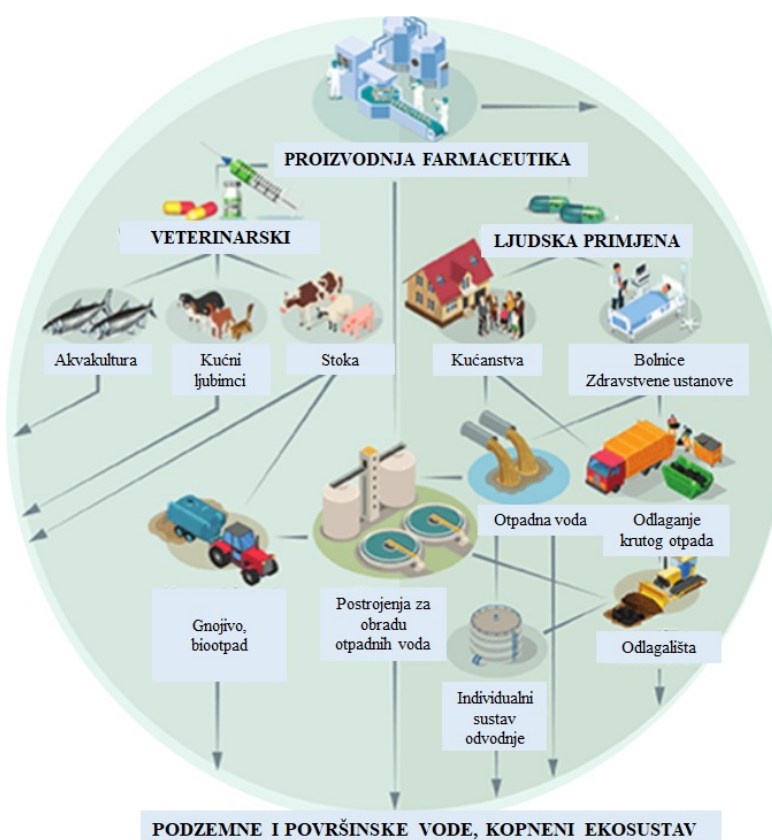


Slika 1. Najčešće pronađeni farmaceutici u okolišu [14]

Tablica 1. Detektirane koncentracije farmaceutika u vodi i tlu [22-26]

Farmaceutik	Koncentracija, ng/L (voda); ng/g (tlo)	Uzorak	Lokacija
acetaminofen	2,8	pitka voda	Japan
azitromicin	11,10 – 29,6 2,55 – 82,46	površinska voda površinska/podzemna voda	Portugal Italija
atenolol	8,70 1,07 – 483,94 2000 – 2894 1653 – 1852	podzemna voda površinska/podzemna voda otpadna voda (ulaz) otpadna voda (izlaz)	SAD Italija Španjolska
ciprofloksacin	46,68 2,86 – 7,00	površinska/podzemna voda površinska/podzemna voda	Kina Italija
diklofenak	<GD – 44,00 12,00 5,06 101 – 257	površinska/podzemna voda površinska/podzemna voda tlo tlo	Japan Portugal Španjolska Pakistan
eritromicin	14,34 – 26,40	površinska/podzemna voda	Kina
ibuprofen	<GD – 17,00 8 0,21 – 0,29	površinska voda pitka voda tlo	Japan Francuska Meksiko
kafein	15,2 – 743 11,38 – 38,41 1,15 – 65,92	površinska/podzemna voda površinska voda površinska/podzemna voda	Indija Mađarska Italija
karbamazepin	162,00 41,6 0,19 – 0,55 0,08 – 1,36	podzemna voda pitka voda tlo tlo	SAD Francuska SAD Španjolska
klaritromicin	<GD – 199,00 0,10 – 101,30	površinska/podzemna voda površinska/podzemna voda	Brazil Italija
naproksen	2,12 – 3,23	površinska/podzemna voda	Kina
paracetamol	10 – 30	podzemna voda	Kenija
sulfametoksazol	1,50 – 125,80 0,41 – 99,47 23,45 – 60,58 4	površinska voda površinska/podzemna voda površinska/podzemna voda pitka voda	Francuska Italija Kina Kanada
salicilna kiselina	38 792 – 57 533 94 – 110	otpadna voda (ulaz) otpadna voda (izlaz)	Španjolska
oksazepam	3 – 13	pitka voda	Nizozemska
trimetoprim	12,87 – 87,16 2 <GD – 60,1 0,12 – 0,26	površinska/podzemna voda pitka voda tlo tlo	Italija Francuska Malazija SAD
tetraciklin	1,9 – 17,4	tlo	Kina

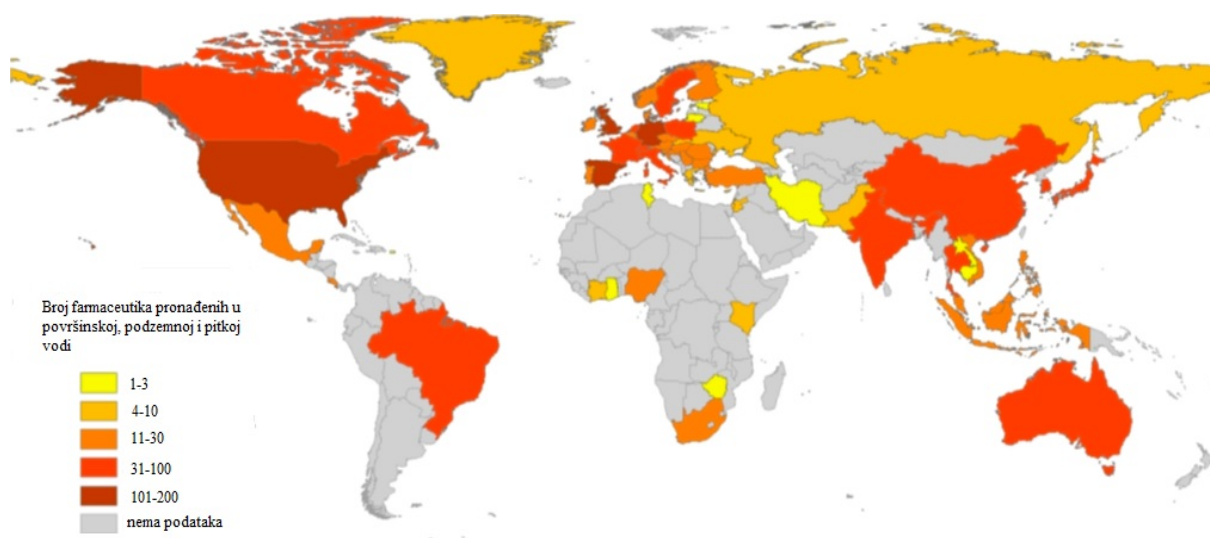
Konvencionalni uređaji za obradu otpadnih voda predstavljaju glavni izvor ulaska farmaceutika u okoliš pošto su se pokazali neučinkovitim za veliki broj spojeva, kompleksnih struktura i niskih koncentracija u vodi [4, 16, 27-29]. Ta činjenica nije ništa čudna s obzirom da UN procjenjuje da se na godišnjoj razini proizvedu ogromne količine otpadne vode, šest puta veće od svih rijeka svijeta i da oko 2,5 milijarde ljudi na svijetu nema adekvatne sanitarne uvjete [13]. Nepropisno odlaganje lijekova, bolnice, farmaceutska industrija, korištenje veterinarskih farmaceutika na farmama također čine uobičajene izvore navedenih spojeva u okolišu [6, 14]. Na **slici 2** prikazani su putevi ulaska farmaceutika u okoliš.



Slika 2. Putevi ulaska farmaceutika u ekosustav [30]

Kroz modernizaciju tehnologije i napredak znanosti uslijed potreba stanovništva, kvaliteta življenja promovira se povećanom proizvodnjom lijekova koja također predstavlja jedan od načina kojim aktivne tvari dospijevaju u okoliš [1, 5, 31]. Uz prijavu od oko 4000 farmaceutski aktivnih tvari na svjetskom tržištu, logičan je porast potrošnje lijekova koji iznosi od 100 000 do 200 000 tona godišnje, ovisno o lokalitetu [18]. Od 2017. godine

svjetsko tržište lijekova postiže prihode veće od 1143 milijardi američkih dolara s godišnjom stopom porasta od 5,8 %, pri čemu prednjači Sjeverna Amerika zbog najrazvijenije farmaceutske industrije [1]. Što se tiče Europe, Švicarska proizvodi najviše lijekova i to u vrijednosti od 32 380 milijuna eura [32]. Sukladno navedenim činjenicama, na **slici 3** prikazana su područja i broj detektiranih farmaceutika u vodama, obuhvaćajući sve kontinente.



Slika 3. Rasprostranjenost farmaceutika u različitim izvorima vode diljem svijeta [5]

Kako bi što dulje postojale dovoljne zalihe pitkih voda, nužno je te iste površinske vode zaštititi od zagađenja, golim okom nevidljivim zagađivačima. S tim ciljem Europska Unija donijela je Okvirnu direktivu o vodama² koja je od izmjene, 2008. godine predstavila listu od 33, a 2013. od 45 tvari ili klase spojeva definiranih kao prioritetne opasne tvari koje zahtijevaju dodatnu pozornost bilo zbog visoke frekvencije pojavljivanja u okolišu ili očekivanog rizika po ljudsko zdravlje i okoliš [33, 34]. Direktivom iz 2013. godine [35] predložena je takozvana lista tvari³ koja navodi tvari koje zahtijevaju privremeno praćenje zbog procjene potencijalnog rizika za okoliš. Cjeloviti popis, usvojen 2015. godine [36] uključivao je deset tvari ili skupina tvari, odnosno 17 zagađivala koji izazivaju zabrinutost: dva hormona, estrogen, nesteroidni protuupalni lijek diklofenak, tri makrolidna antibiotika, antioksidans, UV-filter, šest pesticida te dva herbicida [13]. Popis prioritetnih tvari koje se

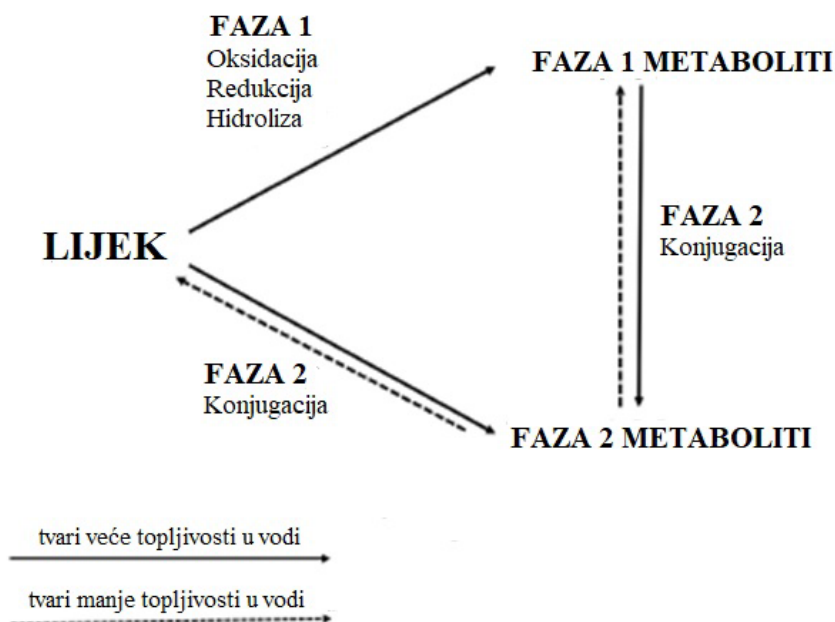
² eng. *Water Framework Directive*

³ eng. *Watch list*

prate na razini Europske unije ažurira se svake dvije godine pa je Komisija nakon prve izmjene 2018. godine i naknadno 2020. godine, na temelju prikupljenih podataka donijela odluku da lista iz 2022. godine i dalje sadrži šest tvari ili skupina tvari (sulfametoksazol, trimetoprim, venlafaksin i metabolit O-demetilvenlafaksin, deset azolnih spojeva, sedam pesticida i dva fungicida) uz još dodatno uvršten fungicid, herbicid i insekticid, dva antibiotika (ofloksacin i klindamicin), metformin i njegov metabolit guanilurea te tri tvari za zaštitu od sunca [37, 38].

2.1.1. Sudbina farmaceutika u okolišu

Nakon primjene, lijek prolazi kroz metaboličke procese u organizmu prema **slici 4**. Većina njih ne metabolizira u potpunosti pa se često izlučuju kao smjesa aktivne tvari i metabolita koji nerijetko može biti polarniji i toksičniji u odnosu na početni spoj [5, 39]. Neke studije pokazale su da je koncentracija metabolita pronađena u okolišu veća od početnog spoja kao na primjer u slučaju ibuprofena i njegova dva metabolita, hidroksi-ibuprofena te karboksi-ibuprofena, detektiranih u uzorcima morske vode iz Norveške [40].



Slika 4. Metabolički put lijeka u ljudskom tijelu [5]

Jednom prisutni u okolišu, farmaceutici i odgovarajući metaboliti bit će izloženi raznim biotičkim ili abiotičkim procesima poput biorazgradnje, fotolize, hidrolize, sorpcije, pri čemu navedeni procesi mogu biti uzrok smanjenja njihove koncentracije, ali i istovremenog nastanka razgradnih i transformacijskih produkata koji su nerijetko po svojoj prirodi topljiviji i polarniji od analita [41, 42]. Cijepanjem molekule koja se razgrađuje nastaju razgradni produkti s drugačijom molekulskom masom dok kod transformacijskih produkata, promjenom u strukturama početne molekule tvari masa ostaje ista. Sklonost spojeva prema razgradnji ili sorpciji, uvjetovana je njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima (koeficijent razdiobe oktanol/voda, K_{ov} , koeficijent razdiobe, K_d , konstanta ionizacije, K_k , koeficijent sorpcije na organski ugljik, K_{oc}) [43]. Primjerice, za očekivati je da će acetilsalicilna kiselina, ibuprofen, diklofenak, bezafibrat kao kiseli farmaceutici ($pK_k < 4,9$) pri neutralnom pH medija vjerojatnije završiti u vodi dok veći afinitet za sorpciju pokazuju bazični farmaceutici poput fluorokinolona, tetraciklina, i sl. [14, 44]. Nastanak razgradnih i transformacijskih produkata ovisit će i o njihovoj molekulskoj strukturi, uobičajeno sastavljenoj od heteroatoma, aromatskih prstenova koji apsorbiraju Sunčevo zračenje i reagiraju s fotogeneriranim vrstama u vodama te tako podliježu procesima izravne i neizravne fotolize [45]. Pored svega navedenog, u obzir se trebaju uzeti i okolišni faktori poput pH medija, vrste tla, intenziteta zračenja, tipa matrice, itd. [46].

Iako pojava metabolita, razgradnih i transformacijskih produkata u okolišu nije strana, i dalje je veći broj studija usmjeren na samo praćenje farmaceutika što u daljnjim razmatranjima vezanim za očuvanje okoliša treba promijeniti jer su takvi spojevi po svojoj prirodi često toksičniji i postojaniji u usporedbi s glavnom komponentom [46]. Jedan takav primjer su razgradni i transformacijski produkti, karboksi-aciklovir i *N*-(4-karbamoil-2-imino-5-oksoimidazolidin)-formamido-*N*-metoksioktena kiselina, koji nastaju oksidacijom antivirusnog lijeka aciklovira tijekom procesa ozonizacije [47]. Europska medicinska agencija preporuča da se istraži utjecaj svakog novonastalog razgradnog i transformacijskog produkta čija koncentracija prelazi 10 % u odnosu na početni spoj [42]. Novija istraživanja vezana za sudbinu farmaceutika ili drugih vrsta mikrozagađivala u okolišu trebaju uključiti i ispitivanja sinergijskog ili antagonističkog učinka smjese spojeva čija će pojava i koncentracija ovisiti o geografskom položaju, klimatskim uvjetima te načinu obrade otpadnih voda [46, 48].

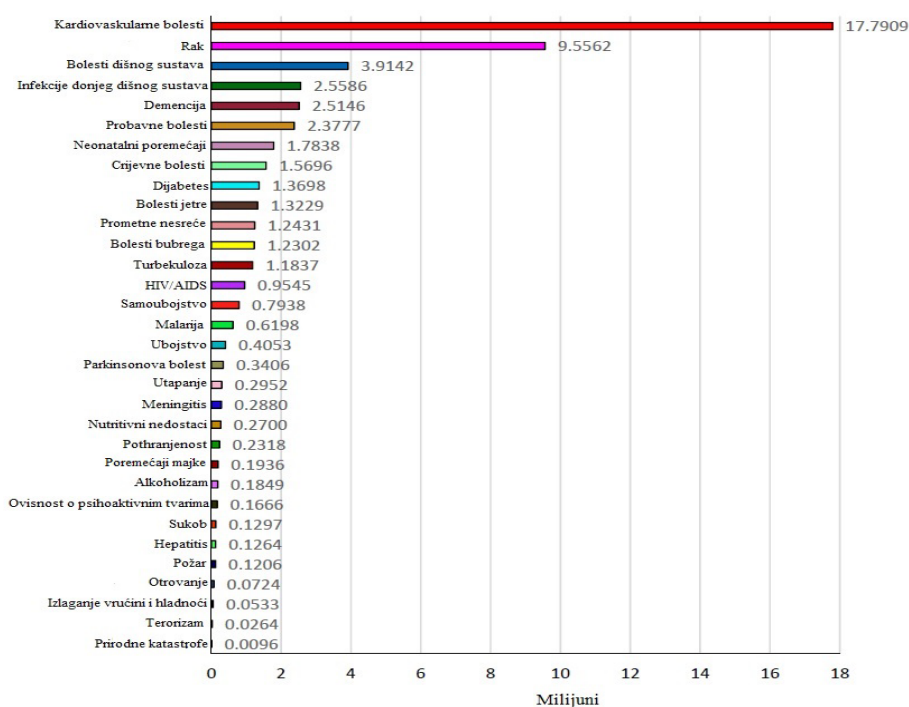
2.2. Lijekovi protiv raka – citostatici

Protutumorski farmaceutici ili citostatici čine grupu prirodnih i sintetskih farmaceutika koji se koriste za liječenje tumorskih bolesti tako da svojim toksičnim djelovanjem napadaju i sprječavaju rapidno dijeljenje i rast tumorskih stanica. Klasificiraju se prema terapijskoj i farmakološkoj namjeni te kemijskim karakteristikama u dvije skupine, na antineoplastike i endokrinu terapiju (hormoni, antihormoni). Citostatici se dijele na alkilirajuća sredstva, antimetabolite, biljne alkaloidne i druge prirodne proizvode, citotoksične antibiotike te druge antineoplastike [19, 49]. Primjeri navedenih spojeva prikazani su u **tablici 2**. Liječenje raka danas uključuje operacijske zahvate, radioterapiju, imunoterapiju, kemoterapiju, a odobreno je više od stotinu kemoterapijskih lijekova od kojih se više od trideset svakodnevno primjenjuje u Europskoj uniji [50, 51]. Ponašanje ovakvih farmaceutika ovisi o vrsti i mehanizmu djelovanja, ali definitivno glavna i zajednička uloga im je direktno ili indirektno djelovanje na DNA stanice. Problem koji uzrokuje navedena klasa tvari je taj da napadajući stanice raka, istovremeno napadaju i zdrave stanice čime izazivaju niz neželjenih posljedica [50, 52]. Pored uobičajeno ispitivanih klasa farmaceutika poput antibiotika [53-57], lijekovi koji se koriste u terapiji raka također su sve češća tema istraživanja. Razlog tome je porast proizvodnje i potrošnje takvih spojeva zbog sve veće incidencije bolesti; rak je drugi vodeći uzrok smrti u svijetu (21,7 %) nakon kardiovaskularnih bolesti (46,2 %) (**slika 5**) [51, 58, 59]. U 2008. godini zbog raka je umrlo 7,6 milijuna ljudi dok se za 2030. godinu predviđa porast brojke na 13,1 milijuna [49].

Neke tvari pokazale su kancerogeno, teratogeno, mutageno i/ili toksično djelovanje, stoga citostatici predstavljaju potencijalnu prijetnju vodenom i kopnenom ekosustavu [19, 60-62]. Dugoročno izlaganje okoliša takvim spojevima čak i pri nižim koncentracijama može uzrokovati štetne učinke na zdravlje živih bića, bez obzira što se pripisuju u manjoj mjeri te teže detektiraju u okolišnim uzorcima u usporedbi s drugim skupinama farmaceutika poput antibiotika i nesteroidnih protuupalnih lijekova [52, 60]. Ponekad se istovremeno više citostatika pripisuje za učinkovitu terapiju [60] pa se ne isključuju i takozvani “koktel učinci” smjese spomenutih spojeva koji mogu uzrokovati ozbiljnije ekotoksikološke probleme, u odnosu na pojedinačnu tvar [63].

Tablica 2. Klasifikacija protutumorskih farmaceutika [49]

Protutumorski farmaceutici (antineoplastici)	Podvrsta	Primjer lijeka
<i>Alkilirajući agensi</i>	analozi dušičnog iperita	ciklofosamid, ifosamid
	alkil sulfonati	busulfan
	etilen imini	tiotepa
	epoksidi	etoglucid
	ostali	mitobronitol
<i>Antimetaboliti</i>	analozi folne kiseline	metotreksat
	analozi purina	merkaptopurin
	analozi primidina	fluoruracil
<i>Biljni alkaloid i ostali produkti prirodnog porijekla</i>	vinca alkaloid	vinblastin
	derivati podofilotoksina	etopozid
	taksani	paklitaksel
	ostali	trabektedin
<i>Citotoksični antibiotici</i>	aktinomicini	daktinomicin
	antraciklini	doksorubicin
	ostali	bleomicin
<i>Ostali antineoplastični agensi</i>	spojevi platine	cisplatin, karboplatin
	metilhidrazini	prokarbazin
	inhibitori protein kinaze	imatinib, gefitinib
	ostali	irinotekan



Slika 5. Uzroci smrti svjetske populacije u 2017. godini [1]

Kao i drugi farmaceutici, citostatiki u okoliš dospijevaju kao djelomično metabolizirani spojevi kroz izlučevine koje se ispuštaju u komunalne otpadne vode (izvanbolničko liječenje)

i bolničke otpadne vode [59, 64]. Njihova rasprostranjenost te sama koncentracija u okolišu ovisi o načinu primjene, vremenu i mjestu uzorkovanja, je li ono blizu bolnice, urbanog ili ruralnog područja, itd. [19]. Ciklofosfamid, ifosfamid, tamoksifen, metotreksat i fluorouracil koji se najviše konzumiraju u Europi, predstavljaju pet najproučavanijih citostatika u okolišu. Njihova prisutnost bilježi se u raznim izvorima vode, no zabrinjavajuće koncentracije detektirane su u bolničkim otpadnim vodama (čak do 687 000 ng/L za ciklofosfamid). Postoji niz spojeva kao imatinib, vinblastin, itd. koji se prate, a nisu uvijek detektirani u bolničkim otpadnim vodama što ne znači da nisu prisutni u tim vrstama otpadnih voda [65]. Približno je 7,5 % citostatika kvantificirano u bolničkom ispustu što znači da se ostatak izlučuje kroz sanitarne čvorove kućanstava i tako završavaju u komunalnim otpadnim vodama, odnosno u postrojenjima za pročišćavanje istih [66]. Primjeri detektiranih citostatika u vodenom okolišu navedeni su u **tablici 3**.

Sudbina ove skupine farmaceutika u okolišu također je uvjetovana njihovim fizikalno-kemijskim karakteristikama. Često su to polarne molekule ($\log K_{ov} < 3$), dobro topljive u vodi, prisutne pri pH relevantnima za okoliš (4 – 9) u ioniziranom obliku koje se uslijed povećane pokretljivosti vjerojatnije zadržavaju u vodenom mediju i lakše podliježu različitim procesima razgradnje tvoreći nove produkte koji čine još veću nepoznanicu prema okolišu [51, 59]. Primjerice, česta pojava ciklofosfamida s $\log K_{ov} = 0,63$ i ifosfamida $\log K_{ov} = 0,86$ u raznim maticama vode nije začuđujuća dok hidrofobnije komponente teže sorpciji na čvrstu fazu [64].

Tablica 3. Izmjerene koncentracije citostatika u otpadnim i površinskim vodama [59, 60, 66]

Naziv citostatika	Matica uzorka	Koncentracija, ng/L
bleomicin	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV izlaz površinska voda riječna voda	30 – 124000 15,8 8,5 5 – 13
ciklofosfamid	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz površinska voda	20 – 4500; 0,3 – 13000 0,19 – 300 2,2 – 10,1
cisplatin	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	38 - 250000 210 – 1200 230 – 430
daunorubicin	bolnička otpadna voda (efluent)	260 – 1350
doksorubicin	bolnička otpadna voda (efluent)	100 – 1350
erlotinib	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	2 – 5,5 3,5 – 8,1 3,3 – 3,8
ifosfamid	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	<2 – 10647 <0,3 – 13100 1,2 – 2900
irinotekan	bolnička otpadna voda (efluent)	9,2
karboplatin	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	220 – 65000 600 – 1600 300 – 1200
letrozol	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	0,20 – 2,38 0,28 – 0,8 0,27 – 0,6
metotreksat	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz	<2 – 4689 59 30
tamoksifen	bolnička otpadna voda (efluent) UPOV ulaz UPOV izlaz površinska voda	0,2 – 8,2 0,28 42 – 740 27 – 212
5-fluorouracil	bolnička otpadna voda (efluent) površinska voda	<5 – 124000 5 – 160

UPOV – uređaj za pročišćavanje otpadnih voda⁴

2.2.1. Inhibitori tirozin kinaze

Tirozin kinaze važna su skupina enzima protein kinaza koji reguliraju mnoge proteine i tako utječu na rast stanica, prijenos signala u stanicama, transkripciju, diferencijaciju, apoptozu te niz drugih biokemijskih procesa [60]. Mutacijom i prekomjernom ekspresijom navedenih

⁴ eng. wastewater treatment plant

enzima dolazi do malignih promjena na stanicama. Radi sprječavanja navedenog, sintetiziraju se farmaceutici poput imatiniba i krizotiniba, koji svojim selektivnim inhibitornim djelovanjem blokiraju onkogene promjene stanica [67].

2.2.1.1. Imatinib

Imatinib je inhibitor protein kinaze, prvi sintetiziran 1990-ih godina za liječenje mijeloične leukemije. Terapijski je dizajniran da selektivno inhibira abnormalno izražene timidin kinaze u stanicama raka [68]. Što se tiče farmakokinetičkih svojstava, nakon oralne primjene imatinib postiže dobru bioraspoloživost (veću od 90 %). Skoro u potpunosti metabolizira (25% u nepromijenjenom obliku). Vrijeme poluživota da se imatinib i njegov glavni metabolit, derivat *N*-desmetil eliminiraju iz organizma iznosi 18, odnosno 40 sati [69-71]. Također, zapažena je rezistentnost te blaga do umjerena toksičnost za imatinib [72]. Prema podacima potrošnje u Engleskoj, konzumiralo ga se oko 20,4 kg/godina u razdoblju od 2010. do 2012. godine. S obzirom da se pripisuje za kućnu upotrebu, pronađen je pri višim koncentracijama u ispustima komunalnih otpadnih voda u rasponu od 11 do 577 ng/L na ulazu postrojenja, dok su na izlazu pročišćivača izmjerene koncentracije 54 – 180 ng/L [59, 65, 68]. Zbog svojih fizikalno-kemijskih karakteristika (**tablica 15**) i otpora biorazgradnji, imatinib je okarakteriziran kao vrlo postojan spoj (BIOWIN 3 = 1,1206; BIOWIN 5 = -0,5364; BIOWIN 7 = -3,6976) koji predstavlja potencijalni rizik za zagađenje tla i vode [73].

2.2.1.2. Krizotinib

Pored raka dojki, rak pluća najčešći je rak kod ljudi s 2,21 milijuna procijenjenih smrtnih slučajeva u 2020. godini. Oko 80 – 85 % raka pluća odnosi se na rak pluća nemalih stanica (NSCLC) koji se najčešće liječi kemoterapijom [74, 75]. Obzirom na slabiju učinkovitost prve generacije inhibitora tirozin kinaza na EML4-ALK fuzijski protein (erlotinib, gefinitinib), sintetizirana je mala molekula krizotiniba kao lijek navedenog raka pluća. Krizotinib se kompetitivno veže na ATP ciljane kinaze, a pored navedenog djelovanja pokazuje aktivnost i prema receptoru faktora rasta hepatocita (HGFR) čije stanice s izrazito povećanom aktivacijom c-MET tirozin kinazom potiču rast tumora, angiogenezu,

metastaziranje. Odobren je od strane Američke agencije za hranu i lijekove⁵ 2011. godine pod imenom Xalkori, a od 2016. godine koristi se kod NSCLC pacijenata s ROS1-pozitivnim proto-onkogenim receptorom [76-78]. Krizotinib metabolizira u konjugirane spojeve laktama, glukoronida, sulfata, a primarno se izlučuje kroz jetru u postotku od 75 % [75]. Higroskopna je tvar, slabo topljiva u vodi, čija struktura sadrži jedan kiralni centar, *R* konfiguracije [79]. Na temelju BIOWIN vrijednosti (BIOWIN 3 = 1,0010, BIOWIN 5 = -0,4293, BIOWIN 7 = -0,3096) pretpostavlja se slična sudbina krizotiniba u okolišu kao i za imatinib. Odnosno, izračunatim modulima, manjim od 0,5 predviđa se njegova otpornost biorazgradnji i postojanost u vodenom okolišu [73] koja je prema dosadašnjem pregledu literature i dalje neistražena.

2.3. Uklanjanje farmaceutika iz vode

Prije ponovnog ispuštanja u okoliš, otpadna voda zahtijeva pročišćavanje od otpadnih tvari do zakonom propisanih granica emisija. Njihov sastav uključuje razne anorganske i organske tvari poput katalizatora, otapala, aditiva, intermedijera, farmaceutika, itd. Konvencionalna postrojenja za obradu otpadnih voda uključuju kombinaciju fizikalnih, kemijskih i bioloških procesa kroz nekoliko razina pročišćavanja. Odnosno, preliminarni, primarni, sekundarni i/ili tercijarni stupnjevi obrade vode uključuju procese koagulacije, flokulacije, filtracije, klorinacije, biološku obradu aktivnim muljem, aerobnu i anaerobnu razgradnju gljivicama i bakterijama [4, 27, 80]. Navedena postrojenja čine najveći izvor farmaceutika, a među njima i citostatika u vodi jer opisani konvencionalni tretmani obrade voda nisu učinkoviti za uklanjanje većine tako malih organskih molekula [16, 81]. U prilog tome ne ide informacija da većina citostatika ne postiže vrijednosti uklanjanja veće od 2 % zbog otpornosti na biorazgradnju [82]. U **tablici 4** navedeni su neki od primjera farmaceutika, pronađenih u ispustima prije i nakon obrade voda. Prethodno prikazana **tablica 3** također ukazuje na navedenu problematiku s obzirom da je većina citostatika pronađena u efluentima postrojenja. Postoji mogućnost da tijekom obrade, primijenjeni procesi transformiraju metabolite iz otpadnih voda nazad u početni spoj što objašnjava činjenicu da neki od farmaceutika postižu veće koncentracije nakon tretmana vode kao npr. u slučaju estradiola i 17 α -etinilestradiola [5].

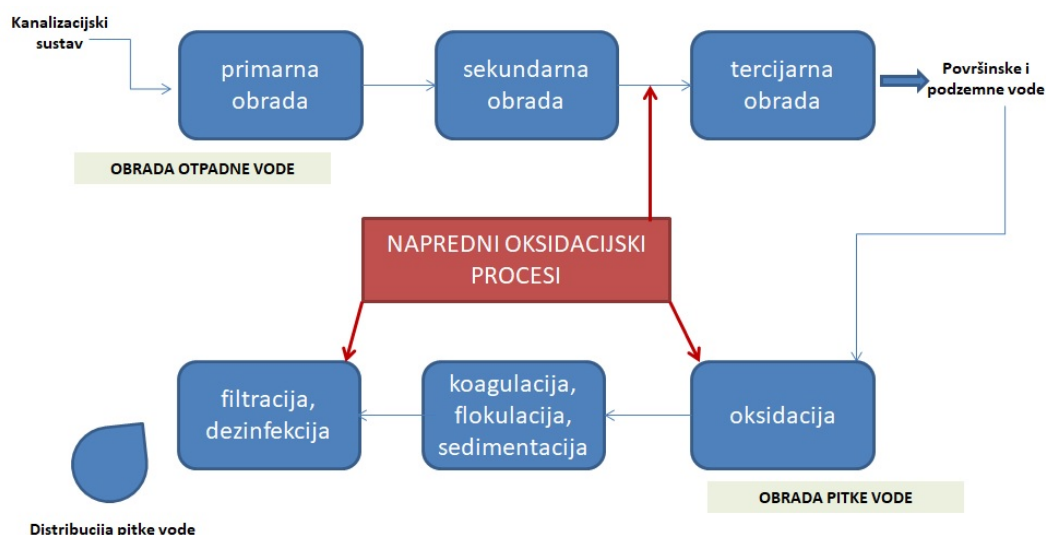
⁵ eng. Food and Drug Administration

Tablica 4. Farmaceutici detektirani u otpadnoj vodi prije i nakon obrade [4]

Farmaceutik	UPOV ulaz, ng/L	UPOV izlaz, ng/L
acetaminofen	10194	2102
atenolol	400	395
azitromicin	152	96
bezafibrat	23	10
diklofenak	250	215
karbamazepin	420	410
klofibrat	72	28
metronidazol	80	43
sulfametoksazol	590	390
propanolol	290	168
trimetoprim	1172	290

UPOV – uređaj za pročišćavanje otpadnih voda

Otpadne vode iz bolnica i farmaceutskih industrija možda bi se mogle tretirati i prije same obrade u postrojenjima ako im je sastav poznat i kontroliran, što nije slučaj za komunalne otpadne vode koje su izvor većine farmaceutika s obzirom na kućnu upotrebu [66, 83]. Jedan od načina uklanjanja mikrozagađivala iz vode su membranski procesi poput reverzne osmoze, nanofiltracije ili adsorpcija na aktivni ugljen, a kao potencijalni dio tercijarnog stupnja obrade vode istražuju se, i dalje većina na laboratorijskoj razini, napredni oksidacijski procesi⁶ (slika 6) [4, 81].

**Slika 6.** Primjena naprednih oksidacijskih procesa u obradi otpadne i pitke vode [84]⁶ eng. *advanced oxidation processes*, AOPs

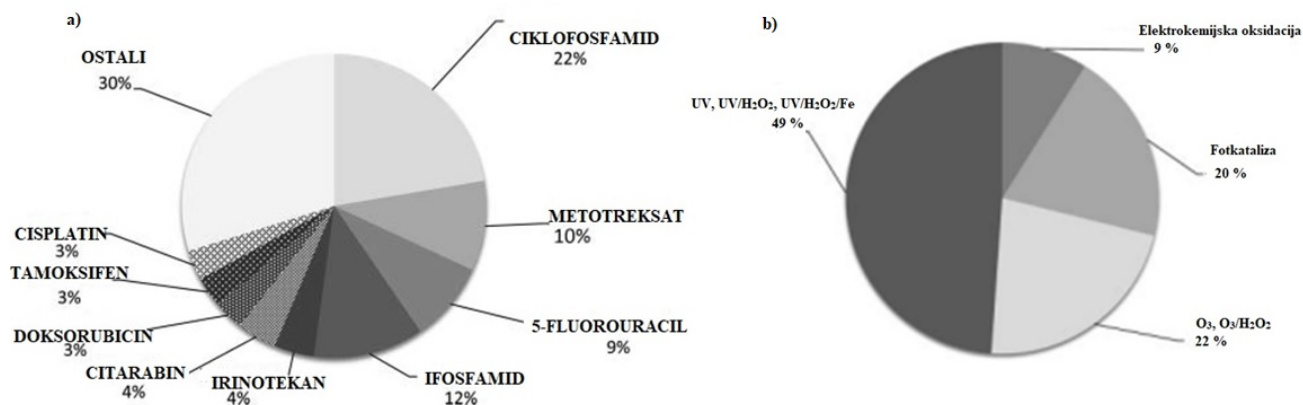
Napredni oksidacijski procesi predstavljaju metode za učinkovito uklanjanje raznih organskih molekula i patogenih mikroorganizama generirajući reaktivne kisikove vrste (ROS)⁷, najčešće hidroksilne radikale primjenom oksidacijskih sredstava kao što su vodikov peroksid i ozon, UV-Vis zračenja, katalizatora, i sl. Hidroksilni radikali kratkog su životnog vijeka s oksidacijskim potencijalom između 2,8 V i 1,95 V te konstantom brzine, $k = 10^8 - 10^{10}$ L/mol s. Reakcijama s organskim molekulama mogu tvoriti i manje stabilne radikalske vrste poput peroksilnog radikala (ROO[•]), singletnog kisika (¹O₂), superoksidnog aniona (O₂^{•-}) [85-87].

Tablica 5. Napredni oksidacijski procesi [88]

Procesi bez izvora zračenja	Procesi pod zračenjem
Ozon (O ₃)	Fotoliza (UV + H ₂ O ₂)
Fenton (Fe ²⁺ + H ₂ O ₂)	Fotokataliza (zračenje + katalizator)
Elektroliza	Foto-Fenton (Sunčevo zračenje + Fenton)
Sonoliza (ultrazvuk)	Mikrovalovi + O ₃

Napredni oksidacijski procesi uključuju tehnologije poput Fenton procesa, ozonizacije, elektrokemijske oksidacije, fotokatalize, fotolize (**tablica 5**). Prema nastanku hidroksilnih radikala, dijele se na fotokemijske, ne-fotokemijske te kombinirane procese. Dijele se i na homogene ili heterogene procese. Homogeni se odvijaju u jednoj fazi pri čemu su oksidansi poput ozona, peroksida i drugih odgovorni za nastanak radikala (O₃, O₃ + UV, O₃ + H₂O₂, O₃ + H₂O₂ + UV; Fenton procesi - Fe²⁺ + H₂O₂, Fe³⁺ + H₂O₂, sono-Fenton – ultrazvuk + H₂O₂ + Fe²⁺, foto-Fenton - H₂O₂ + Fe²⁺ + UV) dok heterogeni procesi uz vodenu fazu koriste čvrsti materijal kao katalizator (fotokataliza, fotoelektrokataliza, UV/H₂O₂/katalizator, itd.) [89].

⁷ eng. reactive oxygen species, ROS



Slika 7. Pregled literature (2005 – 2016); uobičajeno tretirani citostatici (a) i najčešće primijenjeni napredni oksidacijski procesi (b) [51]

Slika 7 prikazuje citostatike i napredne oksidacijske procese koji su najčešće bili tema obrade otpadnih voda u vremenskom razdoblju od 2005. do 2016. godine. Široka primjena naprednih oksidacijskih procesa dodatno je potkrijepljena primjerima farmaceutika prikazanim u **tablici 6**. Razgradnja farmaceutika potaknuta fotokemijskom reakcijom između molekule analita i izvora zračenja odnosi se na fotolizu koja se primjenjuje u dezinfekciji vode. Učinkovitost fotolize nerijetko se povećava dodatkom oksidansa u vodu koji uzrokuju nastanak većeg broja radikala [5, 90]. Primjerice, direktnom fotolizom razgrađeno je 6 – 12 % metronidazola dok je dodatak vodikovog peroksida promovirao razgradnju na 58 – 67 % [91]. Suprotno tome, postoji i mnogo farmaceutika koji su otporni prema uklanjanju fotolizom iz vode. 5-fluorouracil fotolitičkom razgradnjom postiže vrijeme poluživota od 56 ± 11 h, dok su ciklofosfamid i ifosfamid fotolitički stabilni citostatici [92, 93]. Procesi ozonizacije koriste elektrofilnu molekulu ozona koja kao jaki oksidans ima sposobnost djelovanja izravno i neizravno na nukleofilne organske molekule poput karbamazepina, diklofenaka, sulfametoksazola, dok su primjerice fluorokinolonski antibiotici, diazepam, venflaksacin rezistentni prema ozonu [5]. Ozonizacija je široko primjenjivana i za uklanjanje citostatika iz otpadnih voda, bolničkih otpadnih voda, pitkih voda. Uvjetovana pH-vrijednošću medija, može uzrokovati brzu razgradnju tvari poput cisplatina u dvije minute reakcije, ciklofosfamida u deset, i sl. [94, 95]. Fenton procesi temelje se na reakcijama oksidacije i redukcije Fe^{2+} te Fe^{3+} i H_2O_2 pri čemu nastaju hidroksilni radikali u kiselom mediju, a njihova limitirana učinkovitost (pH 2 – 4) povećava se primjenom UV zračenja te elektrokemijskim reakcijama [85, 89]. Governo i grupa znanstvenika [96] na primjeru 5-fluorouracila kao jednog od najpropisivanijih citostatika primijenili su Fenton i foto-Fenton

reakcije s postignutom mineralizacijom od 50 % nakon 8 sati, odnosno 67 % nakon 2 sata. Farmaceutici se mogu razgrađivati i elektrokemijskim reakcijama oksidacije na anodama od grafita, platine, TiO_2 , IrO_2 , PbO_2 , u prisutnosti odgovarajućeg elektrolita, kao što je NaCl [90]. Na primjeru citostatika kapecitabina pokazana je učinkovita mineralizacija oksidacijom na $\text{Ti/SnO}_2\text{-Sb/Ce-PbO}_2$ anodi [97]. Primjena sonolize odnosno ultrazvuka nešto je rjeđa u usporedbi s ostalim naprednim oksidacijskim procesima [90]. Na primjeru doksorubicina pokazano je kombinirano korištenje sonolize i ozonizacije radi bolje razgradnje [98].

Tablica 6. Primjena naprednih oksidacijskih procesa (NOP) za uklanjanje farmaceutika [22, 27, 89]

PROCES (NOP)	ANALIT	MATICA	UČINKOVITOST
foto-Fenton $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$	karbamazepin ibuprofen ciprofloksacin	komunalna otpadna voda	89,86 %; 100 % 80,14 – 100 % 100 %
foto-Fenton $\text{H}_2\text{O}_2 + (\text{Fe}(\text{NO}_3)_3)$	amoksisilin bezafibrat paracetamol	vodena otopina	62 % 98 % 98 %
ozonizacija + UZV	amoksisilin	vodena otopina	> 99 % (uz 575 kHz)
ozonizacija	bisfenol 17 β -estradiol, 17 α - etinil estradiol	vodena otopina	100 % (10 min)
ozonizacija	bezafibrat	vodena otopina	100 % (10 min)
ozonizacija	propanolol	ultračista voda	100 % (8 min)
ozonizacija	salicilna kiselina	deionizirana voda	95 % (pH 4)
sonoliza	ciprofloksacin	deionizirana voda	$t_{1/2} = 102$ min
sonoliza	prioksikam	ultračista voda	$k = 0,01157 - 0,1967 \text{ min}^{-1}$
sonoliza	oksacilin	destilirana voda	47,23 $\mu\text{mol/L}$ pri 275 kHz;
sonoliza	diklofenak	ultračista voda	$c = 30 \mu\text{M}$; pH 3; 861 kHz (60 min)
fotoliza	sulfametoksazol ibuprofen	deionizirana voda	$k = 0,9149 \text{ min}^{-1}$ (pH 3); $0,3558 \text{ min}^{-1}$ (pH 7,55) $k = 0,0043 \text{ min}^{-1}$ (pH 3); $0,0263 \text{ min}^{-1}$ (pH 7,55)
fotoliza	propanolol	ultračista voda	71 – 77 %
elektrokemijska oksidacija	diklofenak sulfametoksazol iopromid 17 α -etinil estradiol	deionizirana voda bolnička otpadna voda (postrojenje)	$I = 0,9 \text{ A}$, $c_0 = 0,5 \text{ mg/L}$, protok 500 L/h
sonoliza + sono – Fenton	ibuprofen	destilirana voda komunalna otpadna voda (efluent)	95 % pri 20 kHz

2.3.1. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika

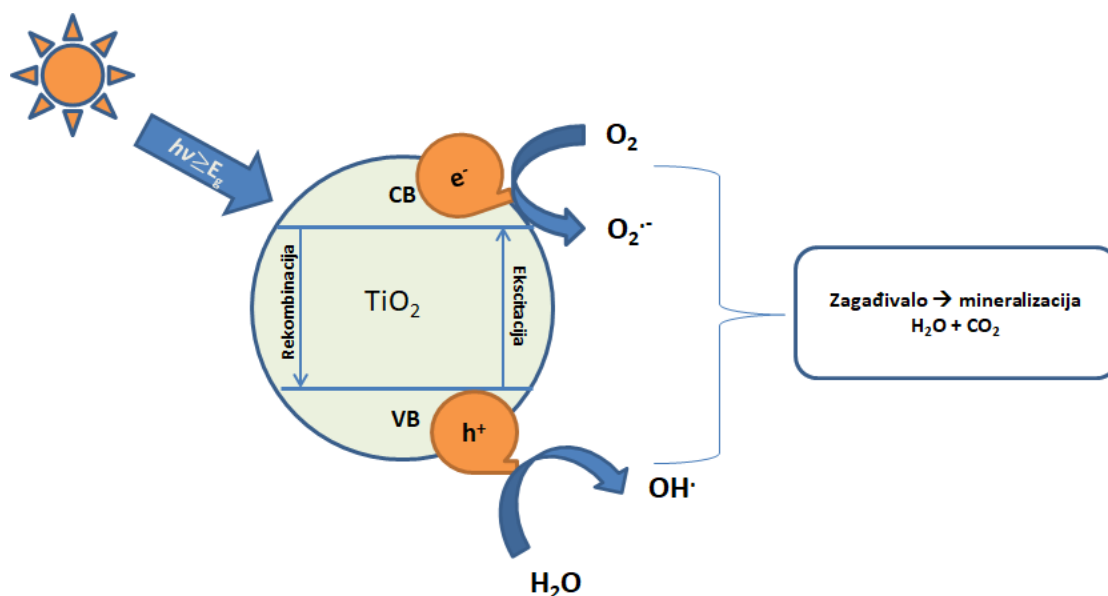
Jedan od naprednih oksidacijskih procesa koji je našao široku primjenu za uklanjanje raznih vrsta zagađivala iz raznih matica vode, je fotokataliza. Opsežno se primjenjuje radi optimiranja procesa, određivanja stupnja mineralizacije analita, identifikacije nastalih produkata različitim mehanizmima tijekom reakcije kako bi se u konačnici mogla procijeniti toksičnost i predvidjeti opasnost po okoliš [99]. Razne klase farmaceutika od antibiotika, analgetika, β -blokatora, citostatika itd. podliježu fotokatalitičkim reakcijama s visokim stupnjem razgradnje što je sumarno prikazano u **tablici 7**. Sama riječ fotokataliza jasno govori da se radi o procesu koji uključuje reakcije koje se odvijaju korištenjem katalizatora aktiviranog svjetlošću. Katalizatori su uglavnom poluvodički materijali koji apsorbiraju zračenje valne duljine jednake ili veće od energije zabranjene zone kako bi nastao par elektron-šupljina koji će daljnjim reakcijama stvarati radikalske vrste, odgovorne za razgradnju analita. S obzirom na agregatno stanje poluvodičkog materijala i reaktanta, razlikujemo homogenu i heterogenu fotokatalizu [104]. Katalizator mora biti fotoaktivan, biološki i kemijski inertan, fotostabilan, otporan na koroziju, pogodne morfologije i strukture, netoksičan te cjenovno prihvatljiv. Poluvodički materijali, navedenih karakteristika koji se uobičajeno primjenjuju u heterogenoj fotokatalizi su oksidi i sulfidi prijelaznih metala; TiO_2 , ZnO , SnO_2 , WO_3 , Fe_2O_3 , SrTiO_3 , ZnS , CdS [105, 106].

Tablica 7. Fotokatalitičko uklanjanje farmaceutika iz vode [27, 51, 100-103]

FARMACEUTIK	FOTOKATALITIČKI SUSTAV	MATICA	UČINKOVITOST
acetaminofen	UVA/ TiO_2 nanocjevčice	vodena otopina	46,47 – 67,73 % pri pH 3
diklofenak	UV/ TiO_2 suspenzija	vodena otopina	100 %
ibuprofen	UV-LED/ TiO_2 suspenzija	ultračista voda komunalna otpadna voda otpadna voda farmaceutске industrije	42 % 18% 9%
ciprofloksacin	UVA/ TiO_2 UVC/ ZnO imobiliziran na stakleni nosač	bolnička otpadna voda	86,57 %, 105 min 90,25 %, 90 min
metronidazol amoksisilin	UV/ TiO_2 suspenzija	vodena otopina	> 70 %
amoksisilin ampicilin kloksacilin	UV/ ZnO suspenzija	vodena otopina	100 % pri pH 11
karboplatin	UV/ TiO_2 suspenzija	vodena otopina	100 %

FARMACEUTIK	FOTOKATALITIČKI SUSTAV	MATICA	UČINKOVITOST
bezafibrat	simulator Sunčeva zračenja/TiO ₂ suspenzija	destilirana voda	100 % u 200 min
metotreksat	UVA/TiO ₂ suspenzija	Mili-Q voda	$t_{1/2} = 13,8$ min
venlafaksin	UVA/TiO ₂ suspenzija	ultračista voda	100 % u 20 min
karbamazepin	UVA/TiO ₂ nanovlakna	sintetska bolnička otpadna voda	78 %, 240 min
gemifibrozil	UVC/ TiO ₂ suspenzija	bolnička otpadna voda	95 %, 45 min
metotreksat doksorubicin	UVA/TiO ₂ suspenzija	deionizirana voda	100 %, 30 min
5-fluorouracil ciklofosfamid	UVC/TiO ₂ suspenzija	deionizirana voda	100 % 2 h; 4h
imatinib	UV-Vis/TiO ₂ suspenzija	ultračista voda	100 %, 240 min
sulfametoksazol	UV-Vis/TiO ₂ suspenzija	deionizirana voda morska voda	100% 91 %

Mehanizam heterogene fotokatalize prikazan je na **slici 8** na primjeru titanijeva dioksida kao najprimjenjivnijeg poluvodiča u fotokatalitičkim reakcijama farmaceutika.

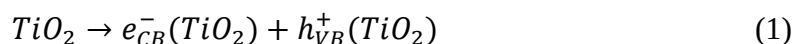


Slika 8. Mehanizam fotokatalitičke reakcije [107]

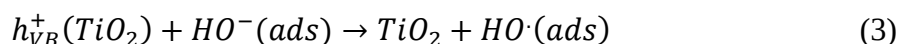
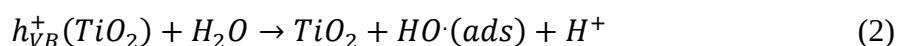
Reaktant iz otopine difundira kroz granični sloj do površine katalizatora na kojem se adsorbira fizikalnom sorpcijom ili kemisorpcijom. Navedeni korak ovisit će o fizikalno-kemijskim karakteristikama katalizatora i analita, pH te ionskoj jakosti otopine. Površina poluvodiča aktivira se apsorpcijom energije fotona jednakom ili većom od energije

zabranjene zone (E_g) pri čemu dolazi do pobude elektrona, e^- iz valentne u vodljivu vrpcu⁸. Nastali parovi elektron-šupljina podliježu reakcijama fotoredukcije i fotooksidacije s elektron-akceptorskim (kisik, voda), odnosno elektron-donorskim molekulama (voda). Vrijednosti oksidacijskog potencijala šupljine i elektrona nalaze se u intervalu od +1,0 do +3,5 V, odnosno od +0,5 do -1,5 V [108].

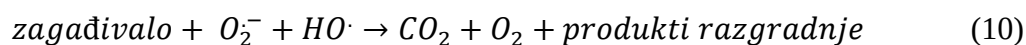
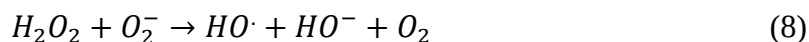
Iako se ne isključuju reakcije u samoj otopini, pretpostavlja se odvijanje fotokatalize uglavnom na površini fotokatalizatora ili u njenoj blizini zbog reaktivnosti nastalih radikala.



Nakon ekscitacije (1), nastali fotoinducirani parovi elektron-šupljina mogu se rekombinirati oslobađanjem topline ili bivaju zarobljeni na površini fotokatalizatora i sudjeluju u reakcijama nastajanja radikala. Hidroksilni radikali mogu nastati kao produkt reakcija šupljina s adsorbiranom vodom (2) ili s hidroksilnim ionom na površini katalizatora (3).



Molekularni kisik također može sudjelovati u prijenosu naboja i tvoriti superoksidne ione koji prema reakcijama (4) – (10) promoviraju nastanak primarnih oksidativnih vrsta, odnosno hidroksilnih radikala dok kisik pri većim koncentracijama može spriječiti rekombinaciju parova elektron-šupljina.



⁸ eng. valence band (VB), conduction band, (CB)

Zadnji stupanj fotokatalitičke reakcije uključuje proces desorpcije nastalih produkata s površine katalizatora radi obnavljanja aktivnih centara materijala [108-112].

Langmuir-Hinshelwoodova (L-H) kinetika koristi se za opisivanje interakcija na graničnom sloju između čvrste i tekuće faze prema jednadžbi:

$$r = \frac{-dC}{dt} = Kr \frac{Kc}{1+Kc} \quad (11)$$

Kr i K odnose se na prividne konstante brzine reakcije i adsorpcije, a c predstavlja početnu koncentraciju ispitivanog zagađivala. Pretpostavljajući da su koncentracija hidroksilnog radikala i poluvodiča i intenzitet zračenja konstantni, te da je početna koncentracija zagađivala niska, navedeni izraz se pojednostavljuje (jednadžba (12) i (13)) opisujući kinetiku razgradnje prividnom konstantom brzine reakcije pseudo-prvog reda, k_{app} .

$$-\frac{dC}{C} = KrKdt = k_{app}dt \quad (12)$$

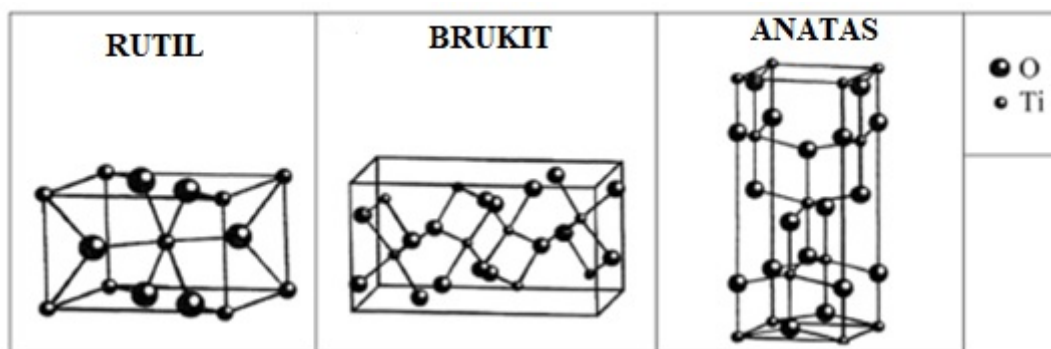
$$\ln \frac{C_0}{C} = k_{app}t \quad (13)$$

k_{app} određuje se iz nagiba linearnog odnosa $\ln \frac{C_0}{C}$ i vremena reakcije, t dok se vrijeme poluraspada izražava prema sljedećoj jednadžbi [113-115]:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{app}} \quad (14)$$

2.3.1.1. Titanijev (IV) oksid - TiO_2

Titanijev (IV) oksid ili titanijev dioksid primjenjuje se u raznim granama industrije. Poznat je pigment u proizvodnji keramike, kozmetike, boja, papira, farmaceutika, elektronike, dodaje se kao aditiv u hrani i kao UVA i UVB blokator u kremama za sunčanje. Prepoznat je i u dermatologiji kao antibakterijski i antigljivični agens, a biokompatibilnost navedenog materijala širi njegovu primjenu i na implantologiju [116]. TiO_2 je zbog svoje jednostavne izvedbe, dostupnosti, fotokatalitičke stabilnosti, neselektivnosti te netoksičnosti pronašao primjenu i u obradi voda i zraka u širokom rasponu koncentracija zagađivala (insekticidi, bojila, farmaceutici) [117, 118]. Postoji u tri kristalne modifikacije; stabilni rutil te metastabilni brukit i anatas koji se navedenim redoslijedom nalaze na **slici 9**.

Slika 9. TiO₂ polimorfi [119]

Tijekom fotokatalitičkih procesa koristi se smjesa rutila i anatasa, primjer Evonik Degussa P25, čime se postiže bolja izvedba i učinkovitost titanijeva dioksida zbog smanjenja rekombinacije elektron-šupljina. Kao nedostatak, ističe se ograničenje primjene na UV izvore zračenja emisije zračenja ispod 387 nm zbog velike energije zabranjene zone između valentne i vodljive vrpce ($E_g \sim 3,2$ eV). No, uslijed aktivacije UVA izvorima zračenja (400 – 315 nm) može se upotrijebiti i prirodno Sunčevo zračenje (5 % od cjelokupnog spektra) čime se smanjuje potrošnja energije i štetnost često primjenjivanih UVC izvora zračenja [120-122]. Dopiranjem materijala različitim metalima (Ag, Pt, Ni, Fe) i nemetalima (C, N, S) doskače se problemu rekombinacije elektrona i šupljina tijekom fotokatalitičke reakcije (redukcija E_g) te se olakšava sama izvedba procesa uporabom vidljivog dijela elektromagnetskog spektra zračenja [112, 123, 124]. Pored navedenih elemenata, proizvode se i različiti ugljikovi kompozitni materijali poput jednoslojnih i višeslojnih ugljikovih nanocijevi⁹ koji dodatkom u čisti TiO₂ povećavaju aktivnu površinu materijala te broj interakcija s organskim molekulama, pospješuju sorpcijska svojstva i apsorpciju zračenja pri većim valnim duljinama [125, 126]. Iako navedeni kompoziti imaju perspektivu u raznim granama znanosti i industrije, od fotoelektronike do pročišćavanja vode, njihova šira primjena je i dalje ograničena zbog velikih troškova proizvodnje ugljikovih nanocijevi [54, 127, 128]. Upotreba suspendiranog TiO₂ predstavlja drugi nedostatak gledano s ekološkog aspekta i potencijalne primjene na industrijskoj razini. Iako takav oblik katalizatora biva bolje ozračen te omogućava bolji prijenos mase, korištenjem TiO₂ suspenzije prevladavaju poteškoće pri separaciji praha i vode, nemogućnost ponovnog korištenja, te lakše raspršenje u okolišu [3, 121, 122, 129]. Jedan od načina rješavanja navedene problematike, a time i smanjenja

⁹ eng. carbon nanotubes, CNT

troškova izvedbe procesa je imobilizacija TiO_2 na krutoj fazi, primjerice staklenim mrežicama [121, 122, 125, 130-134]. U praksi, najviše se koristi sol-gel metoda za pripravu TiO_2 jer pruža mogućnost pripreme raznih mezoporoznih materijala direktno iz otopine pri niskim temperaturama sinteze, prevlačenje na raznim nosačima, homogenost prevlake, dostupnost prekursora i jednostavnost izvedbe. Pojednostavljeno, suspenzija sola iz otopine polimerizacijom prelazi u mrežastu gelastu strukturu tijekom sol-gel procesa, nakon čega se nastali materijal suši mikrovalovima ili u sušioniku [135, 136]. Primjer jednog tako pripremljenog fotokatalizatora je TiO_2 imobiliziran na staklene diskove sol-gel metodom radi uklanjanja antipirina koji je razgrađen nakon 120 minuta osvjetljavanja bez gubitka učinkovitosti fotokatalizatora tijekom deset ciklusa fotokatalize [137].

2.3.1.2. Parametri koji utječu na kinetiku fotokatalitičke razgradnje

Kako bi se odredila uspješnost fotokatalitičke razgradnje pojedine komponente ili njihove smjese potrebno je uzeti u obzir razne parametre procesa koji kontroliraju kinetiku razgradnje poput početne koncentracije analita, vrste i količine fotokatalizatora, pH otopine, intenziteta zračenja, utjecaj matice, konfiguracija fotoreaktora i sl. [138].

➤ *Fotokatalizator*

Odabirom samog fotokatalizatora već na samom početku može se izravno utjecati na učinkovitost procesa pa se tako koristi već spomenuti Evonik Degussa P25 TiO_2 s najvećim udjelom anatas faze koja posjeduje najbolja fotokatalitička svojstva (ovisno o proizvođaču omjer anatas i rutil faze kreće se od 80:20 do 70:30). Uz morfologiju, u obzir se uzima i količina katalizatora dostupna za reakciju koja se određuje za pojedini sustav. Uobičajeno se očekuje uspješnija razgradnja s porastom mase katalizatora (više radikala), no iznad optimalne vrijednosti raspršenje zračenja uzrokovano zamućenjem otopine, pojava aglomeracije nanočestica koje blokiraju i deaktiviraju aktivna mjesta na poluvodiču uzrokuju suprotan trend [139-141].

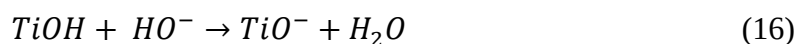
➤ *Izvor zračenja*

Važan dio fotokatalitičkog sustava čini izvor zračenja čiji intenzitet određuje tijek reakcije, ali ne i mehanizam. Njegovim porastom ubrzava se proces razgradnje

generiranjem veće količine fotona i samim time aktivacijom fotokatalizatora dok se primjenom previsokog intenziteta zračenja postiže negativan utjecaj na kinetiku razgradnje zbog promoviranja rekombinacije parova e^- i h^+ [107, 139].

➤ *pH*

Promjenom pH-vrijednosti vodene otopine utječe se na površinske karakteristike fotokatalizatora i ionsku prirodu organske molekule čija zajednička interakcija dalje određuje adsorpcijski kapacitet i nastanak hidroksilnih radikala. Površina fotokatalizatora s obzirom na izoelektričnu točku, koja se za TiO_2 obično nalazi u području pH-vrijednosti od 5,8 do 6,8, poprima pozitivan ili negativan naboj prema reakcijama (15) i (16).



Primjerice, deprotoniranje fotokatalizatora u alkalnom području može uzrokovati bolju fotokatalitičku razgradnju kao rezultat favorizirane sorpcije kationskih molekula. Nužno je pronaći optimalnu vrijednost pH pri kojoj neće doći do odbijanja naboja TiO_2 i farmaceutika ili pak zasićenja površine hidroksilnim radikalima koji se natječu s molekulama zagađivala za aktivna mjesta na fotokatalizatoru [141-145].

➤ *početna koncentracija zagađivala*

Kinetika razgradnje ovisi i o početnoj koncentraciji zagađivala u vodi koja uvjetuje duljinu ozračivanja fotokatalitičkog reaktora. Pri nižim koncentracijama, reakcijski sustavi uglavnom pokazuju ubrzanje razgradnje s porastom koncentracije farmaceutika dok s druge strane pretjerana koncentracija reaktanta (iznad optimalne) zasićuje i deaktivira učinkovitost TiO_2 te smanjuje ekscitaciju elektrona iz valentnog u vodljivi pojas uslijed smanjenog broja fotona koje primarno dopiru do molekule zagađivala, a ne katalizatora [55, 108, 143]. U **tablici 8** izdvojeni su neki primjeri utjecaja početne koncentracije farmaceutika na fotokatalizu.

Tablica 8. Utjecaj početne koncentracije zagađivala na fotokatalitičku razgradnju

Farmaceutik	Fotokatalitički sustav	Početna koncentracija, mg/L	Optimalni uvjeti, mg/L	Literatura
progesteron	UV/ZnO	20; 40; 80	80	[140]
ibuprofen	UV/ZnO	20; 40; 80	80	[140]
naproksen	UV/ZnO	10; 20; 40	40	[140]
sulfametoksazol	UV/TiO ₂	25; 50; 75; 100	25	[152]
amoksicilin	UV/TiO ₂	10; 30; 50	10	[153]
metronidazol	UV/TiO ₂ UV/ZnO	10; 30; 50; 70; 100	10 10	[154]
diklofenak	UV/TiO ₂ -SnO ₂	10; 15; 20; 25	20	[155]
atenolol	UVA/TiO ₂	5; 10; 20	5	[156]
ofloksacin	UVA/TiO ₂	5; 10; 20	10	[156]

➤ *utjecaj organskih tvari i anorganskih iona*

S obzirom da se već godinama istražuje za ekološku primjenu, fotokatalizu je nužno provoditi u raznim maticama vode u kojima su i detektirana zagađivala poput farmaceutika. Uobičajeno prisutne razne anorganske vrste u vodi mogu značajno utjecati na tijek fotokatalitičke reakcije. Štoviše, većina iona interferirat će s površinom TiO₂ te tvoriti manje reaktivne radikalske vrste u odnosu na hidroksilne radikale te tako smanjiti stopu razgradnje. Tvari u vodi mogu uzrokovati inhibitorni učinak i kao posljedicu apsorpcije primijenjenog zračenja [146, 147]. No, ti isti ioni ponekad i ubrzavaju ili jednostavno ne utječu na kinetiku razgradnje. Primjerice, kloridni i nitratni ioni nisu utjecali na UVC/TiO₂ razgradnju karbamazepina. Neke studije pokazale su ulogu nitrata kao promotora hidroksilnih radikala i oksidativne razgradnje [148]. Humusne tvari, sastavljene od huminskih i fulvinskih kiselina te humina, sudjeluju u ekološki važnim procesima kao dio površinskih i podzemnih voda te tla. Među njima, huminske kiseline (HA) glavni su predstavnici organskih otopljenih tvari u vodi pa je za očekivati da se njihov utjecaj kroz procese razgradnje i ispituje. Tijekom procesa kloriranja vode za piće, HA čine prekursore za nastanak mutagenih nusprodukata. Mogu apsorbirati Sunčevo zračenje te podlijegati fotokemijskim reakcijama tvoreći radikalske vrste poput hidroksilnih radikala, singletnog kisika i pobuditi se u tripletno stanje (³HA^{*}) koje ima važnu ulogu tijekom

indirektne razgradnje zagađivala u vodi. Ovisno o interakciji HA i izvora zračenja te fotosenzibilizaciji, mogu djelovati pozitivno ili negativno na uklanjanje farmaceutika iz okoliša [149-151]. Kompleksnost utjecaja matice vode na fotokatalitičku razgradnju farmaceutika sumiran je u **tablici 9**.

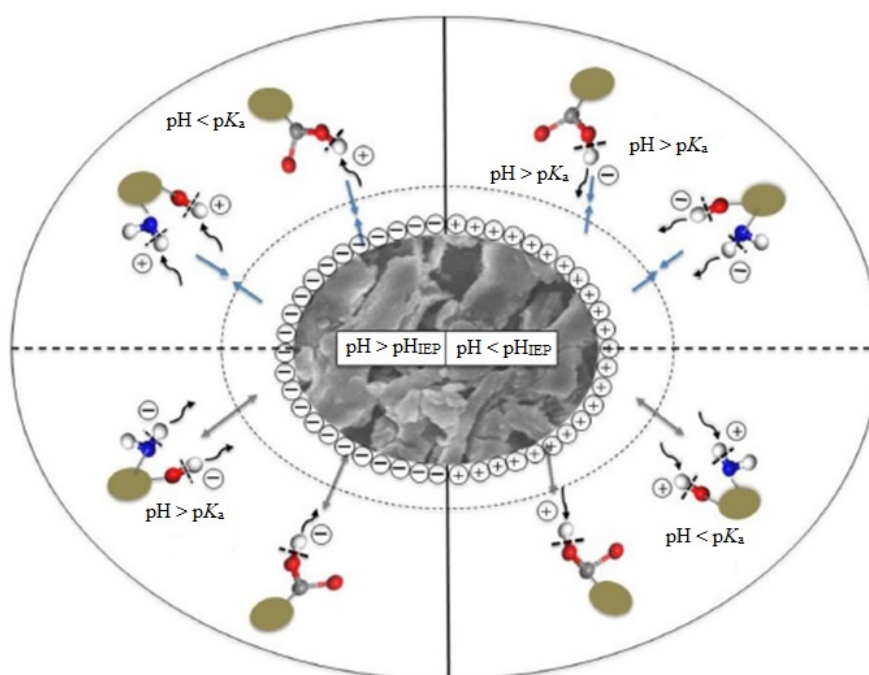
Tablica 9. Utjecaj matice vode na fotokatalitičku razgradnju farmaceutika

Farmaceutik	Fotokatalitički sustav	Matica vode	Utjecaj	Literatura
karbamazepin	UV/TiO ₂	HA	negativan	[148]
metronidazol	UV/TiO ₂	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HA glukoza	negativan pozitivan	[154]
acetaminofen	Vis/CeO ₂ /IK-C ₃ N ₄	SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , PO ₄ ³⁻ , NO ₃ ⁻	negativan	[157]
smjesa albuterol, atenolol, azitromicin, ciprofloksacin, diklofenak, eritromicin, furosemid, hidroklorotiazid, ofloksacin, propranolol	Sunčevo zračenje/TiO ₂	postrojenje za pročišćavanje gradskih otpadnih voda (efluent)	negativan	[158]
ciprofloksacin	UV-LED/TiO ₂	HCO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HA	negativan pozitivan pojedinačno, istovremeno negativan	[159]
sulfametoksazol	UV-LED/TiO ₂	HCO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HA	negativan pozitivan	[159]
venlafaksin	UV-LED/TiO ₂	HCO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HA	pozitivan nema utjecaja	[159]
desmetilvenlafaksin	UV-LED/TiO ₂	HCO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , HA	pozitivan nema utjecaja	[159]

2.3.2. Sorpcija

Sorpcija predstavlja proces raspodjele tvari između plinovite ili vodene i čvrste faze elektrostatskim, hidrofobnim interakcijama, kationskom izmjenom, kompleksiranjem, van der Waalsovom silama, vodikovim vezama, π - π vezanjem [160]. Vezanjem zagađivala na čvrstu fazu ili kompleksiranjem s ionima smanjuje se aktivnost spoja koji predstavlja prijetnju okolišu. Dakako, spojevi koji se eliminiraju iz okoliša navedenim procesom moraju pokazivati afinitet prema primijenjenom sorbensu. Uspješnost deaktivacije analita sorpcijom,

kao što je spomenuto, ovisit će o nizu čimbenika, od fizikalno-kemijskih svojstava tvari koja se sorbira (K_d , K_{oc} , K_{ov} , K_k) i sorbensa (priroda, poroznost, veličina pora) do pH medija, temperature okoline, ionske jakosti otopine, kontaktnog vremena, itd [43, 161-163]. Poznavanjem sorpcijskog kapaciteta pojedinog sustava sorbat/sorbens lakše se predviđa daljnja sudbina zagađivala kroz transport u okolišu ili pak obradu voda. Na primjeru ciprofloksacina primjećuje se složenost procesa, opisanog promjenom koeficijenta sorpcije u rasponu od 726,8 do 1277873,9 L/kg, ovisno o primijenjenom sorbentu, u ovom slučaju različitim vrstama tla [164].



Slika 10. Utjecaj pH-vrijednosti na sorpciju zagađivala [161]

Sorpcija lako pronalazi svoje mjesto u obradi voda zbog jednostavnosti izvedbe i dizajna, nižih operativnih troškova, otpornosti prema toksičnim tvarima, te možda kao najbitnija stavka, navedenim procesom neće paralelno nastati novi nusprodukti koji mogu biti nova prijetnja ekosustavu [22, 54, 57]. U primjeni su različite vrste prirodnih i sintetskih sorbensa. Navedeni materijali za uklanjanje raznih organskih spojeva iz vode uključuju poljoprivredni, industrijski i kućni otpad, aktivni ugljen, glinu, materijale na bazi ugljika, zeolite, TiO_2 , SiO_2 , ZnO , grafit, organske materijale poput huminskih kiselina, aktivni mulj koji ujedno i potiče

biorazgradnju komponente, itd. [27, 161, 162, 165]. Ugljikove nanocijevi su zbog prirode svoje strukture pokazale dobru prikladnost za sorpcijsko uklanjanje organskih molekula poput antibiotika kao što su linkomicin, sulfametoksazol i sulfapiridin [54, 166]. U **tablici 10** navedeni su primjeri nekih od njih ispitanih za uklanjanje farmaceutika sorpcijom. Među njima, kao najproučavaniji sorbens ističe se aktivni ugljen zbog površine dostupne za sorpciju [162] čija je uporaba ograničena zbog cijene i pada sorpcijskog kapaciteta tijekom regeneracije materijala [167, 168]. Time se naglašava potreba za proizvodnjom materijala (sorbensa) koji će imati sposobnost ponovnog korištenja što zbog ekonomičnosti daje veliku prednost izbora ovakve metode.

Tablica 10. Sorpcija kao metoda uklanjanja farmaceutika [5, 27, 57, 162, 165, 173]

Farmaceutik	Sorbens	Sorpcijski kapacitet, mg/g
amoksisicilin	aktivni ugljen	221,8
diklofenak	magnetit (γ -Fe ₂ O ₃)	261
	aktivni ugljen u prahu	0,11
	SiO ₂	0,5263
	aktivni ugljen u granulama	36,23
karbamazepin	višeslojne ugljikove nanocijevi	7910
sulfametoksazol	ugljikove nanocijevi	209 – 328
	aktivni ugljen	156 – 185
ciprofloksacin	piljevina	11,6
	aktivni ugljen	131,14; 335,8
	biougljen	37,6
	(rGO-TON) hidrogel	178,6
	GO-TiO ₂ P25	108,7
norfloksacin	ugljikove nanocijevi	51,1 – 75,3
	aktivni ugljen	106,5; 166,99
enrofloksacin	zeolit	19,3
tilozin	ugljikove nanocijevi	261; 466
	jednoslojne	
	višeslojne	77; 270
naproksen	aktivni ugljen u prahu	0,2174
cefdinir	TiO ₂	31,36
	SiO ₂	3,53
	TiO ₂ /SiO ₂	11,41
ibuprofen	tkanina od ugljičnih vlakana	491,9

Citostatici su po svojoj molekularnoj strukturi često polarne molekule (pr. doksorubicin, ifosfamid, ciklofosfamid s $\log K_{ov} < 1,5$) pa se pretpostavlja da sorpcija neće biti presudan

proces za njihovo uklanjanje iz vode [169]. Chen i suradnici [170] potvrdili su navedeno na primjeru tamoksifena koji se sorbirao najviše kao najhidrofobnija komponenta s $\log K_{ov}$ 6,30 u odnosu na ispitane citostatike irinotekan ($\log K_{ov} = 3,73$) i ciklofosfamid ($\log K_{ov} = 0,63$). Razmatrajući mehanizam heterogene fotokatalize, prvi, bitan korak koji uvjetuje tijek razgradnje je sorpcija zagađivala na fotokatalizator, nakon koje dolazi do razgradnje tvari, potaknute zračenjem [116, 171]. Drugim dijelom procesa nastaju produkti koji mogu imati negativan učinak na tako tretiranu vodu pa se TiO_2 , do sad neizostavni materijal fotokatalitičkog sustava, može implementirati i u obradu voda u ulozi sorbenta, s naglaskom na mogućnost regeneracije [172]. Isto tako, ako ciljana komponenta pokaže afinitet prema katalizatoru, fotokataliza može pokazati bolju učinkovitost kao odabrana metoda uklanjanja te tvari. Iako su navedene prednosti procesa praktične za primjenu u obradi voda, pojavom rezistencije sorpcija ne pokazuje uvijek dobru učinkovitost uklanjanja kao napredni oksidacijski procesi poput fotokatalize [152]. Stoga, kombinacijom sorpcije i drugih procesa kao što su fotokataliza, ozonizacija, membranski procesi, moguće je postići još bolje uklanjanje sada šireg spektra farmaceutika iz vode u više koraka u usporedbi s klasičnim tretmanima [54].

2.3.2.1. Sorpcijske izoterme

Sorpcijskim izotermama predviđa se i opisuje mehanizam i priroda procesa između tvari koja se sorbira, sorbata i sorbenta. Linearna izoterma najjednostavniji je model izoterme. Njome se eksperimentalno određuje koeficijent raspodjele K_d koji predstavlja omjer ravnotežne količine sorbiranog analita po masi sorbenta (q_e , mg/g) i ravnotežne koncentracije analita u otopini (C_e , mg/L) prema jednadžbi [174]:

$$q_e = K_d \times C_e \quad (17)$$

Opisanim se koeficijentom pretpostavlja mjera i sklonost analita prema čvrstoj fazi, bilo da se radilo o tlu ili sedimentu, ili sorbensu korištenom za obradu voda.

Sorpcijske izoterme prikazuju se grafički ili u obliku jednadžbe. Najčešće su dobivale imena prema svojim autorima, a razlikujemo modele empirijskog i teorijskog podrijetla. Jedan od često korištenih empirijskih modela je Langmuirova izoterma koja opisuje sorpciju kao homogen proces u jednom sloju s ograničenim brojem aktivnih mjesta, isključujući interakcije između sorbiranih molekula. Linearni oblik izoterme dan je jednadžbom (18):

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \left(\frac{1}{q_m K_L}\right) \frac{1}{C_e} \quad (18)$$

pri čemu q_m (mg/g) i K_L (L/mg) predstavljaju maksimalni sorpcijski kapacitet i konstantu ravnoteže koja povezuje energiju sorpcije i afinitet između sorbensa i sorbata [175].

Druga primjenjivana vrsta eksperimentalno izvedene izoterme je Freundlichova izoterma prikazana jednadžbom (19), u linearnom obliku. Model odgovara za opisivanje heterogenog procesa koji se odvija u više slojeva pri čemu se sorpcija odvija na mjestima s najvećom energijom vezanja [175, 176].

$$q_e = K_F \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (19)$$

K_F , Freundlichova konstanta ukazuje na relativni sorpcijski kapacitet sorbensa $((\mu\text{g/g})(\text{mL}/\mu\text{g})^{1/n})$, a $1/n$ heterogeni je parametar povezan s intenzitetom sorpcije. Brojčano se iskazuje u rasponu od 0 do 1 pri čemu vrijednosti iznad 1 ukazuju na kooperativnu sorpciju dok su vrijednosti niže od 1 uzrokovane kemisorpcijom [177, 178]. Dodatni modeli izoterme prikazani su u **tablici 11**.

Tablica 11. Sorpcijske izoterme [8, 175, 179, 180]

Izoterma	Jednadžba	Grafički prikazi
Dubinin-Raduskevich	$q_e = (q_m) \cdot \exp(-\beta \varepsilon^2)$	$\ln q_e$ vs. ε^2
Tempkin	$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln A_T C_e$	q_e vs. $\ln(C_e)$
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{K_R \cdot C_e}{1 + a_R \cdot C_e^g}$	$\ln(K_R \frac{C_e}{q_e} - 1)$ vs. $\ln(C_e)$
Flory-Huggins	$\frac{\theta}{C_0} = K_{FH}(1 - \theta)^{n_{FH}}$	$\log(\frac{\theta}{C_0})$ vs. $\log(1 - \theta)$

2.3.2.2. Kinetika sorpcije

Proces sorpcije može se podijeliti u nekoliko faza. Prva faza uključuje prijenos molekula sorbata do površine sorbensa. Druga faza uključuje površinsku difuziju koja je popraćena unutarčestičnom difuzijom kao trećom fazom. Sorpcija, bilo fizikalnim ili kemijskim

reakcijama na površini sorbensa čini posljednju fazu procesa [179, 181]. Za opisivanje kinetike sorpcije i faza procesa koriste se Lagergrenov pseudokinetički model prvog reda (20), Ho-ov pseudokinetički model drugog reda (21) te Weber i Morrisov model unutarčestične difuzije (22).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (20)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (21)$$

$$q_t = k_{id} t^{1/2} \quad (22)$$

q_t i q_e odgovaraju količini sorbiranog analita u vremenu (t) te u ravnotežnom stanju ($\mu\text{g/g}$), k_1 predstavlja konstantu brzine pseudo-prvog reda ($1/\text{min}$), k_2 konstantu brzine pseudo-drugog reda ($\mu\text{g/g min}$), a k_{id} je konstanta brzine unutarčestične difuzije ($\mu\text{g/g min}^{1/2}$) [179, 182-185].

2.4. Identifikacija razgradnih i transformacijskih produkata u okolišu

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu farmaceutika te njihovih razgradnih i transformacijskih produkata u okolišu nužno je korištenje osjetljivih analitičkih tehnika. To što takvi spojevi godinama nisu u okolišu otkrivani, ne znači da nisu bili prisutni, već su postojeće metode bile ograničene za njihovo određivanje. Razvojem kromatografskih i spektrometrijskih tehnika koje omogućavaju niže granice detekcije, povećao se i broj spojeva koji izazivaju zabrinutost u okolišu. Pored ograničenja analitičkih metoda, dodatni izazov predstavlja i veliki broj potencijalnih zagađivala i njihovih transformacijskih produkata (4700 u EU) te pojava smjese farmaceutika kao biološki aktivnih tvari čiji su utjecaji uz druge vrste zagađivala u okolišu nepoznanica [13, 186, 187]. Zbog uštede vremena i novca, cilj je razviti osjetljive, točne i pouzdane metode za istovremeno određivanje većeg broja analita koji pripadaju različitim klasama farmaceutika.

Ovisno o matici, prvi korak nakon uzorkovanja često uključuje pripremu uzorka i to ekstrakcijom čvrstom fazom (SPE)¹⁰ radi pročišćavanja ili koncentriranja analita. Nakon toga slijedi instrumentalna analiza pomoću koje se provodi separacija, detekcija i identifikacija prisutnih analita u uzorku. Plinska kromatografija ograničena je na hlapljive spojeve koji ne podliježu razgradnji pri visokim temperaturama i samoj pripremi uzorka derivatizacijom pa

¹⁰eng. *Solid-phase extraction*, SPE

se u većoj mjeri za separaciju farmaceutika i to polarnijih, koristi tekućinska kromatografija [5, 23]. Laboratoriji koji na dnevnoj bazi provode praćenje tvari i iscrpljujuć broj analiza, često LC¹¹ i HPLC¹² analize zamjenjuju s UHPLC¹³ tehnikama koje su unaprijeđene u smislu bolje osjetljivosti i kraćih trajanja analize korištenjem kromatografskih kolona, punjenih česticama manjim od 2 µm [23, 188]. Razne vrste detektora poput UV i fluorescentnog, kompatibilni su s tekućinskom kromatografijom, no kada se govori o detekciji farmaceutika, najviše se ističe spektrometrija masa (MS)¹⁴. Tekući uzorci prevode se u plinovito stanje, a među ionizacijskim tehnikama najprimjenjivnije su ionizacije pri atmosferskom tlaku, i to ionizacija elektroraspršenjem (ESI)¹⁵ [5, 189]. Nastali ioni razdvajaju se na temelju omjera mase i naboja m/z pomoću analizatora masa koji se dijele na MS detektore niskog razlučivanja (LRMS)¹⁶ i detektore visoke rezolucije (HRMS)¹⁷ koji zbog povećanja razlučivosti i točnosti masa razlikuju spojeve s istom nominalnom masom. Sukladno tome, LRMS instrumenti podrazumijevaju korištenje kvadrupola (Q)¹⁸ i analizatora masa s ionskom klopkom (IT)¹⁹ dok su HRMS instrumenti analizator mase koji mjeri vrijeme preleta (TOF)²⁰ te spektrometri masa uz Fourierovu transformaciju (orbitrap, ionska ciklotronska rezonancija) [23, 190].

Za bolji odabir masa te određivanje strukturi analiziranih komponenti potrebna je fragmentacija u nekoliko koraka pa se tako koristi spregnuta spektrometrija masa (**slika 11**) koja uključuje korištenje instrumenata sastavljenih od više analizatora masa [191]. Za potrebe kvantifikacije izvrsnu selektivnost i osjetljivost postiže trostruki kvadrupolni spektrometar masa (QqQ) kod kojeg Q1 i Q3 služe kao filtri masa, a q predstavlja kolizijsku ćeliju [23, 192, 193]. Primjerice, Cai i suradnici [194] razvili su SPE-HPLC-QqQ metodu za simultano određivanje četrnaest farmaceutika, različitih klasa u uzorcima pitke vode. Takve analize primjenjuju nekoliko različitih načina rada kao što je praćenje jedne odabrane reakcije²¹, praćenje fragmentnih iona²² te praćenje neutralnog gubitka²³ [190]. Ukoliko ne postoji

¹¹eng. *liquid chromatography*

¹²eng. *high-performance liquid chromatography*

¹³eng. *ultra-high-performance liquid chromatography*

¹⁴eng. *Mass spectrometry*

¹⁵eng. *electrospray ionization, ESI*

¹⁶eng. *low-resolution mass spectrometer, LRMS*

¹⁷eng. *high resolution mass spectrometer, HRMS*

¹⁸eng. *Quadropole, Q*

¹⁹eng. *Ion Trap Analyser, IT*

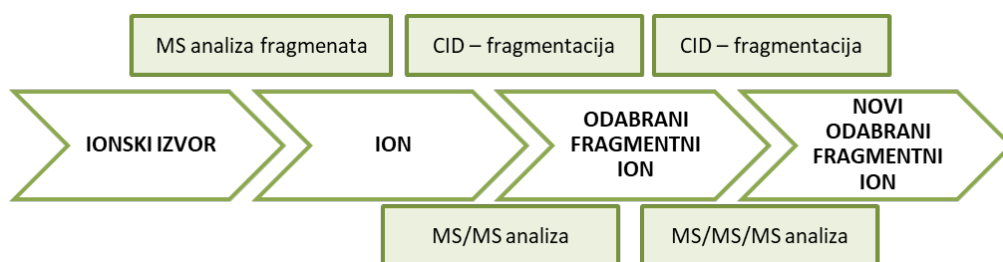
²⁰eng. *Time of flight, TOF*

²¹eng. *Single Reaction Monitoring, SRM*

²²eng. *Multiple Reaction Monitoring, MRM*

²³eng. *Neutral loss scan*

unutarnji standard potreban za potvrdu strukture, određivanje prisutnih spojeva u uzorku nije moguće provesti korištenjem Q ili QqQ zbog izostanka kvalitativnih informacija. U tu svrhu koriste se druge vrste hibridnih tehnika poput IT-MS analizatora masa s ionskom klopkom koji omogućava fragmentaciju u više koraka i Q-TOF²⁴ koji se pojednostavljeno opisuje kao QqQ kod kojeg je treći kvadrupol zamijenjen s TOF analizatorom koji prevladava njegove nedostatke vezane za rezoluciju i točnost masa te u konačnici selektivnost potrebnu za nedvosmisleni identifikaciju analita [192, 195, 196]. Kao potkrjepa navedenome može se navesti HPLC-QTOF metoda razvijena za analizu sto farmaceutika u uzorcima vode među kojima su neki od njih predstavljali izobarne i izomerne komponente koje su uspješno identificirane na temelju različitih vremena zadržavanja, točnosti masa HRMS instrumenta, MS/MS fragmenata i određivanjem izotopne raspodjele pojedinog analita [197].



Slika 11. Pojednostavljeni prikaz rada spregnute spektrometrije masa [198]

Primjenom HRMS instrumentacije koristi se nekoliko različitih pristupa i strategija za identifikaciju razgradnih i transformacijskih produkata. Ti pristupi dijele se na: “target”, “suspect screening” i “non-target” analize. Ciljana ili “target analiza” temelji se na određivanju već poznatih razgradnih i transformacijskih produkata uz dostupne standarde pri čemu se koriste postojeće LC-MS/MS metode. “Suspect screening” uključuje popis mogućih razgradnih i transformacijskih produkata sastavljen na temelju literaturnog pregleda ili raznih kompjuterskih alata; nemoguća je potvrda analita s referentnim standardom, ali molekulska formula i struktura predlažu se prema roditeljskom spoju i njegovim fragmentima. Kada za identifikaciju novih razgradnih i transformacijskih produkata izostaje dostupna literatura govori se o “non-target screeningu” [23, 186, 199]. S obzirom da se MS tehnikama ne dobivaju informacije o točnom položaju transformacije strukture ili izomerizaciji, neki

²⁴eng. *Quadrupole Time-of-Flight*

znanstvenici potvrđuju predložene strukture nastalih produkata razgradnje nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR) [186, 200-202]. To je spektroskopska metoda koja daje informacije o prostornom rasporedu atoma i obliku molekule (konformacija, stereokemija) mjerenjem apsorbirane radiofrekventne energije pri određenoj frekvenciji ^1H ili ^{13}C jezgre, postavljene u magnetsko polje [186, 203].

U **tablici 12** navode se dodatni primjeri kromatografskih analitičkih metoda korištenih za identifikaciju farmaceutika i njihovih razgradnih ili transformacijskih produkata nastalih različitim procesima razgradnje.

Tablica 12. Primjena analitičkih metoda za praćenje farmaceutika i njihovih produkata razgradnje te procjena toksičnosti

ANALIT	Razgradni proces	Identificirani razgradni/transformacijski produkti	Instrumentalna tehnika	Toksičnost	Literatura
amoksisilin	hidroliza	4	HPLC-QqTOF-MS		[186]
anastrozol	foto-Fenton	5	LC-QTOF	<i>in silico</i> (Q)SAR	[204]
azitromicin	fotoliza	7	UPLC/ESI-QqTOF-MS, UPLC/ESI-QqQ-MS	-	[199]
azitromicin	fotokataliza	5	HPLC-ESI-QqQ	<i>Vibrio fischeri</i> ; netoksičnost	[205]
benzotriazoli	ozonizacija	11	HPLC-QTOF, UV-Vis, HPLC-QqQ	-	[199]
bisfenol A	fotoliza fotokataliza	2 3	HPLC-UV LC-ESI-TOF-MS	-	[206]
ciprofloksacin	fotoliza	11	HPLC-LTQ-Orbitrap, HPLC-IT-MS ⁿ		[186]
diklofenak	biorazgradnja	3	UPLC-QqTOF-MS	netoksični prema <i>Vibrio fischeri</i>	[186]
doksorubicin	fotokataliza	14	HPLC-LTQ-Orbitrap	<i>Vibrio fischeri</i> ; 43 % inhibicije u 15. min	[61]
eritromicin	UV-LED/klor	6	UPLC-MS/MS, UPLC-QTOF-MS, GC-QTOF-MS	<i>Alivibrio fischeri</i> ; netoksičnost	[207]
febantel	hidroliza	2	UHPLC-ESI-QqQ, UHPLC-QTOF-MS	<i>Vibrio fischeri</i> ; EC50 (pH 4) = 0,005 – 0,018 mg/L	[208]

ANALIT	Razgradni proces	Identificirani razgradni/transformacijski produkti	Instrumentalna tehnika	Toksičnost	Literatura
imatinib	fotokataliza	11	HPLC-UV LC-HRMS ⁿ (ESI-LTQ ORBITRAP)	<i>Vibrio fischeri</i> ; 40,2 % u 60. min	[102]
irinotekan	fotoliza fotokataliza	19 32	HPLC-DAD SPE-LC-MS/MS, SPE-LC-TOF-MS	<i>Vibrio fischeri</i> ; smanjenje inhibicije nakon 60. min	[62]
karbamazepin	biorazgradnja	4	SPE-UPLC/ESI-QqToF HPLC/ESI-QqLIT	netoksični prema <i>Vibrio fischeri</i>	[186]
ketoprofen	UV zračenje	22	GC-IT-MS/MS, UPLC-QqTOF-MS ⁿ	-	[199]
klortrimazol	vakuum UV zračenje	7	HPLC-UV HPLC-LTQ-Orbitrap	bakterija <i>Aliivibrio fischeri</i> , kvasac <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BLYR, fitopatogena gljiva <i>Fusarium graminearum</i> , mikroalga <i>Raphidocelis subcapitata</i> , rak <i>Daphnia magna</i> .	[209]
kvinklorak	fotoliza, fotokataliza	14	HPLC-QTOF-MS/MS	-	[199]
metoklopramid	fotoliza	5	HPLC-ESI-MS/MS, NMR	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Vibrio fischeri</i> ; negativna genotoksičnost i akutna toksičnost	[210]
metotreksat	fotokataliza	8	HPLC-LTQ-Orbitrap	<i>Vibrio fischeri</i> ; 100 % inhibicija kroz 30 min	[61]
metronidazol	fotokataliza	15	HPLC-UV UPLC-QTOF	-	[211]

ANALIT	Razgradni proces	Identificirani razgradni/transformacijski produkti	Instrumentalna tehnika	Toksičnost	Literatura
oksazofosforini (ifosfamid, ciklofosfamid, trofosfamid)	fotokataliza	4	LC-ESI-ME/MS	<i>Vibrio fischeri</i> ; nakon 6 h reakcije, inhibicija jednaka nuli	[212]
penicilin G	biorazgradnja	2	HPLC-IT-MS	-	[186]
prazikvantel	fotoliza fotokataliza	5	HPLC-ESI-QqQ	-	[213]
sulfametoksazol	fotoliza	9	HPLC-TOF-MS	toksični prema <i>Daphnia magna</i>	[186]
sulfapiridin	fotoliza	7	HPLC-MS	toksičnost prema <i>Vibrio fischeri</i>	[186]
trimetoprim	fotoliza	32	HPLC-TOF-MS	<i>Vibrio fischeri</i>	[186]
tetraciklin	fotokataliza	4	HPLC-UV LC-MS/MS	<i>Pseudomonas. aeruginosa</i> ; RP manje toksični od analita	[214]
5-fluorouracil	fotokataliza	5	HPLC-UV LC-HC IT-MS	<i>Lemma minor</i> ; netoksičnost	[215]
17 β -estradiol	ozonizacija	5	HPLC-UV LC-APCI-QqQ	-	[216]

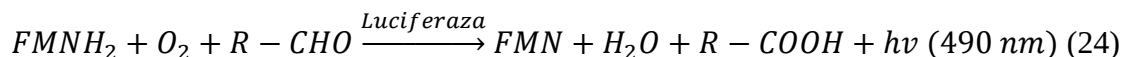
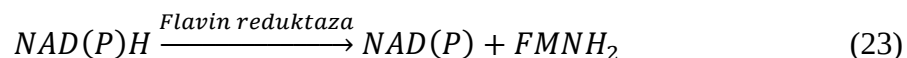
2.5. Toksičnost

Farmaceutici su bioaktivne tvari čije je toksično djelovanje prema čovjeku definirano dok za ostali dio ekosustava njihov učinak u smislu toksikanata nije uvijek istražen. Općenito, svaka kemikalija pokazuje toksičnost iznad definirane doze ili koncentracije, a njeno djelovanje ovisit će o vrsti i koncentraciji zagađivala te trajanju izloženosti [16, 217, 218]. Određivanje ekotoksikoloških učinaka predstavlja izazov i od velike je važnosti jer pored osnovnih komponenti koje se prate, naprednim oksidacijskim procesima nastaju toksični oksidacijski produkti čiji mogući učinci nisu najčešće istraženi. Posebice, zabrinutost izazivaju spojevi poput citostatika koji i pri malim koncentracijama mogu djelovati citotoksično, genotoksično, mutageno i kancerogeno prema organizmima koji su im izloženi [39, 60]. Primjerice, etopozid, 5-fluorouracil i cisplatin pokazali su citotoksičnost prema organizmu zebra ribi izraženu IC₅₀ vrijednostima (koncentracija koja uzrokuje 50 % inhibicije odabranog parametra) u rasponu koncentracija od 0,4 mg/L do 10 mg/L (test 72 h) [66]. Također, pored toksičnog djelovanja pojedinih vrsta farmaceutika poput antibiotika, svojom prisutnošću u okolišu, čak i pri niskim koncentracijama izazivaju rezistentnost prema bakterijskim kulturama [18].

Farmaceutici su pronađeni u vodama najčešće pri nižim koncentracijama od onih pri kojoj pokazuju toksično djelovanje, no to ne isključuje potrebu za istraživanjem dugoročnih, kroničnih utjecaja na organizme u okolišu. Prema EU-Direktivi 93/67/ECC [59, 219] tvari se klasificiraju kao vrlo toksične s EC₅₀ < 1 mg/L, toksične s EC₅₀ od 1 do 10 mg/L te štetne za vodene organizme s EC₅₀ između 10 i 100 mg/L pri čemu se EC₅₀ odnosi na koncentraciju koja uzrokuje 50 % inhibicije bakterijske kulture. Uobičajeno se ispituje utjecaj farmaceutika na rast, razvoj, smrtnost i reprodukciju provodeći *in vivo* i *in vitro* testove. Kao testni organizmi ispitivanja akutne i kronične izloženosti koriste se bakterije, alge, plaktonski rakovi kao *Daphnia magna*, ribe, vodozemci, a genotoksičnost tvari ispituje se SOS Chromo i Ames testovima [220, 221].

Za određivanje akutne toksičnosti na vodene organizme koristi se i morska Gram-negativna bakterija *Vibrio fischeri* (soj NRRL B-11177) koja u prirodi svog metabolizma luminiscira. Za bioluminiscentnu reakciju (23) i (24) odgovoran je flavin mononukleotid koji se u prisutnosti enzima flavin reduktaze, u prvom koraku reducira iz FMN u FMNH₂ u reakciji s nikotinamid adenin dinukleotid fosfatom (NAD(P)H). Nakon toga podliježe reakciji oksidacije pomoću kisika, aldehida i luciferaze pri čemu dolazi do emitiranja plavo-zelene

svjetlosti. Kada je navedena bakterija u doticaju s toksičnom tvari koja djeluje na njezinu metaboličku i enzimsku aktivnost, bioluminiscencija će rezultirati smanjenjem [222].



Većinom se primjenjuju kratkotrajni testovi koji određuju inhibiciju bioluminiscencije nakon 5, 15 ili 30 minuta izlaganja bakterije ispitnoj tvari prema formuli (25).

$$INH, \% = 100 - \left(\frac{IT_T}{IT_0 \cdot KF} \right) \cdot 100 \quad (25)$$

IT_0 i IT_T predstavljaju luminiscenciju prije i nakon izlaganja bakterije uzorku dok je KF korekcijski faktor dobiven na temelju mjerenja luminiscencije kontrolnog uzorka [222].

Testovi Microtox, Toxalert 500 i LUMISTox osjetljivi na bakteriju *Vibrio fischeri* široko se primjenjuju za određivanje ekotoksikoloških učinaka raznih organskih i anorganskih zagađivala zbog visoke osjetljivosti i ponovljivosti [223], a najzastupljeniji su i prilikom određivanja toksičnosti uzoraka nakon fotokatalitičke razgradnje što je i istaknuto iznad u **tablici 12**. Očekuje se da će toksičnost otpadne vode nakon obrade biti manja, no prijavljeni su slučajevi gdje dolazi i do suprotne pojave kao posljedica nastanka nusprodukata procesa i njihovih sinergijskih učinaka s drugim farmaceuticima u vodi. Time se ističe važnost određivanja toksičnosti farmaceutika prije razgradnje te nakon razgradnje u smjesi s razgradnim produktima [224]. U **tablici 13** dodatno su navedeni primjeri farmaceutika koji su pokazali negativan utjecaj na aktivnost i drugih testnih organizama uz najčešće upotrebljavane bakterije *Vibrio fischeri*.

Tablica 13. Procjena toksičnosti farmaceutika [223, 225, 226]

Farmaceutik	Testni organizam	Utjecaj
aspirin	<i>Daphnia magna</i>	LC50 = 80,33 mg/L
bezafibrat	žarnjak <i>Hydra attenuate</i> alga <i>Anabaena sp.</i>	EC50 = 25,85 mg/L EC50 = 7,62 mg/L
diklofenak	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i> <i>Zebra riba</i>	EC50 = 11,45 mg/L EC50 = 39,9 – 69,8 mg/L EC50 = 11,45 mg/L
doksorubicin	<i>Daphnia magna</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Brachionus calyciflorus</i> <i>Thamnocephalus platyurus</i>	EC50 = 2,14 mg/L EC50 = 5,18 mg/L EC50 = 12,69 mg/L EC50 = 0,31 mg/L
kloramfenikol	<i>Vibrio fischeri</i> <i>Daphnia magna</i>	EC50 = 20,68 mg/L EC50 = 227 – 1086 mg/L
smjesa sulfametazin/sulfametoksazol	alga <i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50 = 0,15 mg/L
5-fluorouracil, cisplatin, etopozid, imatinib	fitoplankton <i>Pseudokirchneriella</i> <i>subcapitata</i>	EC50 = 0,13; 1,52; 30,43; 1,52 mg/L
levoksacin	alga <i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50 = 64,8 mg/L
oksitetraciklin	vodena leća <i>Lemna minor</i> <i>Daphnia magna</i> alga <i>Scenedesmus obliquus</i>	EC50 = 3,26 mg/L EC50 = 114 mg/L EC50 = 40,4 mg/L

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Kemikalije i reagensi

Popis kemikalija korištenih za provedbu svih eksperimenata nalazi se u **tablici 14.**

Tablica 14. Popis korištenih kemikalija tijekom eksperimenata

Naziv	Molekulska formula	Čistoća	Proizvođač
Natrijeva lužina	NaOH	<i>p.a.</i>	VWR Chemicals, SAD
Klorovodična kiselina	HCl	<i>p.a.</i>	Gram-mol, Hrvatska
Acetonitril	CH ₃ CN	HPLC	Fischer Chemical, SAD
2-propanol	C ₃ H ₈ O	HPLC	Fischer Chemical, SAD
Mravlja kiselina	HCOOH	HPLC	Lach-Ner d.o.o., Hrvatska
Natrijev nitrat	NaNO ₃	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
Dinatrijev fosfat	Na ₂ HPO ₄	<i>p.a.</i>	Fischer Chemical, SAD
Natrijev klorid	NaCl	<i>p.a.</i>	Lach-Ner d.o.o., Hrvatska
Natrijev hidrogenkarbonat	NaHCO ₃	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
Huminske kiseline	-		Sigma Aldrich, Švicarska
Natrijev azid	NaN ₃	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
<i>p</i> -benzokinon	C ₆ H ₄ O ₂	<i>p.a.</i>	
Dikalijev fosfat	K ₂ HPO ₄	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
Amonijak	NH ₃	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
Limunska kiselina monohidrat	C ₆ H ₈ O ₇ · H ₂ O	<i>p.a.</i>	Kemika, Hrvatska
Borna kiselina	H ₃ BO ₃	<i>p.a.</i>	Gram-mol, Hrvatska

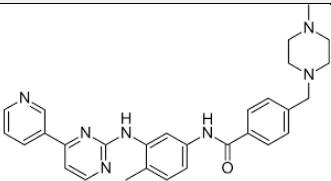
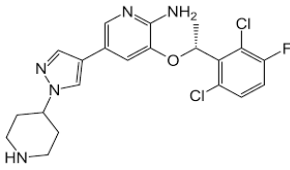
Ultračista voda korištena u svim eksperimentima pripravljena je pomoću Millipore Simplicity sustava (Millipore Corporation, USA).

Za provedbu eksperimenata toksičnosti korištena je liofilizirana bakterija *Vibrio fischeri* (LCK484 LUMISmini), Hach Lange, Hrvatska te sljedeće kemikalije analitičke čistoće pribavljene od Kemike, Hrvatska: NaCl, agar, glicerol, CaCO₃, pepton, kvašćev ekstrakt za pripravu kulture bakterija; NaCl, KH₂PO₄, CaCl₂, MgSO₄, glicerol, glukoza, rafinoza za pripravu otopine za resuspendiranje bakterijske kulture. Za provjeru valjanosti bakterijske suspenzije korištena je referentna otopina ZnSO₄ · 7H₂O (Lach Ner, Češka).

3.1.2. Farmaceutici

Korištena su dva farmaceutika, imatinib (IMT) i krizotinib (CRZ) čija su fizikalno-kemijska svojstva prikazana u **tablici 15**. Standardi su visoke čistoće (> 99 %) i nabavljeni od proizvođača Pliva (Hrvatska), odnosno Cayman Chemicals (SAD).

Tablica 15. Fizikalno-kemijske karakteristike korištenih farmaceutika [3, 81, 227]

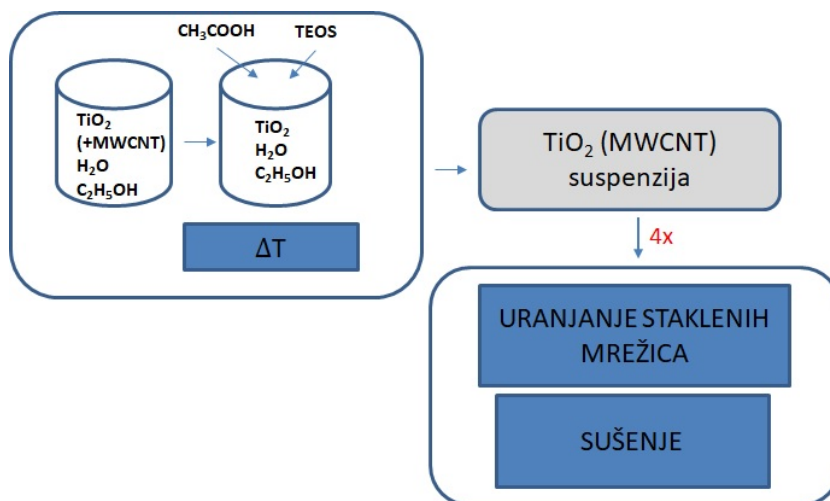
Farmaceutik	IMATINIB	KRIZOTINIB
		
Formula	C ₂₉ H ₃₁ N ₇ O	C ₂₁ H ₂₂ Cl ₂ FN ₅ O
CAS	152459-95-5	877399-52-5
Mr	493,6	450,1
pK _k	8,07; 3,73; 2,56; 1,52	5,6; 9,4
log K _{ov}	2,89	/

3.1.3. Titanijev dioksid

Titanijev dioksid (TiO₂) (Evonik, Njemačka; Aeroxide[®], TiO₂ P25 s 75 % anatas i 25 % rutil strukture) korišten je u ulozi sorbensa i fotokatalizatora u suspendiranom (TiO₂ suspenzija) te imobiliziranom obliku na staklenu mrežicu (TiO₂-SM). U eksperimentima sorpcije pored navedene dvije vrste sorbensa, korištena je i kompozicija TiO₂ s višeslojnim ugljikovim nanocijevima²⁵ kupljenima od Chengdu Organic Chem, Co., vanjskog promjera od 5 nm do 30 nm, čistoće > 95 %, duljine od 10 μm do 30 μm, imobilizirana na staklenu mrežicu (TiO₂/CNT-SM). Staklene mrežice izrezane su u kružice polumjera 1,8 cm za eksperimente sorpcije te u pravokutnike dimenzija 4 × 17,5 cm koje odgovaraju dimenzijama fotokatalitičkog reaktora. Silikonski akril nanesen je na rubove mrežica kako bi se spriječilo razdvajanje vlakana. TiO₂ i TiO₂/CNT filmovi imobilizirani su na čvrsti nosač sol-gel metodom detaljno opisanom u prethodno objavljenim radovima [228, 229]. Pripravlja se suspenzija TiO₂ u smjesi s vodom i etanolom i dodatkom CNT-a kada se radi o TiO₂/CNT kompozitu. Tako pripremljenoj otopini podešava se pH do 1,5 dodatkom octene kiseline nakon čega uz dodatno miješanje otopine od 15 min slijedi homogenizacija korištenjem

²⁵eng. multiwalled carbon nanotubes

ultrazvuka. Kao prekursor potreban za sol-gel dodaje se tetraetoksisilan (TEOS) i cijela smjesa miješa se 1 h na 50 °C. U tako pripremljenu suspenziju uranjaju se staklene mrežice i suše u sušioniku na 70 °C 15 min pri čemu se cijeli postupak ponavlja četiri puta (**slika 12**). Pripravljani su sorbensi prosječne mase imobiliziranog TiO₂ sloja 0,0037 g/cm² i 0,0072 g/cm² za TiO₂/CNT pri čemu je maseni udio CNT-a iznosio 10 % u odnosu na masu TiO₂. Koncentracija TiO₂ suspenzije iznosila je 1 g/L. Mase imobiliziranog TiO₂ sloja izražene po površini pravokutnih staklenih mrežica iznosile su $0,0036 \pm 3,9 \times 10^{-4}$ g/cm² (korištene za eksperimente s imatinibom) te $0,0037 \pm 6,4 \times 10^{-5}$ g/cm² (korištene za eksperimente s krizotinibom).



Slika 12. Shematski prikaz postupka pripreme imobiliziranih mrežica prema radu [230]

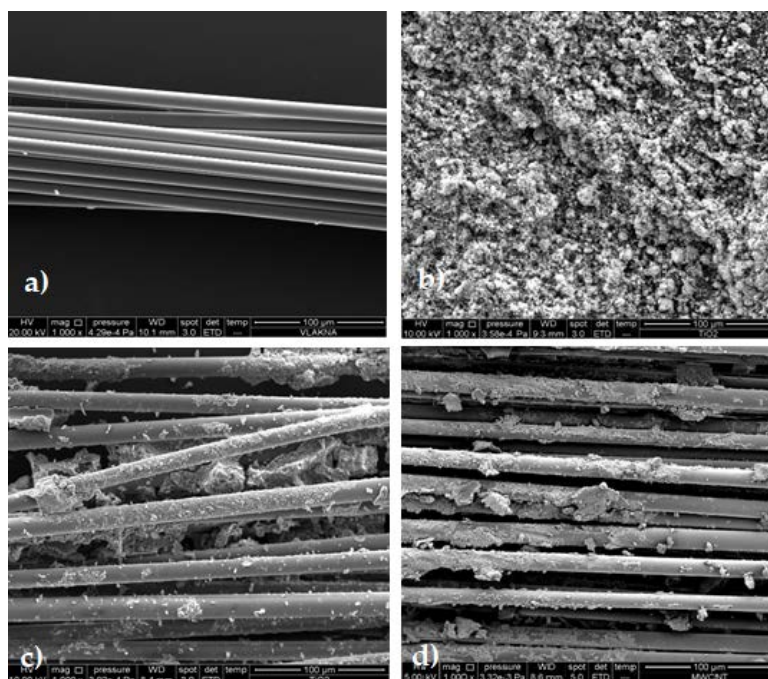


Slika 13. TiO₂ (lijevo) i TiO₂/CNT (desno) imobilizirani na staklenu mrežicu za eksperimente sorpcije



Slika 14. TiO_2 fotokatalizator imobiliziran na staklenu mrežicu

Pretražnim elektronskim mikroskopom (SEM, FEG QUANTA 250) pri 20 kV snimljene su čiste staklene mrežice te mrežice s imobiliziranim TiO_2 i TiO_2/CNT prikazane na **slici 15**.



Slika 15. SEM prikazi s uvećanjem od $1000\times$ čiste staklene mrežice (a), TiO_2 (b), TiO_2 staklena mrežica (c), TiO_2/CNT staklena mrežica (d)

Priprava sorbensa i fotokatalizatora zajedno s njihovom karakterizacijom provedena je u suradnji s Metalurškim fakultetom u Sisku.

3.1.4. Otpadna voda

Uzorak otpadne vode koji se koristi u eksperimentima fotokatalize prikupljen je u listopadu 2021. godine u Italiji na postrojenju za obradu otpadnih voda kao smjesa komunalne i bolničke otpadne vode. Karakterizacijom navedenog uzorka određeni su sljedeći parametri: pH 6,88, specifična provodnost 868 $\mu\text{S}/\text{cm}$, KPK 182 mg/L O_2 , BPK 90 mg/L O_2 , OOU 18,5 mg/L, TSS 82 mg/L, N_{uk} 31 mg/L, P_{uk} 6 mg/L. Voda je sterilizirana prije provođenja eksperimenata i profiltrirana vrpcom veličine pora od 0,45 μm .

3.2. Instrumenti

Kako bi se odredila primjena TiO_2 za uklanjanje farmaceutika iz vode koristili su se sljedeći instrumenti:

- analitička vaga Mettler Toledo XA105DU, Švicarska
- pH-metar s kombiniranom elektrodom (staklena indikatorska i Ag/AgCl referentna), Mettler Toledo, S20 SevenEasy, Švicarska
- Millipore Simplicity uređaj za pročišćavanje vode, Millipore Corporation, SAD
- UV/VIS spektrofotometar Lambda 35, Perkin Elmer, SAD
- uređaj za filtraciju vode, PALL Life Sciences, SAD
- tresilica New Brunswick Scientific, Innova 4080, SAD
- fotokatalitički reaktor
- tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti s detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD), Agilent, SAD
- tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti spregnut sa spektrometrom masa visoke razlučivosti (UHPLC-QqTOF), Agilent, SAD
- luminometar Hach-Lange, Njemačka
- Suntest CPS+ uređaj za osvjetljavanje umjetnim Sunčevim zračenjem, Atlas, Njemačka
- inkubator, Inkolab

3.2.1. Tresilica

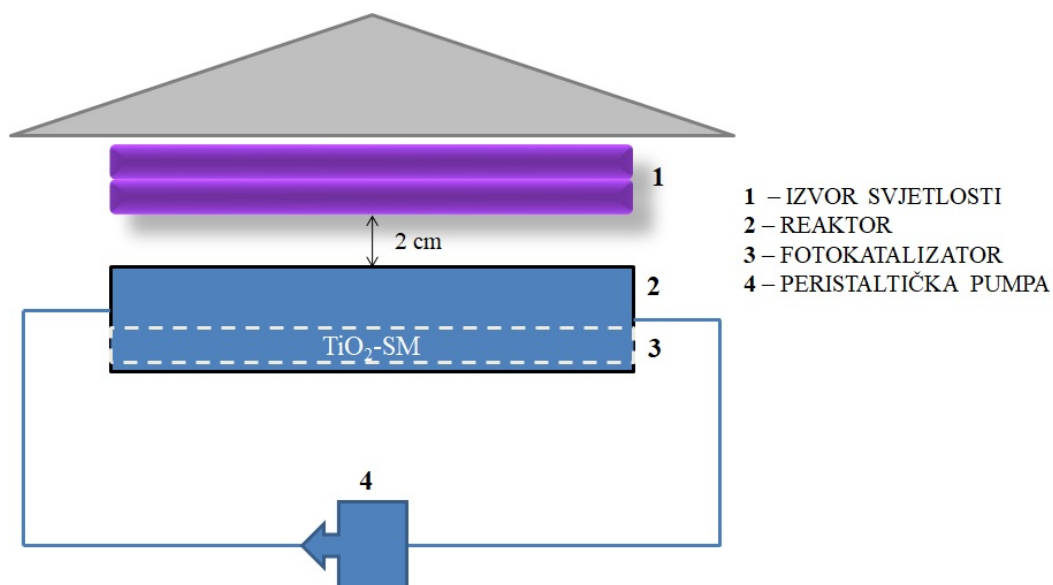
Tresilica (New Brunswick Scientific, Innova 4080, SAD) prikazana na **slici 16** omogućila je konstantan kontakt između otopina farmaceutika i TiO_2 sorbensa tijekom provedbe eksperimenata sorpcije. Ima mogućnost podešavanja temperature u intervalu od 5 do 80 °C i brzine 25 – 500 okretaja/min.



Slika 16. Tresilica Innova 4080

3.2.2. Fotokatalitički reaktor

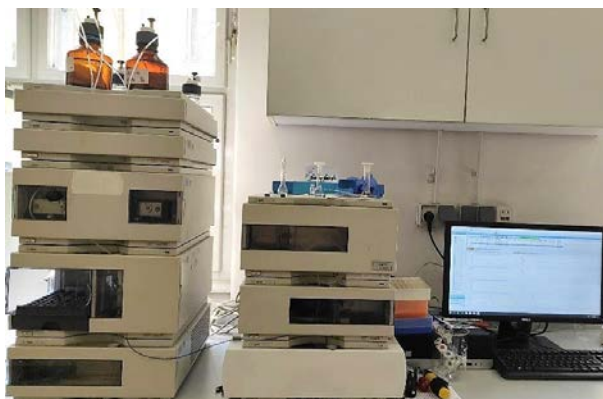
Za provedbu razgradnje farmaceutika fotokatalizom korišten je sustav koji se sastojao od pravokutnog reaktora dimenzija $17,5 \times 4,6 \times 3,3$ cm, zapremnine 100 mL, imobiliziranog fotokatalizatora (**slika 14**) položenog na dno reaktora, izvora zračenja postavljenog 2 cm iznad reaktora koji se sastojao od dvije UV lampe snage 6 W ($I_0 = 47,93 \pm 0,26 \text{ W/m}^2$ izmjeren radiometrom) s maksimumom zračenja na 365 nm, te peristaltičkom pumpom pri protoku od 30 mL/min koja je omogućavala recirkulaciju ozračene otopine. Kako bi se održavala sobna temperatura tijekom eksperimenata, ispod reaktora stavljao se led. Opisani fotokatalitički reaktor prikazan je na **slici 17**.



Slika 17. Shematski prikaz fotokatalitičkog reaktora

3.2.3. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti s DAD detektorom

Analiza uzoraka provodila se na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti, Agilent HPLC 1100 uređaju vezanim na detektor s nizom dioda (Santa Clara, SAD) (slika 18). HPLC sustav sastoji se od spremnika pokretne faze, vakuumskog degazera, automatskog uzorkivača, termostata za održavanje temperature i binarne pumpe za pokretnu fazu. ChemStation Rev. B.04.02 SP1 je softver korišten za snimanje i obradu rezultata.



Slika 18. HPLC Agilent 1100 uređaj

3.2.4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti vezan sa spektrometrom masa visoke razlučivosti

Za identifikaciju razgradnih produkata nastalih tijekom fotokatalitičke razgradnje koristio se tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, UHPLC sustav Agilent 1290 Infinity II, vezan sa spektrometrom masa visoke razlučivosti, Agilent serije 6550 kvadrupolni analizator masa koji mjeri vrijeme preleta (**slika 19**). Uzorci su ionizirani elektroraspršenjem. Snimanje i obrada rezultata napravljena je pomoću Mass Hunter v. 10.0 računalnog programa.



Slika 19. Spektrometar masa visoke razlučivosti

3.2.5. Luminometar

Bioluminiscencija bakterija *Vibrio fischeri* mjerena je na luminometru LUMIStox 300 Hach Lange, Düsseldorf, Njemačka (**slika 20**). Uzorci su termostetirani na $15\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ u LUMIStherm bloku.



Slika 20. Hach Lange LUMIStox 300 luminometar

3.3. Metode rada

3.3.1. Priprema standardnih otopina farmaceutika

Pripremale su se temeljne standardne otopine (TSO) vaganjem točno određene mase farmaceutika na analitičkoj vagi i otapanjem u odgovarajućem otapalu. Imatinib se otapao u ultračistoj vodi dok se krizotinib pripremljao otapanjem u acetonitrilu uz pomoć ultrazvuka (u ultrazvučnoj kupelji na 15 minuta). Tako pripremljene otopine čuvale su se u mraku na 4 °C. Prije svakog eksperimenta sorpcije ili fotokatalize, pripremljale su se radne standardne otopine farmaceutika razrjeđenjem TSO ultračistom vodom.

Za **eksperimente sorpcije** koristile su se radne standardne otopine koncentracija 5, 10, 15, 20 i 25 mg/L dok se kinetika vezanja pojedinog farmaceutika na TiO₂ sorbens ispitala na tri razine pripravom otopina 5, 15 i 25 mg/L. U slučaju kada se ispitivao utjecaj ionske jakosti na sorpciju, umjesto ultračiste vode korištene su otopine NaCl (0,001; 0,01; 0,1 mol/L).

Za provedbu **fotokatalitičke razgradnje** pripremljene su otopine farmaceutika pri pH-vrijednostima 5, 7 i 9 korištenjem HCl i NaOH (0,01 – 0,1 mol/L) i početnih koncentracija 5, 10 i 15 mg/L.

Utjecaj raznih iona kao uobičajenih sastavnica prirodnih voda ispitan je dodatkom određenog alikvota anorganske soli otopljene u ultračistoj vodi (NaNO₃, NaCl, Na₂HPO₄, NaHCO₃) i huminskih kiselina (HA), pojedinačno u otopinu farmaceutika koncentracije 5 mg/L. Zbog slabije topljivosti HA u vodi, pripremljena je TSO pri 50 mg/L korištenjem 5 % (v/v) NH₄OH (1 mol/L). pH otopine podešen je na 5,34 s mravljom kiselinom koncentracije 1 mol/L. Kako bi se ispitao utjecaj HA pri koncentracijama relevantnima za okoliš, TSO se razrjeđivala ultračistom vodom da se pripreme radne standardne koncentracije u rasponu 5 – 20 mg/L.

Ispitivanje dominantnog mehanizma fotokatalize uključivalo je dodatak određenog hvatača radikala²⁶ u otopinu farmaceutika (5 mg/L) kako bi se postigle koncentracije tvari u rasponu od 50 µmol/L do 50 mmol/L za IMT te 20 µmol/L – 20 mmol/L za CRZ (ovisno o primijenjenoj kemikaliji). Korišteni su sljedeći hvatači radikala: izopropanol (·OH radikal), mravlja kiselina (h⁺), *p*-benzokinon (O₂^{·-}), te azid (¹O₂) [231, 232].

Za provedbu preliminarnih eksperimenata hidrolitičke stabilnosti imatiniba i krizotiniba, otopine farmaceutika 10 mg/L pripremljene su s puferima pH 4, 7 i 9 te čuvane u mraku, u

²⁶eng. scavenger

inkubatoru pri 50 °C tijekom 5 dana. Hidrolitička stabilnost farmaceutika odredila se usporedbom svježe pripremljenih uzoraka i uzoraka u inkubatoru. Puferi su pripremljeni prema **tablici 16**. Nakon toga, provjerene su i po potrebi podešene pH-vrijednosti otopina.

Tablica 16. Priprema pufera za eksperimente hidrolize

pH	Sastav pufera
4	38,6 mL mL K ₂ HPO ₄ (0,2 mol/L) + 61,5 mL limunska kiselina (0,1 mol/L)
7	29,6 mL NaOH (0,1 mol/L) + 50 mL K ₂ HPO ₄ (0,1 mol/L)
9	50 mL H ₃ BO ₃ (0,1 mol/L) + 28,7 mL ultračista voda

3.3.2. Određivanje sorpcije mućkanjem

Za određivanje afiniteta imatiniba i krizotiniba prema TiO₂ sorbensu u suspenziji i imobiliziranom obliku koristila se tresilica pri 200 okretaja/min koja je omogućila konstantan kontakt između odabranog sorbensa i 10 mL vodene otopine farmaceutika. Reakcijska smjesa nalazila se u laboratorijskim čašama prekrivenim parafilmom kako bi se spriječilo hlapljenje otopine. Nakon mućkanja, otopine su profiltrirane kroz 0,20 µm membranski filter i prebačene u vijale za HPLC-DAD analizu.

Za određivanje vremena potrebnog za postizanje ravnoteže između analita i sorbensa, uzorci su mućkani u različitim vremenskim intervalima (10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 240, 360, 1080, i 1440 min) primjenom otopina različitih koncentracija (5, 15, i 25 mg/L). Na temelju navedenog eksperimenta kinetike, daljnji eksperimenti sorpcije provedeni su kako slijedi: 1440 min (24 h) za IMT i CRZ/TiO₂ suspenzije i CRZ/TiO₂/CNT-SM, te 360 min (4 h) za IMT/TiO₂/CNT-SM i IMT i CRZ u kontaktu s TiO₂-SM.

Pet radnih standardnih otopina koncentracija 5, 10, 15, 20, i 25 mg/L korištene su za izradu sorpcijskih izoterma kako bi se ispitao utjecaj pH, ionske jakosti, temperature i mase sorbensa. U svim eksperimentima pH otopina namještao se na početnu vrijednost pH 7, dok su se za ispitivanje utjecaja pH-vrijednosti dodatno ispitali pH-vrijednosti otopina 5 i 9. Također, radi ispitivanja utjecaja temperature, sorpcija je uz 25 °C ispitana i pri dvije više vrijednosti, 30 i 35 °C. Utjecaj mase sorbensa ispitao se primjenom dodatne dvije mase sorbensa, niže i više vrijednosti u usporedbi sa sorbensima korištenim u prethodno navedenim procesima sorpcije. Svi su eksperimenti provedeni u duplikatima.

3.3.3. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika

Na dno fotoreaktora smještenog u mračnoj komori (prethodno opisanog u dijelu 3.2.2.), položen je imobilizirani TiO_2 fotokatalizator dimenzija koje odgovaraju dimenzijama reaktora. 100 mL pripremljene otopine farmaceutika prvih se 30 minuta miješa bez korištenja izvora zračenja kako bi se postigla sorpcijska/desorpcijska ravnoteža. Koncentracija uzorka nakon uspostavljene ravnoteže uzima se kao početna koncentracija razgradnje pri čemu se počinje koristiti UV izvor zračenja. Tijekom svih eksperimenata uzimani su alikvoti uzoraka od 500 μL u raznim vremenskim intervalima unutar 360 minuta za IMT i 180 minuta za CRZ koji su dalje analizirani na HPLC-DAD instrumentu.

Na opisani način provedeni su sljedeći eksperimenti fotokatalitičke razgradnje farmaceutika:

- Korištenje FFD²⁷ plana eksperimenata kako bi se odredio simultani utjecaj dvaju faktora, pH-vrijednosti otopine i početne koncentracije potencijalnog zagađivala kao procesnih parametara koji utječu na tijek razgradnje, na tri razine (pH 5, 7, 9; koncentracija: 5, 10, 15 mg/L). Modeliranjem odzivnih površina (RSM)²⁸ određeni su optimalni parametri za razgradnju farmaceutika tako da se kao zavisna varijabla modela koristila konstanta brzine razgradnje kinetike pseudo-prvog reda. Korišten je programski paket Design-Expert 7.0.0, Stat-Ease, SAD. Signifikantnost i točnost modela okarakterizirana je statističkim parametrima (p – vjerojatnost, R^2 – koeficijent determinacije, R_{adj}^2 – prilagođeni koeficijent determinacije) dobivenim analizom varijance (ANOVA)²⁹. Eksperimenti su se proveli u tri ponavljanja. Radi usporedbe uspješnosti fotokatalitičke razgradnje, za pojedini farmaceutik proveden je eksperiment bez fotokatalizatora pri optimalnoj pH-vrijednosti i koncentraciji otopine.
- Određivanje mehanizma reakcije razgradnje farmaceutika primjenom hvatača radikala pri optimalnim uvjetima fotokatalize.
- Ispitivanje utjecaja raznih iona kao uobičajenih sastavnica vode pri koncentracijama relevantnima za okoliš.

²⁷eng. *full factorial design*

²⁸eng. *response surface modelling*

²⁹eng. *analysis of variance, ANOVA*

3.3.4. Analiza uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti

Nakon provedenih eksperimenata sorpcije, hidrolize te fotokatalize uzorci su snimani na Agilent HPLC-DAD instrumentu serije 1100. Separacija analita provodila se na C18 Kinetex koloni dimenzija 150 mm × 4,6 mm, 3,5 µm. Pokretna faza sastojala se od 0,1 % mravlje kiseline u ultračistoj vodi (A) i acetonitrilu (B). Protok pokretne faze iznosio je 0,5 mL/min uz volumen injektiranja uzorka od 25 µL. Razvijena je gradijentna metoda koja je započela sastavom od 80 % A. Tijekom prvih 6 min udio eluensa A linearno se smanjivao do 20 % A nakon čega je takav sastav zadržan 1 min. U 7,01 min sastav je vraćen na početne uvjete koji su održavani kroz sljedećih 7 minuta. Imatinib je detektiran na 258 nm, a krizotinib na 270 nm.

Razvijena metoda validirana je određivanjem osnovnih izvedbenih karakteristika poput linearnosti, preciznosti, iskoristivosti, te granice detekcije (GD) i kvantifikacije (GK). GD i GK procijenjene su na temelju standardnog odstupanja slijepog uzorka, uzorka koji se očekuje blizu granice detekcije prema jednadžbama: $3,3 \cdot s_0$ za GD i $10 \cdot s_0$ za GK, pri čemu je s_0 standardno odstupanje ponovljenih mjerenja/ $\sqrt{\text{broj ponavljanja}}$.

3.3.5. Identifikacija razgradnih produkata

Razgradni produkti identificirani su pri optimalnim uvjetima fotokatalitičke razgradnje korištenjem UHPLC sustava Agilent 1290 Infinity II uz detektor spektrometar masa visokog razlučivanja (QqTOF) Agilent serije 6550. Kao nepokretna faza koristila se Zorbax Eclipse Plus C18 kolona, dimenzija 50 mm × 2,5 mm, 1,8 µm pri temperaturi od 40 °C. Pokretna faza sastojala se od 0,1 % mravlje kiseline u ultračistoj vodi (eluens A) i 0,1 % mravlje kiseline u acetonitrilu (eluens B). Gradijent pokretne faze koji se mijenjao pri protoku od 0,2 mL/min prikazan je u **tablici 17 i 18**. Volumen injektiranja iznosio je 10 µL. Dvije minute bile su potrebne za uravnoteženje kolone prije svakog injektiranja uzorka.

Tablica 17. Gradijent pokretne faze UHPLC-QTOF metode za imatinib

vrijeme, min	Udio eluensa A, %
0	95
6	60
8,50	55
15	5
16,5	95

Tablica 18. Gradijent pokretne faze UHPLC-QTOF metode za krizotinib

vrijeme, min	Udio eluensa A, %
0	95
4	85
7,50	70
8	65
9,5	65
12	80

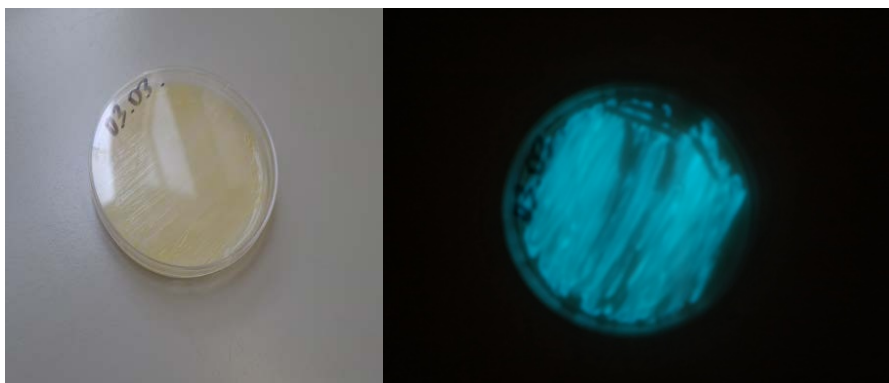
MS/MS analiza provedena je ionizacijom elektroraspršenjem u pozitivnom modu sa sljedećim parametrima: temperatura protočnog plina³⁰ 350 °C s protokom 11 L/min, tlak nebulizatora 35 psi, napon kapilare 3500 V, temperatura plina za desolvaciju³¹ 200 °C uz protok 14 L/min. Kao protočni plin i plin za desolvaciju korišten je dušik. Primijenjene kolizijske energije iznosile su 10 – 40 eV. MS spektri snimani su u rasponu od 100 do 1000 *m/z*.

³⁰eng. *sheat gas*

³¹eng. *drying gas*

3.3.6. Toksičnost

Akutna toksičnost standardnih otopina farmaceutika te njihovih smjesa s razgradnim produktima, prikupljenim u različitim vremenskim intervalima tijekom optimalne fotokatalitičke razgradnje određena je prema standardnoj bioluminiscentnoj metodi opisanoj u normi HRN EN ISO 11348-3:2007. Kao testni organizam koristi se morska bakterija *Vibrio fischeri* čiji metabolizam biva oštećen u kontaktu s toksičnom tvari. Za mjerenje se pripremila svježa kultura bakterije na hranjivoj podlozi od soja smrznute istoimene bakterije. Za svako pojedino mjerenje pripremala se svježa bakterijska suspenzija. Uzorcima je podešen osmolaritet (20 g/L) dodatkom natrijeva klorida čime se izbjegla hiperosmoza ili hipoosmoza. pH uzoraka morao se nalaziti u rasponu od 6 do 8,5 kako bi se izbjegla inhibicija luminiscencije uzrokovana pH-vrijednošću otopine, a ne samim uzorkom. Za pripravu otopina korišten je linearni niz pri čemu se za razrjeđenja otopina koristio 2 % NaCl. Sve korištene kemikalije i posuđe prije uporabe su sterilizirani. Toksičnost uzoraka procijenjena je mjerenjem inhibicije luminiscencije bakterije prije i nakon 30 minutnog izlaganja uzorku, luminometrom pri temperaturi od 15 ± 1 °C.



Slika 21. Luminiscentna bakterija na hranjivoj podlozi

3.3.7. Ispitivanje stabilnosti krizotiniba – studija prisilne razgradnje

Uslijed izostanka literature za krizotinib, provedena je studija prisilne razgradnje³² kako bi se ispitala njegova stabilnost i razjasnili putevi razgradnje tijekom različitih uvjeta. Tako identificirani razgradni produkti mogu se usporediti s onima nastalim fotokatalitičkom

³²eng. *forced degradation study*

razgradnjom. Stres uvjeti uključivali su izlaganje 200 mg/L otopine krizotiniba (TSO) kiseloj i bazičnoj hidrolizi, oksidaciji, zagrijavanju, te fotolizi. Kao reagensi korišteni su: 0,1 mol/L HCl, 0,1 mol/L NaOH, 10 % H₂O₂. Tijekom hidrolize i oksidacije, 2 mL otopine krizotiniba držana je u kontaktu s navedenim reagensima 6 h na sobnoj temperaturi u mraku nakon čega su otopine neutralizirane i nadopunjene s diluentom. Toplinska stabilnost ispitana je na tekućem uzorku na 80 °C u vodenoj kupelji (6 h) te na krutom uzorku pri 100 °C u sušioniku na 24 h. Fotolitička razgradnja uzorka ispitana je izlaganjem TSO umjetnom Sunčevom zračenju intenziteta 500 Wh/m² (SunTest CPS+, Atlas) 15 h. Uzorci su analizirani na UHPLC-QTOF instrumentu. Detaljan opis eksperimenata prisilne razgradnje krizotiniba prethodno je opisan u radu [58].

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Razvoj HPLC-DAD metode

Snimanje uzoraka nakon sorpcije i fotokatalize provedeno je na HPLC-DAD instrumentu zbog čega je razvijena i validirana metoda određivanjem osnovnih značajki prikazanim u **tablici 19** za imatinib i krizotinib.

Tablica 19. Rezultati validacije za HPLC-DAD određivanje farmaceutika

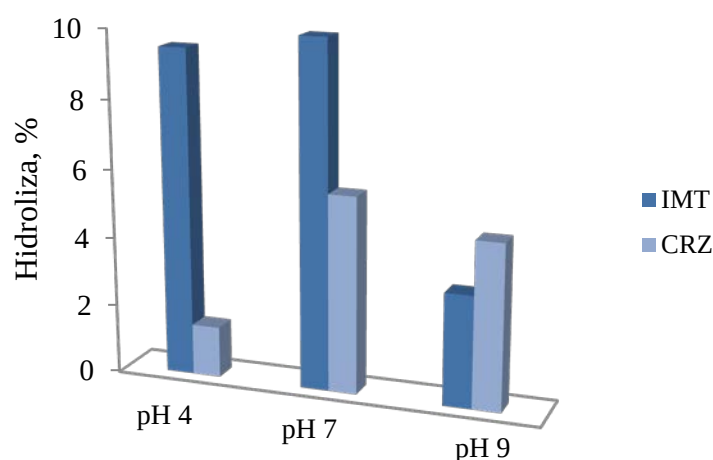
<i>Izvedbena značajka</i>	<i>Rezultat (IMT; CRZ)</i>	<i>Koncentracija (mg/L)</i>	<i>Kriterij prihvatljivosti</i>	<i>Zadovoljava kriterije</i>
Linearnost	0,9991; 0,9970	za radno područje	$R^2 \geq 0,995$	DA; DA
Preciznost				
Ponovljivost, %	7,69; 3,77 4,06; 2,20 4,01; 1,75	6 12,5 22	RSD ≤ 10 %	DA; DA DA; DA DA; DA
Međupreciznost, %	8,80; 7,80 10,69; 7,67 4,53; 2,81	6 12,5 22	RSD ≤ 15 %	DA; DA DA; DA DA; DA
Granica detekcije, mg/L	0,020; 0,038	-	podatak	-
Granica kvantifikacije, mg/L	0,060; 0,11	-	podatak	-
Iskoristivost, %	96,55; 87,65 96,48; 95,54 100,35; 107,38	6 12,5 22	(90 – 110) %	DA; NE DA; DA DA; DA
Radno područje, mg/L	GK – 25 GK – 25	-	podatak	-
Osjetljivost, L/mg	147,2; 57,56	-	podatak	-

Prema **tablici 19** može se zaključiti da je razvijena metoda prikladna za praćenje imatiniba i krizotiniba u ultračistoj vodi.

S obzirom da se odredila linearna ovisnost između površine ispod kromatografske krivulje (A) i koncentracije analita u ispitanom koncentracijskom području za oba farmaceutika (potvrđeno koeficijentima determinacije, $R^2 > 0,995$), razgradnja farmaceutika pratila se kao A/A_0 što odgovara c/c_0 , pri čemu su A_0 i c_0 površina ispod kromatografske krivulje i koncentracija analita u trenutku početka fotokatalize.

4.2. Preliminarni eksperimenti

S obzirom da je tematika ovog rada uklanjanje citostatika iz vode, na početku je ispitana hidrolitička stabilnost imatiniba i krizotiniba prema OECD 111 proceduri [233] kako bi se u daljnjim eksperimentima smanjenje koncentracije moglo pripisati sorpciji i fotokatalitičkoj razgradnji. Preliminarni eksperimenti uključivali su pripremu standardnih otopina farmaceutika u puferskim otopinama na tri pH-vrijednosti (pH 4; 7; 9) i pohranjivanje istih na 50 °C u razdoblju od pet dana. Usporedbom sa svježije pripremljenim uzorcima dokazana je razgradnja manja od 10 % pri svim pH-vrijednostima (**slika 22**). Imatinib i krizotinib se prema dobivenim rezultatima smatraju hidrolitički stabilnim komponentama zato što se vrijeme poluraspada za 10 % hidrolizirane tvari aproksimira na 30 dana što odgovara vremenu poluraspada od 1 godine pri 25 °C [233].



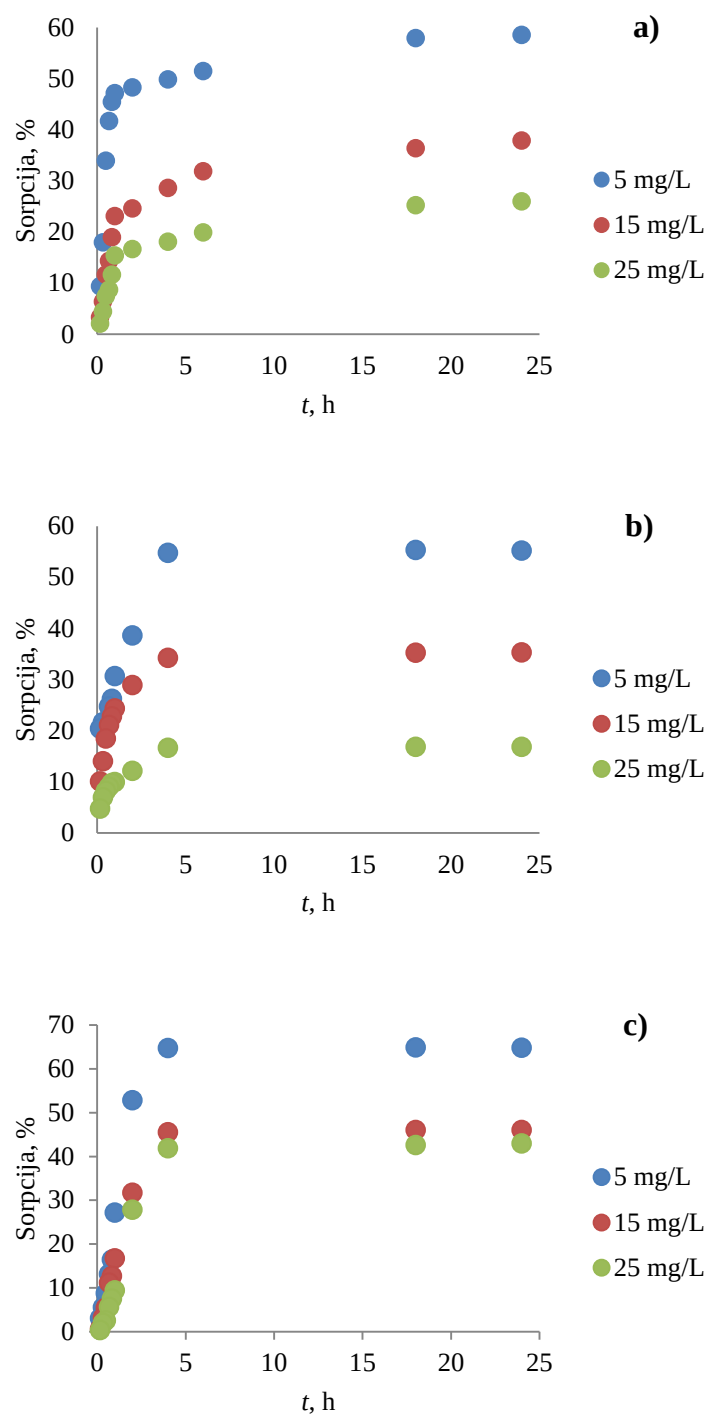
Slika 22. Hidrolitička stabilnost imatiniba i krizotiniba

4.3. Sorpcija farmaceutika na TiO₂

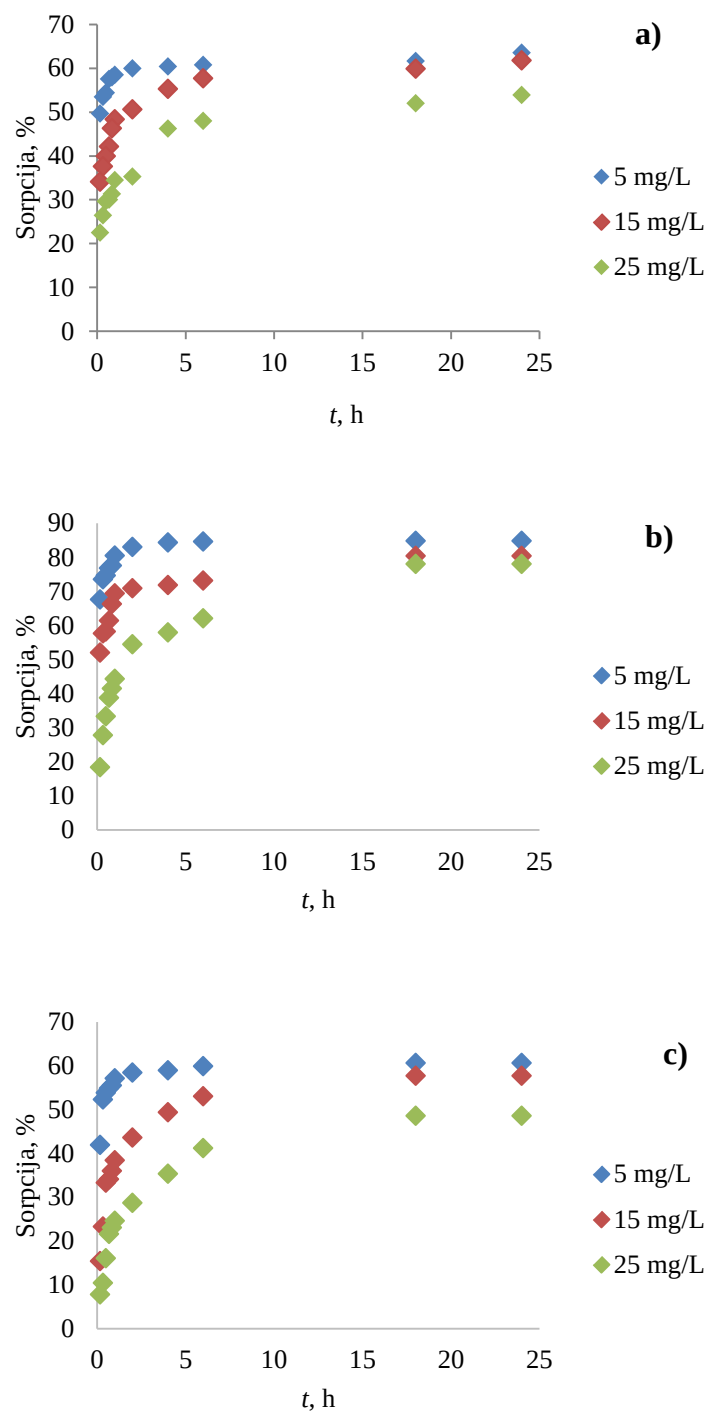
Sorpcija tvari na fotokatalizator predstavlja prvi korak u mehanizmu fotokatalitičke razgradnje. Proces sorpcije može imati dvosmjernan učinak, odnosno s jedne strane moguć je negativan utjecaj mehanizma razgradnje uslijed smanjenog broja aktivnih mjesta potrebnih za generiranje radikala dok se, gledajući iz drugog kuta, navedena metoda može iskoristiti kao neinvazivan i relativno jeftin način uklanjanja zagađivala iz vode pri kojem se ne stvaraju nove i potencijalno toksičnije tvari u odnosu na analit [165, 234]. Kroz prvi dio ovog rada istraženo je sorpcijsko ponašanje imatiniba i krizotiniba prema TiO₂ fotokatalizatoru, najčešće korištenom u procesima fotokatalize pri čemu se ispitao utjecaj osnovnih čimbenika koji su poznati da mogu utjecati na tijek i prirodu vezanja pojedine komponente na sorbens. Sorpcija farmaceutika pod utjecajem različitih pH-vrijednosti medija, vrijednosti početne koncentracije spoja, ionske jakosti otopine, mase sorbensa, te temperature okoline opisana je korištenjem odgovarajućih modela sorpcijskih izoterma ($R^2 > 0,9$).

4.3.1. Određivanje kontaktnog vremena analit/sorbens

S obzirom da na proces sorpcije utječu fizikalno-kemijske karakteristike ispitivanog spoja i sorbensa, ne može se očekivati da će različiti farmaceutici prema različitim izvedbama fotokatalizatora pokazivati isti afinitet sorbiranja. Stoga se u prvom nizu eksperimenata moralo odrediti vrijeme mućkanja potrebno da se postigne ravnoteža sorpcije između analita i sorbensa. Mućkanjem otopina pri tri koncentracije (5, 15, i 25 mg/L) kroz 11 vremena postignuta je ravnoteža u 24 sata između oba farmaceutika i TiO₂ suspenzije. Imatinib i krizotinib nisu se značajno sorbirali na imobilizirani TiO₂ nakon 4 sata mućkanja. Što se tiče TiO₂/CNT sorbensa, krizotinib je potrebno mućkati 24 sata. Pregledom literature, slični rezultati dobiveni su za antibiotike sulfapiridin i sulfametoksazol koji su postignuli ravnotežu sorpcije za 4 sata u kontaktu s CNT sorbensom kao i imatinib, dok je ciprofloksacin za postizanje ravnoteže na ugljične nanocijevi zahtijevao puno više vremena od krizotiniba, čak 72 sata [166, 235]. Također, pokazano je da promjena početne koncentracije farmaceutika nije utjecala na kontaktno vrijeme između farmaceutika i TiO₂. Vremenski profili sorbiranja farmaceutika na tri modifikacije TiO₂ sorbensa prikazani su na **slikama 23 i 24**.



Slika 23. Količina sorbiranog imatiniba na TiO₂ u suspenziji (a), TiO₂-SM (b) i TiO₂/CNT-SM (c) u ovisnosti o vremenu mućkanja



Slika 24. Količina sorbiranog krizotiniba na TiO₂ u suspenziji (a), TiO₂-SM (b) i TiO₂/CNT-SM (c) u ovisnosti o vremenu mućkanja

4.3.2. Kinetika sorpcije

Kinetika sorpcije opisala se Lagergren-ovim modelom pseudo-prvog reda i Ho-ovim modelom pseudo-drugog reda, te modelom unutarčestične difuzije. **Tablice 20 i 21** prikazuju parametre dobivene kinetikom pseudo-prvog i drugog reda. Vidljivo je da se eksperimentalni podatci sorpcije oba farmaceutika na sve tri ispitane vrste TiO_2 najbolje opisuju kinetikom pseudo-drugog reda što potvrđuju regresijski koeficijenti u rasponu od 0,9792 do 0,9999 za imatinib, te 0,9989 – 1,000 za krizotinib. Teorijske vrijednosti $q_{e,\text{calc}}$ bliže su eksperimentalnim vrijednostima, $q_{e,\text{exp}}$ za cijelo ispitano koncentracijsko područje. Koristeći model kinetike pseudo-drugog reda postignuta je maksimalna ravnotežna koncentracija sorbirane tvari po masi sorbensa u rasponu 14,62 – 168,25 $\mu\text{g/g}$ za imatinib te 15,88 – 207,93 $\mu\text{g/g}$ za krizotinib. Može se zaključiti da kapacitet sorpcije ovisi o dostupnim aktivnim mjestima na površini TiO_2 te pokazuje pozitivnu korelaciju s brojem aktivnih mjesta primijenjenog sorbensa [236, 237].

Tablica 20. Parametri kinetike pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za imatinib

IMT	Početna koncentracija, mg/L	$q_{e,\text{exp}}$, $\mu\text{g/g}$	Pseudo-prvi red			Pseudo-drugi red		
			$q_{e,\text{calc}}$, $\mu\text{g/g}$	k_1 , 1/min	R^2	$q_{e,\text{calc}}$, $\mu\text{g/g}$	k_2 , g/ μg min	R^2
TiO_2 suspenzija	5	14,62	8,47	0,0059	0,9488	14,90	$2,03 \times 10^{-4}$	0,9990
	15	28,40	8,50	5×10^{-5}	0,6238	29,67	$4,26 \times 10^{-4}$	0,9981
	25	32,47	10,76	3×10^{-5}	0,6731	34,25	$3,13 \times 10^{-4}$	0,9969
TiO_2 -SM	5	27,37	4,73	0,0002	0,6430	28,57	$8,36 \times 10^{-4}$	0,9989
	15	118,50	6,52	0,0004	0,6385	125	$2,96 \times 10^{-4}$	0,9999
	25	168,25	8,94	0,0002	0,6516	174,44	$1,67 \times 10^{-4}$	0,9995
$\text{TiO}_2/\text{CNT-SM}$	5	32,35	4,87	0,0003	0,5734	36,76	$1,72 \times 10^{-4}$	0,9792
	15	68,18	8,23	0,0002	0,6100	85,47	$4,20 \times 10^{-4}$	0,8151
	25	104,65	10,48	0,0002	0,6309	161,29	$1,05 \times 10^{-5}$	0,5285

Tablica 21. Parametri kinetike pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za krizotinib

CRZ	Početna koncentracija, mg/L	$q_{e,exp}$, $\mu\text{g/g}$	Pseudo-prvi red			Pseudo-drugi red		
			$q_{e,calc}$, $\mu\text{g/g}$	k_1 , 1/min	R^2	$q_{e,calc}$, $\mu\text{g/g}$	k_2 , g/ μg min	R^2
TiO ₂ suspenzija	5	15,88	8,00	0,0059	0,9460	15,77	$9,87 \times 10^{-3}$	0,9997
	15	46,32	7,91	4×10^{-5}	0,6230	46,30	$1,13 \times 10^{-3}$	0,9996
	25	67,39	10,21	5×10^{-5}	0,7200	68,03	$4,12 \times 10^{-4}$	0,9989
TiO ₂ -SM	5	42,39	2,86	0,0002	0,4222	42,55	$7,15 \times 10^{-4}$	1,000
	15	120,57	5,72	0,0002	0,7360	121,95	$5,37 \times 10^{-4}$	0,9996
	25	207,93	8,99	0,0004	0,9133	212,77	$7,43 \times 10^{-4}$	0,9954
TiO ₂ /CNT-SM	5	30,29	3,90	6×10^{-5}	0,3427	30,40	$7,07 \times 10^{-3}$	1,000
	15	86,52	7,35	0,0002	0,648	88,50	$3,39 \times 10^{-4}$	0,9996
	25	121,43	9,96	0,0002	0,7592	128,21	$1,07 \times 10^{-4}$	0,9954

Dodatno, primijenjen je i unutarčestični difuzijski model kako bi se procijenio difuzijski mehanizam tijekom sorbiranja farmaceutika u čestice sorbensa obzirom da navedeni proces često određuje brzinu sorpcije u vodenim sustavima. Rezultati dobiveni Weber-Morris-ovim modelom prikazani su u **tablici 22** za imatinib te u **tablici 23** za krizotinib. Dobivene konstante unutarčestične difuzije, k_p i C vrijednosti koje se odnose na debljinu graničnog sloja pokazuju da se proces sorpcije oba analita odvija uglavnom u tri linearne faze. Odnosno, proces sorpcije nije kontroliran jednim procesom, unutarčestičnom difuzijom. Nakon kontakta između sorbensa i vodene otopine farmaceutika, spoj migrira do graničnog sloja čvrste faze (vanjski prijenos mase). Konstanta brzine ove faze, k_{p1} najveća je u svim slučajevima pri svim koncentracijama. U drugoj fazi procesa dolazi do unutarčestične difuzije između poroznog materijala i imatiniba/krizotiniba. Sorpcija tvari na aktivnim mjestima sorbensa i ravnotežno stanje procesa obično se postiže u trećoj fazi, što se potvrđuje najmanjim nagibom pravca, k_{p3} (najsporija faza s obzirom na smanjeni broj aktivnih mjesta) [8, 238, 239]. C -vrijednosti različite od nule i u rastućem nizu od prve do treće faze ($C3 > C2 > C1$) ukazuju na složenost sorpcije farmaceutika na TiO₂ pri čemu veliki doprinos kontroli procesa ima površinska sorpcija. Također, višom C -vrijednosti potvrđuje se jači utjecaj graničnog sloja [184, 237].

Tablica 22. Model unutarčestične difuzije za imatinib

Uzorak	C_0 , mg/L	Unutarčestična difuzija								
		Prva faza			Druga faza			Treća faza		
		k_{p1} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_1	k_{p2} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_2	k_{p3} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_3
TiO ₂ suspencija	5	2,484	0,9731	5,757	0,1139	0,8928	10,73	0,1018	0,9800	10,92
	15	3,257	0,9751	8,884	0,5956	0,9853	12,35	0,2395	0,9997	19,34
	25	3,475	0,9577	9,525	0,4854	0,9901	15,42	0,4181	0,9788	17,096
TiO ₂ -SM	5	0,7496	0,9828	7,675	1,6248	0,9915	2,012	0,0121	0,8842	27,19
	15	12,317	0,9942	4,801	4,8479	0,9873	44,82	0,1761	0,9614	115,88
	25	12,738	0,9840	40,46	8,4091	0,9867	35,57	0,0867	0,9994	166,9
TiO ₂ /CNT-SM	5	1,732	0,9623	4,491	2,7714	0,9100	8,461	0,0018	0,8187	32,33
	15	5,338	0,9557	18,016	5,5006	0,9850	15,58	0,0402	0,9712	67,58
	25	5,018	0,9373	17,199	10,283	0,9694	51,27	0,1127	0,9920	102,87

Tablica 23. Model unutarčestične difuzije za krizotinib

Uzorak	C_0 , mg/L	Unutarčestična difuzija								
		Prva faza			Druga faza			Treća faza		
		k_{p1} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_1	k_{p2} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_2	k_{p3} , $\mu\text{g/g}$ $\text{min}^{1/2}$	R^2	C_3
TiO ₂ suspencija	5	0,4913	0,9539	11,00	0,0330	0,9046	14,51	-	-	-
	15	2,318	0,9776	17,81	0,6452	0,9935	31,13	0,1536	0,9508	40,21
	25	2,814	0,9465	20,05	1,779	0,9395	27,35	0,3887	0,9971	52,47
TiO ₂ -SM	5	1,261	0,9530	30,34	0,1787	0,8709	39,17	0,0045	0,9976	42,22
	15	5,441	0,9524	60,15	0,6495	0,9812	98,46	0,0220	1,000	119,73
	25	14,914	0,9918	0,7623	4,138	0,9168	80,25	2,803	0,9994	102,09
TiO ₂ /CNT-SM	5	2,009	0,8401	15,59	0,1506	0,9554	26,73	0,0210	0,9436	29,54
	15	17,532	0,9269	2,124	1,948	0,9928	43,26	0,3957	0,9324	72,35
	25	10,690	0,9609	17,21	3,713	0,9979	31,72	1,048	0,9345	83,87

4.3.3. Sorpcijske izoterme – utjecaj pH

Za opisivanje afiniteta sorpcije pod utjecajem pH-vrijednosti relevantnih za okoliš (pH 5 – 9) dvaju farmaceutika na tri vrste TiO_2 sorbensa korišteno je nekoliko modela sorpcijskih izotermi. Linearna te dvije dvo-parametarske izoterme, Langmuirova te Freundlichova pokazale su najbolje slaganje između modela i eksperimentom dobivenih rezultata što je potvrđeno koeficijentima determinacije, R^2 većim od 0,8896 za imatinib, te 0,8665 za krizotinib. Prevođenjem modela izotermi u linearne oblike, dobiveni su parametri potrebni za tumačenje jačine, mehanizma, te prirode procesa sorpcije. Njihove vrijednosti nalaze se u **tablici 24** za imatinib, te **tablici 25** za krizotinib.

Tablica 24. Parametri sorpcijskih izotermi potrebnih za procjenu utjecaja pH na sorpciju imatiniba

Parametri izoterme	suspenzija TiO_2			TiO_2 -SM			TiO_2/CNT -SM		
	5	7	9	5	7	9	5	7	9
Linearna									
K_d (mL/g)	162,2	213,8	672,3	22,1	36,4	160,5	75,4	82,3	113,2
R^2	0,9960	0,9980	0,9910	0,9930	0,9970	0,9910	0,9900	0,9900	0,9920
Langmuir									
q_m (mg/g)	5,0	5,0	20	5,0	1,1	5,0	0,45	0,62	0,67
K_L (mL/g)	0,5	0,4	0,07	0,004	0,15	0,03	0,051	0,049	0,059
R^2	0,8896	0,9199	0,9989	0,9990	0,9190	0,9900	0,9430	0,9540	0,9440
Freundlich									
n	3,0	2,6	1,4	0,95	1,88	0,91	0,64	0,68	0,66
K_F ($\mu\text{g/g})(\text{mL}/\mu\text{g})^{1/n}$	2027,2	1944,5	1563,5	17,7	9,3	9,8	14,2	21,1	27,2
R^2	0,9750	0,9990	0,9990	0,9980	0,9690	0,9910	0,9720	0,9770	0,9680

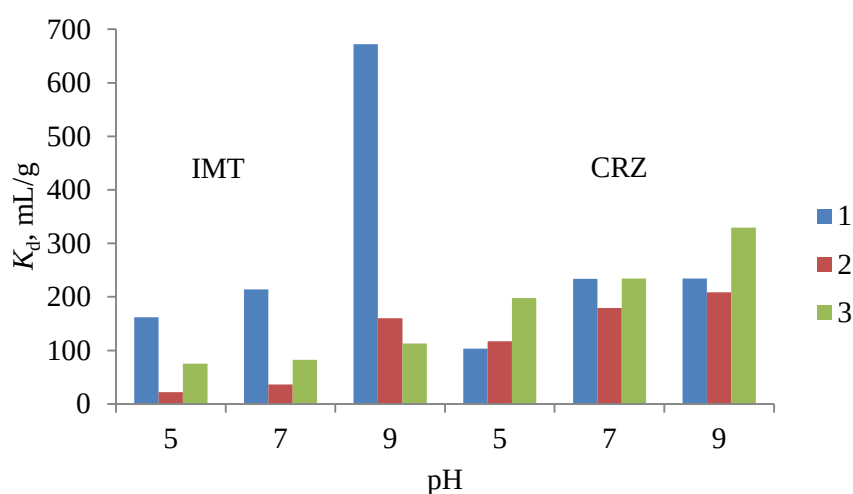
Tablica 25. Parametri sorpcijskih izotermi potrebnih za procjenu utjecaja pH na sorpciju krizotiniba

Parametri izoterme	suspenzija TiO ₂			TiO ₂ -SM			TiO ₂ /CNT-SM		
	5	7	9	5	7	9	5	7	9
Linearna									
K_d (mL/g)	103,5	233,8	234,4	117,12	179,18	208,91	197,74	234,12	329,67
R^2	0,9965	0,9970	0,9993	0,9980	0,9930	0,9922	0,9911	0,9936	0,9940
Langmuir									
q_m (mg/g)	10,0	5,0	20,0	100	5,0	10,0	50	166,7	33,3
K_L (mL/g)	0,015	0,5	0,5	0,001	0,074	0,036	0,004	0,0013	0,0097
R^2	0,9968	0,8665	0,9072	0,9980	0,9976	0,9990	0,9911	0,9994	0,9986
Freundlich									
n	1,2	2,6	2,7	0,99	1,3	1,2	0,99	0,97	0,98
K_F (μg/g)(mL/μg) ^{1/n}	174,2	2025,8	2105,7	116,5	399,9	382,6	204,2	208,8	329,7
R^2	0,9982	0,9482	0,9707	0,9984	0,9974	0,9994	0,9965	0,9975	0,9967

Linearna izoterma kao najjednostavniji oblik sorpcijske izoterme pokazala se najboljom za opisivanje sorpcije oba farmaceutika na sve vrste TiO₂ sorbensa pri svim ispitanim pH-vrijednostima ($R^2 > 0,99$) što ukazuje na dominaciju hidrofobnih interakcija [240].

Koeficijent sorpcije, K_d pokazuje rastući trend s porastom pH-vrijednosti za imatinib i krizotinib za sve tri TiO₂ modifikacije (**slika 25**). Prema literaturi [172, 241], izmjeren je zeta potencijal TiO₂ između 6 i 6,5 što znači da može poprimiti pozitivan ili negativan naboj, ovisno o pH medija u kojem se korišteni materijal nalazi. U provedenim eksperimentima očekuje se da površina TiO₂ sorbensa bude pozitivno nabijena pri pH 5 te vjerojatno pretežno negativna pri pH 7 i 9. Uzimajući u obzir konstantu ionizacije za imatinib (pK_k dušikova atoma piperazinskog prstena iznosi 7,8 – 8,07) [102, 227] znači da je farmaceutik prisutan u protoniranom obliku u kiselom mediju dok je pretežno neutralan pri lužnatim uvjetima. Fizikalno-kemijska svojstva analita, ali i sorbensa uzrokovala su najmanju sorpciju pri pH 5 zbog prevladavanja elektrostatskih odbojnih interakcija dok pri višim pH-vrijednostima elektrostatske privlačne sile promoviraju vezanje neutralnog imatiniba na više negativniju površinu TiO₂. Najviši afinitet sorpcije imatiniba postignut je pri pH 9 dok su pri pH 7, vrijednosti blizu izoelektrične točke sorbensa te se manje imatiniba sorbira uslijed moguće

pojave aglomeracije na površini TiO_2 [172, 242]. Sličan trend afiniteta sorpcije pokazuje i krizotinib koji sadrži dvije pK_k vrijednosti, 5,6 i 9,4 što rezultira njegovom pojavom u pozitivnom, neutralnom te negativnom obliku ovisno o primijenjenim uvjetima [243]. Stoga je porast sorbirane količine krizotiniba s porastom pH-vrijednosti uzrokovan prisutnošću različitih specija u vodenoj otopini koje onda uzrokuju ili odbojne (pH 5) ili privlačne sile pri pH 7 i 9 između većinski neutralnog citostatika i negativno nabijene TiO_2 površine (potvrđeno sličnim vrijednostima koeficijenata sorpcije). Ovim setom eksperimenata ponovno je pokazana važnost sinergije fizikalno-kemijskih svojstava sorbata i sorbena u ovisnosti o uvjetima procesa čime se direktno u većoj ili manjoj mjeri utječe na učinkovitost uklanjanja zagađivala iz vode. Naime, sorpcija kao i u ovom slučaju s imatinibom i krizotinibom može biti promovirana s porastom pH-vrijednosti ili se može javiti negativan utjecaj poput onog u slučaju ciprofloksacina i ugljičnih nanocijevi (MWCNT) pri pH-vrijednosti većoj od 7 [235] te cefdinira u rasponu pH-vrijednosti od 4 do 10 gdje se kao sorbens također koristi TiO_2 [165].



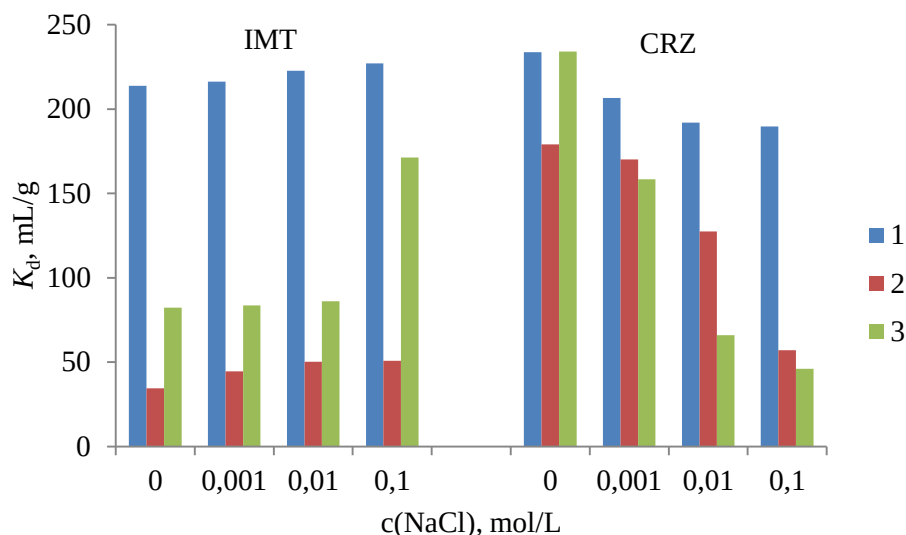
Slika 25. Utjecaj pH na sorpciju imatiniba i krizotiniba
(1 – suspenzija TiO_2 , 2 – TiO_2 -SM, 3 – TiO_2 /CNT-SM)

Kako bi se ispitao kapacitet višeslojne sorpcije na heterogenim površinama sorbena, odredili su se parametri n i K_F iz empirijski izvedene Freundlichove izoterme [244, 245]. Pretpostavlja se favorizirana sorpcija između TiO_2 suspenzije i oba farmaceutika

određivanjem bezdimenzijskog parametra n , većeg od jedan (konkavnost izoterme) [246, 247]. Uklanjanje imatiniba sorpcijom na TiO_2 -SM opisana je vrijednošću n oko jedinice čime se potvrđuje linearnost izoterme, odnosno konstantan afinitet sorpcije u ispitanom koncentracijskom području. Na TiO_2/CNT -SM površini, sorpcija je definirana kao kooperativan proces s jednakim n -vrijednostima, manjim od 1 pri čemu se afinitet sorbiranja imatiniba smanjuje zbog popunjenih aktivnih veznih mjesta na sorbensu [248]. Krizotinib je pokazao konstantan sorpcijski afinitet s povećanjem koncentracije za obje vrste imobiliziranog TiO_2 (n -vrijednosti bliske jedinici). Kapacitet sorpcije, određen K_F koeficijentima najveći je za TiO_2 suspenziju čime se još jednom potvrđuje najveći afinitet sorpcije između imatiniba i spomenutog oblika sorbensa. Relativno niske K_F vrijednosti za preostale imobilizirane TiO_2 oblike ($19,3 - 27,2 (\mu\text{g/g})(\text{mL}/\mu\text{g})^{1/n}$) ukazuju na mobilnost farmaceutika u sorbensu [249]. Općenito, usporedbom oba analita, vidljivo je da krizotinib pokazuje veću sklonost sorpciji na korištene TiO_2 sorbense. Langmuirov model izoterme, koji se odnosi na monoslojnu sorpciju na mjestima s ujednačenom energijom [237, 250], kao i Freundlichova izoterma pokazuje dobro slaganje eksperimentalnih vrijednosti s modelom ($R^2 > 0,91$ za imatinib; $R^2 > 0,90$ za krizotinib) čime se ukazuje na složenost procesa zbog mogućnosti sorpcije u jednom ili više slojeva na heterogenom sorbensu kao i u slučaju sorpcije cefdinira na TiO_2 u suspenziji [165]. Najviša vrijednost sorpcijskog kapaciteta određenog q_m konstantom procijenjena je za imatinib pri pH 9 za sve TiO_2 modifikacije. Najveći sorpcijski afinitet opisan jačinom veze kroz najviše K_L vrijednosti, određen je za sorpciju krizotiniba na TiO_2 suspenziju. Općenito, TiO_2 suspenzija pokazala je bolji kapacitet za sorpciju oba farmaceutika što je i bilo očekivano obzirom na samu izvedbu sorbensa, odnosno veći broj aktivnih mjesta na površini te lakši prijenos mase u usporedbi sa smanjenom površinskom aktivnošću uslijed imobiliziranja tvari na čvrsti nosač [125]. Također, veća masa TiO_2 ne mora nužno uzrokovati veću učinkovitost sorpcije, sama izvedba sorbensa ili TiO_2 u ulozi fotokatalizatora može imati ključnu ulogu. Navedene činjenice potkrijepljene su SEM analizom prikazanoj na **slici 15** pri čemu je vidljiva pojava aglomeracije tijekom vezanja TiO_2 i TiO_2/CNT na vlakna staklene mrežice uzrokujući smanjenu površinsku aktivnost sorbensa. Međutim, gledajući isplativost i lakšu izvedbu procesa u smislu izbjegavanja filtracije uzoraka i mogućnošću ponovnog korištenja TiO_2 , bolje je koristiti imobiliziran TiO_2 , čak i u nekim slučajevima bez dodatka ugljičnih nanocijevi jer različita aktivna mjesta dvaju združenih materijala mogu uzrokovati heterogenu sorpciju [165].

4.3.4. Utjecaj ionske jakosti na sorpciju farmaceutika

Utjecaj ionske jakosti otopina imatiniba i krizotiniba na kapacitet sorpcije ispitan je korištenjem vodene otopine soli NaCl koncentracije 0,001, 0,01 i 0,1 mol/L umjesto ultračiste vode. Rezultati dobiveni linearnom izotermom prikazani su na **slici 26**.



Slika 26. Utjecaj ionske jakosti na sorpciju imatiniba i krizotiniba

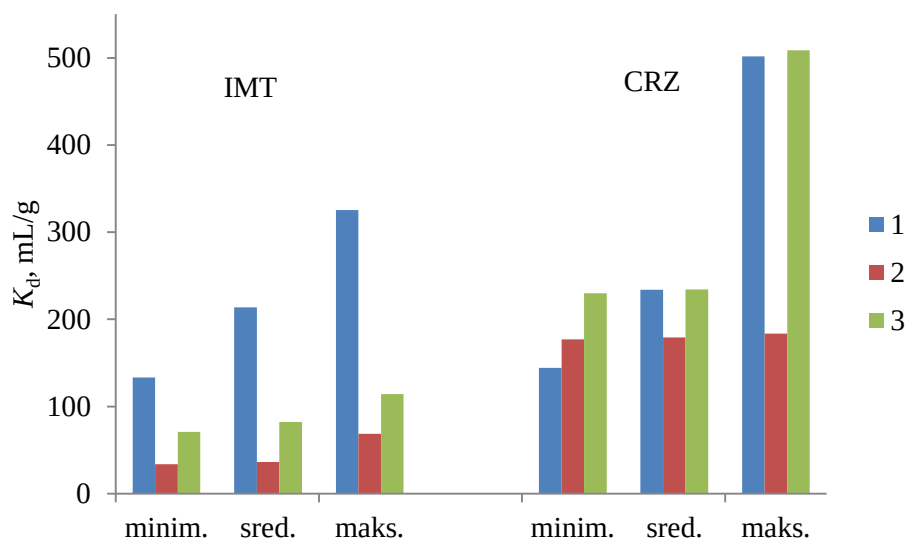
(1 – suspenzija TiO_2 , 2 – TiO_2 -SM, 3 – TiO_2/CNT -SM)

Na **slici 26** vidljiv je blagi porast sorpcije imatiniba na sva tri uzorka sorbensa s porastom ionske jakosti što bi mogao biti rezultat neutralizacije TiO_2 površine pozitivnim ionima pri čemu može doći do ne-elektrostatskih interakcija između farmaceutika i sorbensa [251]. Smanjena topljivost farmaceutika dodatkom topljive soli u vodenu otopinu može također dovesti do povećanja sorpcijskog afiniteta tvari [246]. Povećanje koncentracije Na^+ iona uzrokovalo je smanjeni broj aktivnih mjesta na sorbensu zbog kompeticije Na^+ i krizotiniba što je u konačnici dovelo do smanjene sorpcije krizotiniba na TiO_2 [252]. Isto tako, ovisno o pH okoline, tvar koja se sorbira i sorbens mogu poprimiti jednaki naboj i međusobno izazivati elektrostatske odbojne sile koje će također uzrokovati pad afiniteta sorpcije [252]. Provedenim eksperimentima cilj je bio pokazati kako sorpcija imatiniba i krizotiniba, a općenito i drugih farmaceutika kao zagađivala okoliša može ovisiti o matici vode sastavljenoj

od raznih anorganskih i organskih iona, metala, itd. što bi trebalo potvrditi s dodatnim eksperimentima.

4.3.5. Utjecaj mase TiO_2

Za svaki korišteni sorbens, provedeni su eksperimenti s tri različite mase TiO_2 , odnosno dodatno su ispitani sorbensi s manjom i većom masom od onog, primijenjenog u svim ostalim eksperimentima (vidi poglavlje 3.1.3.). Grafički prikaz koeficijenta razdiobe, K_d procijenjenih za različite mase TiO_2 prikazan je na **slici 27**.



Slika 27. Utjecaj mase sorbensa na afinitet sorpcije imatiniba i krizotiniba

(1 – suspenzija TiO_2 , 2 – TiO_2 -SM, 3 – TiO_2 /CNT-SM;
 1: minim. – 0,5 g/L, sred. – 1 g/L, maks. – 1,5 g/L;
 masa sloja 2: minim. – 0,023 g, sred. – 0,037 g, maks. – 0,052 g;
 masa sloja 3: minim. – 0,047 g, sred. – 0,072 g, maks. – 0,106 g)

Porast mase TiO_2 pozitivno utječe na sorpcijski afinitet oba farmaceutika uslijed povećanja broja aktivnih mjesta dostupnih za vezanje [162]. Opisani trend najviše je izražen kod TiO_2 suspenzije, štoviše uočen je linearan porast sorbiranog imatiniba s porastom mase sorbensa. Treba napomenuti da veća masa ili količina upotrijebljenog sorbensa ne znači uvijek nužno bolju učinkovitost procesa, odnosno iznad optimalne vrijednosti može doći do zasićenja

sorbensa i smanjene količine sorbirane tvari kao u slučaju nađenom u literaturi za dva sulfonamidna antibiotika i ugljične nanocijevi [162, 166].

4.3.6. Termodinamika procesa sorpcije

Radi opisivanja prirode procesa, odredili su se termodinamički parametri provođenjem procesa sorpcije pri 25, 30 i 35 °C (298; 303; 308 K). pH otopine namješten je na neutralnu vrijednost (pH 7). Temperatura ima različit učinak na sorpciju TiO_2 , ovisno o obliku (**tablica 26**). Sorpcija imatiniba na čestice TiO_2 u suspenziji smanjena je porastom temperature dok se na TiO_2 imobilizirani oblik gotovo ne mijenja trend vezanja, odnosno prisutan je blagi K_d porast s porastom temperature. Slično sorpcijsko ponašanje procijenjeno je i za krizotinib i sva tri TiO_2 oblika, što znači da je vjerojatno porast temperature doveo do povećanja difuzije molekula na površinu sorbensa i tek onda promovirao sorpciju [253]. Pregledom literature uočena je slična termodinamika procesa za farmaceutik ciprofloksacin [235], uvjetovana primijenjenom vrstom sorbensa kao i za imatinib.

Tablica 26. Termodinamički parametri procesa sorpcije imatiniba i krizotiniba

Uzorak	K_d , mL/g			ΔG° , kJ/mol			ΔH° , kJ/mol	ΔS° , J/mol
IMT	298 K	303K	308 K	298 K	303 K	308 K		
suspenzija TiO_2	213,8	61,9	49,7	-13,3	-10,4	-10,0	-57,9	-151,0
TiO_2 -SM	36,4	40,3	47,4	-8,8	-9,3	-9,5	10,4	64,6
TiO_2 /CNT-SM	82,3	82,5	88,7	-10,9	-11,1	-1,8	2,9	46,4
CRZ								
suspenzija TiO_2	233,8	268,8	271,7	-13,5	-14,3	-14,8	16,7	101,7
TiO_2 -SM	179,2	180,9	197,6	-10,1	-11,6	-11,9	3,82	55,8
TiO_2 /CNT-SM	234,1	325,2	357,0	-8,1	-8,7	-9,7	5,97	65,6

Termodinamički parametri Gibbsova slobodna energija, ΔG° , entalpija, ΔH° i entropija ΔS° izračunati su prema sljedećim jednadžbama [254]:

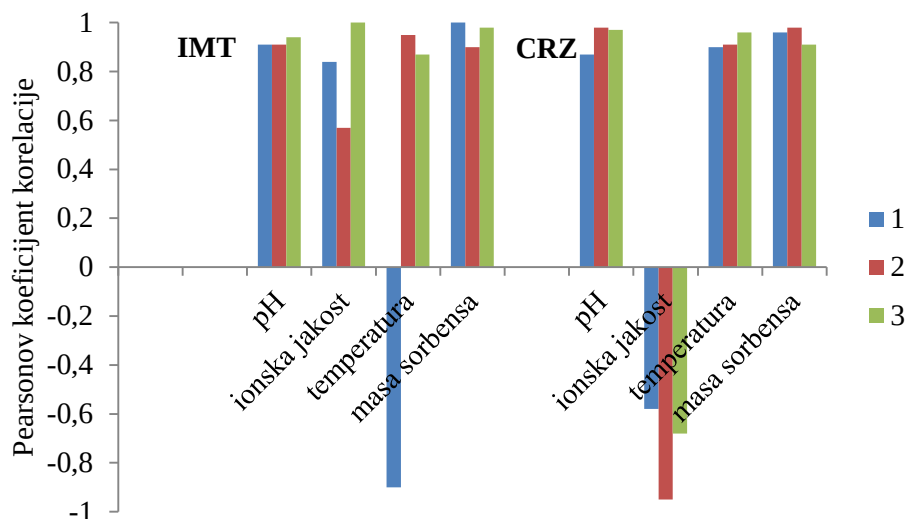
$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_d \quad (26)$$

$$\ln K_d = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (27)$$

Općenito, računanjem Gibbsove slobodne energije određenog procesa sorpcije može se dobiti uvid u prirodu procesa, odnosno je li vezanje analita i sorbensa rezultat određenih međumolekulskih interakcija ili dolazi do kemijskog vezanja na specifičnim površinskim mjestima sorbensa. ΔG° vrijednosti u rasponu od -20 do 0 kJ/mol ukazuju na fizisorpciju dok je kemisorpcija određena rasponom od -80 do -400 kJ/mol [237, 255]. Negativne vrijednosti Gibbsove slobodne energije procijenjene u rasponu od -1,8 do -14,8 kJ/mol za oba farmaceutika u ovom radu, upućuju na to da između imatiniba/krizotiniba i triju vrsta sorbensa dolazi do spontanog procesa fizisorpcije [133]. Farmaceutici pokazuju veći afinitet ka sorpciji što su ΔG° vrijednosti negativnije, kao rezultat povećanja pokretačkih molekularnih sila poput van der Waalsovih [256]. Pozitivne vrijednosti ΔH° i ΔS° ukazuju da je sorpcija krizotiniba na sve TiO_2 oblike, te imatiniba na oba tipa imobiliziranog TiO_2 endotermna reakcija [257] pri čemu porast temperature vodi do povećanog sorpcijskog kapaciteta. Za sorpciju imatiniba na TiO_2 u suspenziji vrijedi suprotno, odnosno dolazi do egzotermne reakcije popraćene smanjenjem K_d vrijednosti u rasponu od 25 do 35 °C i spontanosti procesa [176, 256].

4.3.7. Statistička analiza parametara koji utječu na sorpciju

Statistička analiza provedena je određivanjem intenziteta povezanosti između nezavisnih varijabli – ispitani parametri koji utječu na sorpciju i zavisne varijable – koeficijent sorpcije, K_d (**slika 28**). Pearsonov koeficijent korelacije, r , koji se primjenjuje za brojčane podatke u linearnom odnosu može poprimiti vrijednosti od -1 do +1 pri čemu pozitivan ili negativan predznak govori o smjeru povezanosti dvaju varijabli [258].



Slika 28. Pearsonovi koeficijenti korelacije između parametara koji utječu na sorpciju

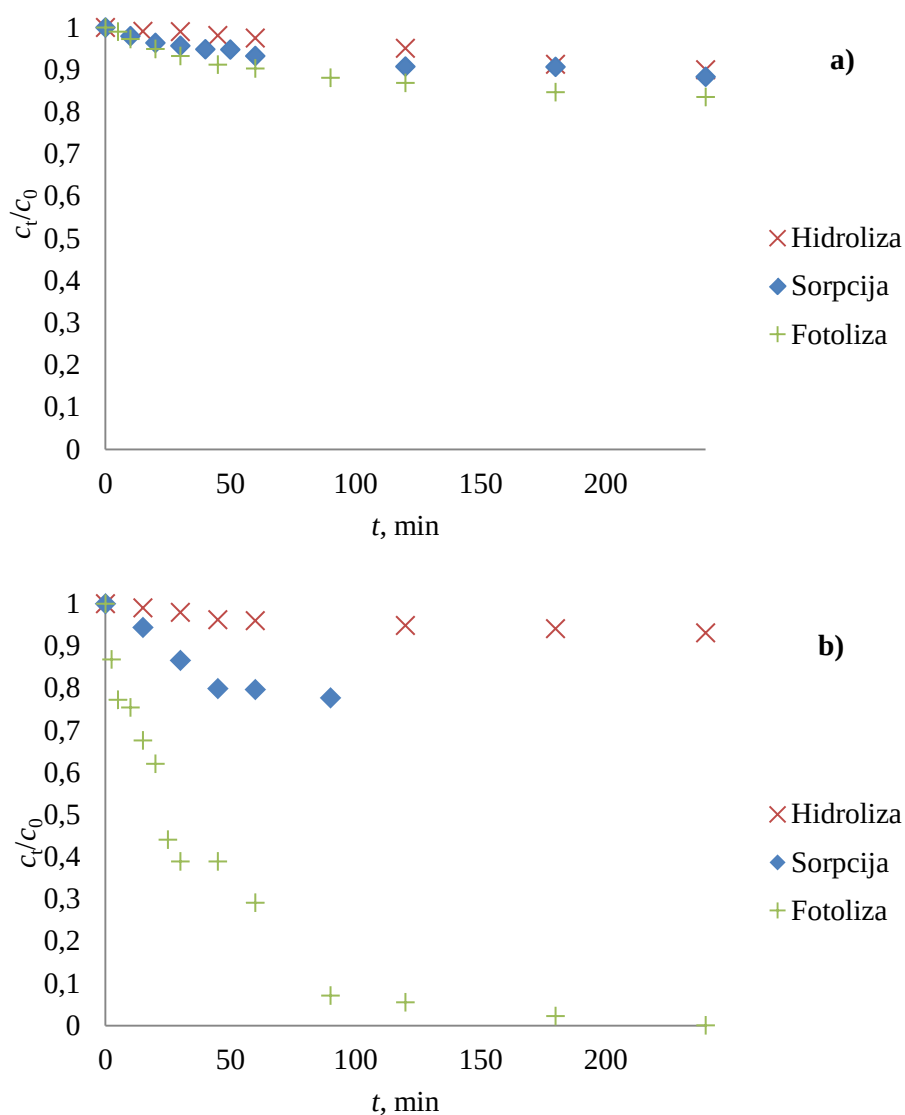
(1 – suspenzija TiO_2 , 2 – TiO_2 -SM, 3 – TiO_2/CNT -SM)

Sorpcija imatiniba na TiO_2 sorbense pokazala je čvrstu korelaciju s promatranim utjecajima s $r > 0,84$. Korelacija srednje jačine ($r = 0,57$) postignuta je za sorpciju imatiniba na TiO_2 -SM i ionsku jakost otopine. Slično ponašanje dobiveno je i za krizotinib, gdje jaka korelacija ($r = 0,87 - 0,98$) ukazuje na razmjernost među K_d i pH, temperature, te mase sorbensa. Promjenom ionske jakosti otopine krizotiniba postigla se srednje jaka, negativna koreliranost. Treba napomenuti da se statistička značajnost korelacije može nesumnjivo odrediti regresijskom analizom za veći broj parova podataka te da se istom ne mogu interpretirati uzročno posljedične veze rezultata.

4.4. Fotokatalitička razgradnja citostatika

Citostatici kao i druge klase farmaceutika nakon oralne ili intravenozne primjene izlučuju se u sustave za obradu otpadnih voda kao smjesa metabolita i nepromijenjenog oblika. Do sad razvijene konvencionalne metode obrade voda ne ulijevaju sigurnost radi održavanja dugoročne čistoće pitkih voda zbog pronalaska ovako malih molekula u raznim izvorima, od otpadnih voda, podzemnih i površinskih, čak i pitkih. Podizanjem svijesti o zaštiti okoliša, desecima godina usmjerava se pažnja ka razvoju djelotvornijih metoda za neselektivno uklanjanje organskih zagađivala iz vode poput farmaceutika. Stoga se u ovom radu koristi

fotokataliza kao jedan od naprednih oksidacijskih procesa u svrhu uklanjanja imatiniba i krizotiniba pod utjecajem raznih procesnih parametara (pH, početna koncentracija tvari, utjecaj matice vode) s konačnim ciljem predviđanja njihove sudbine u vodenom okolišu. Isto tako, svaki razgradni proces uklanjanja tvari dovodi do nastanka novih, potencijalno toksičnijih po okoliš pa je cilj uz identifikaciju razgradnih produkata i procijeniti toksičnost. Za razliku od eksperimenata sorpcije, za fotokatalitičku razgradnju korišten je TiO_2 imobiliziran na staklenu mrežicu (**slika 14**) radi pojednostavljenja pokusa (izostanak separacije praha i vodene faze) te mogućnosti ponovne uporabe fotokatalizatora. Također, provedeni su preliminarni eksperimenti (10 mg/L, pH bez namještanja) prije fotokatalitičke razgradnje (**slika 29**) koji su pokazali da nije došlo do drastičnog smanjenja koncentracije uslijed hidrolize (otopina u mraku) i sorpcije analita na pravokutnu izvedbu fotokatalizatora. Tijekom fotolitičke razgradnje imatinib se pokazao kao fotostabilna komponenta što je u skladu s provedenom studijom prisilne razgradnje tijekom 24 i 72 sata izlaganja citostatika UV zračenju [259]. Krizotinib se fotolitički razgradio kroz 240 minuta reakcije pod UVA izvorom zračenja, no naredni eksperimenti uključivali su eksperimente s fotokatalizatorom koji će poboljšati razgradnju citostatika. Fotolitičke reakcije oba citostatika opisane su kinetikom pseudo-prvog reda prikazanoj na slikama **P1** i **P2** koje se nalaze u Prilogu.



Slika 29. Preliminarni eksperimenti provedeni prije fotokatalize za imatinib (a) i krizotinib (b)

4.4.1. Utjecaj pH i početne koncentracije citostatika na fotokatalitičku razgradnju

Fotokataliza primarno ovisi o raznim parametrima (količina fotokatalizatora, izvor zračenja, itd.) među kojima su ispitani pH-vrijednost i koncentracija zagađivala kao jedni od utjecajnijih. Ispitivanjem zasebno jednog po jednog parametra, konvencionalan pristup, iako najčešće korišten optimiranjem procesa, ne daje značajna predviđanja i opise međusobnih interakcija varijabli, vremenski dugotrajnim eksperimentima. Korištenjem dizajna

eksperimenata (DOE)³³ odnosno odabirom odgovarajućeg modela i alatima za statističku analizu, smanjuje se broj eksperimenata i povećava učinkovitost određivanja značajnih varijabli uzimajući u obzir njihove međusobne odnose [108, 260]. Kinetika razgradnje procijenjena je pri trima različitim pH-vrijednostima otopine (pH 5, 7 i 9) i koncentracije citostatika od 5 do 15 mg/L primjenom modela odzivnih površina (RSM). Razgradnja imatiniba i krizotiniba odgovarala je kinetici prvog reda u cijelom ispitivanom koncentracijskom području što potvrđuju vrijednosti koeficijenta determinacije, R^2 veće od 0,9512 za imatinib i 0,9172 za krizotinib. Dobivene konstante brzine razgradnje koristile su se kao zavisna varijabla modela fotokatalitičkog procesa radi određivanja utjecaja pH i početne koncentracije farmaceutika.

Tablica 27. Matrica potpunog faktorskog planiranja za fotokatalizu citostatika s dvije nezavisne varijable izražene kao stvarne vrijednosti i eksperimentalno utvrđene konstante kinetike razgradnje pseudo-prvog reda

	Parametar		konstanta brzine kinetike pseudo-prvog reda, k (min ⁻¹)		R^2	
	pH	γ (zagađivalo), mg/L	IMT	CRZ	IMT	CRZ
1	5	5	0,0168	0,1397	0,9512	0,9767
2	7	5	0,0154	0,1234	0,9753	0,9556
3	9	5	0,0148	0,0962	0,9535	0,9224
4	5	10	0,0137	0,0718	0,9654	0,9885
5	7	10	0,0115	0,0690	0,9585	0,9223
6	9	10	0,0111	0,0421	0,9745	0,9172
7	5	15	0,0148	0,1041	0,9808	0,9354
8	7	15	0,0135	0,0815	0,9908	0,9962
9	9	15	0,0113	0,0533	0,9891	0,9952

U **tablici 27** nalazi se plan eksperimenta s odgovarajućim odzivima procesa (k), postavljen primjenom potpunog faktorskog planiranja na tri razine. Primjenom višestruke linearne regresije na matrici podataka oba farmaceutika, utjecaj procesnih parametara opisan je RSM modelima, odnosno softverski su predviđene kvadratne polinomne jednadžbe, prikazane u **tablici 28**. Točnost i značajnost modela procijenjeni su statističkim parametrima (p , R^2 , R_{adj}^2) dobivenim analizom varijance. R^2 vrijednosti veće od 0,98 te p -vrijednosti manje od 0,05

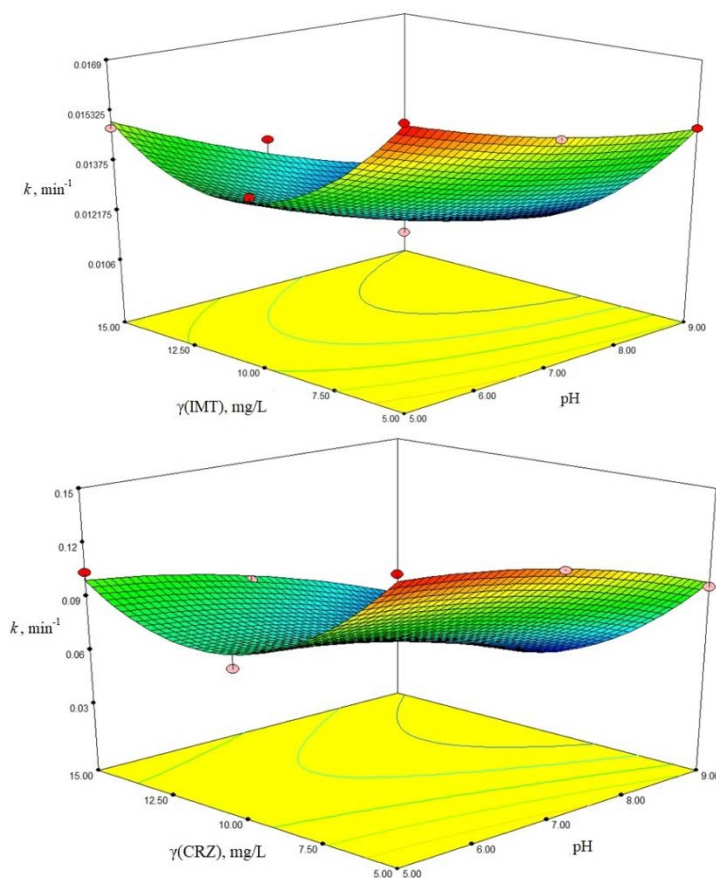
³³eng. *Design of experiments*, DOE

ukazuju na prikladnost i značajnost oba modela (**tablica 28**). Analizom varijance statistički se potvrdio utjecaj pH i početne koncentracije na proces razgradnje imatiniba i krizotiniba. Kinetika razgradnje oba farmaceutika usporavala se povećanjem pH-vrijednosti u rasponu od 5 do 9. Promjenom pH-vrijednosti otopine direktno se utječe na tijek fotokatalitičke reakcije radi promjene naboja površine fotokatalizatora i stupnja ionizacije spoja koji se razgrađuje, te stvaranja reaktivnih vrsta koje sudjeluju u razgradnji [133, 156, 261]. Izoelektrična točka TiO_2 nalazi se u rasponu 6 – 6,5 [172, 241, 261], stoga navedeni fotokatalizator može poprimiti pozitivan ili negativan naboj, ovisno o pH. Razmatrajući konstante ionizacije za ispitivane farmaceutike ($\text{p}K_{\text{k}} = 7,8 - 8,07$ za imatinib; $\text{p}K_{\text{k1}} = 5,6$, $\text{p}K_{\text{k2}} = 9,4$ za krizotinib), imatinib je prisutan u neutralnom obliku u bazičnim uvjetima dok krizotinib poprima pozitivan naboj u kiselim uvjetima te negativan pri pH većoj od 9. Povećanjem bazičnosti otopine, prisutno je više hidroksidnog iona na površini katalizatora koji mogu uzrokovati nastanak više hidroksilnih radikala i na taj način promovirati razgradnju tvari, no u slučaju imatiniba i krizotiniba došlo je do suprotne pojave. Naime, smanjenje učinkovitosti fotokatalize farmaceutika uslijed povećanja bazičnosti medija može se pripisati pojavi 'OH "scavenging" efekta te pojave odbojnih sila u mediju zasićenom navedenim ionima. Fotokatalitička razgradnja imatiniba, ranije provedena također je pokazala favoriziranu razgradnju pri kiselijim uvjetima (pH 5,4 – 6) [102]. Nadalje, složenost iznad opisanog trenda razgradnje može se dodatno pojasniti utjecajem sorpcije prethodno objašnjenim u poglavlju 4.3.3. [262]. Privlačne sile s povećanjem pH-vrijednosti uzrokuju veći sorpcijski afinitet farmaceutika prema TiO_2 što u konačnici može dovesti do zasićenja, odnosno sprječavanja fotoaktivacije mjesta na površini katalizatora predviđenih za nastanak radikala čime se posljedično smanjila i učinkovitost fotokatalize. Utjecaj sorpcije također može biti uzrok i najbolje razgradnje pri najnižoj koncentraciji farmaceutika pri svim ispitanim pH-vrijednostima. Prema dobivenim RSM modelima kao optimalne vrijednosti za provedbu daljnjih eksperimenata fotokatalize odabrane su vrijednosti pH 5 i koncentracija tvari 5 mg/L. Pregledom literature, dobiveni su slični rezultati i u slučaju fotokatalitičke razgradnje ciprofloksacina [133]. Interaktivni odnos između dvaju nezavisnih i jedne zavisne varijable prikazan je 3D grafovima pri čemu dio plohe obojan crvenom bojom predstavlja područje najbrže razgradnje (**slika 30**). Viši pH otopine proizvodi više 'OH radikala koji iznad određene vrijednosti mogu imati negativan učinak na razgradnju uslijed djelovanja odbojnih sila između negativno nabijenih iona i fotokatalizatora te smanjenu aktivnost površine [241]. Također, ubrzanje razgradnje pri najnižoj ispitanoj koncentraciji farmaceutika može biti rezultat pojave zasićenja aktivnih mjesta na katalizatoru s većim brojem molova zagađivala i

smanjene duljine puta fotona koji prodiru do reakcijskog sustava [133, 263]. Treba napomenuti da su se radi točnog određivanja rezidualnih koncentracija tvari i identifikacije razgradnih produkata dostupnim analitičkim metodama primijenile veće koncentracije imatiniba i krizotiniba od onih uobičajeno praćenih u okolišu (ng/L/ do µg/L). No, pretpostavlja se sličan trend razgradnje koji slijedi kinetiku prvog reda i za realne sustave u kojima se nalaze onečišćujuće tvari puno nižih koncentracija [264].

Tablica 28. Jednadžbe i statistički parametri RSM modela za fotokatalitičku razgradnju citostatika

Farmaceutik	Jednadžba modela	Statistički podaci			Utjecajni parametri modela
		R^2	R^2_{adj}	p	
IMT	$k=0,012-1,33\cdot10^{-3}A-1,217\cdot10^{-3}B-3,5\cdot10^{-4}AB+3\cdot10^{-4}A^2+2,35\cdot10^{-3}B^2$	0,9813	0,9517	0,0081	pH, γ (IMT)
CRZ	$k=0,065-0,021A-0,020B-1,825\cdot10^{-3}-6,767\cdot10^{-3}A^2+0,039B^2$	0,9840	0,9572	0,0068	pH, γ (CRZ)



Slika 30. Prikaz utjecaja pH i početne koncentracije tvari kao procesnih parametara fotokatalize

Mjerenjem apsorpcijskih spektara, na temelju smanjenja apsorpcijskih maksimuma potvrđena je fotokatalitička razgradnja oba citostatika pri izabranim optimalnim uvjetima (**slike P3 i P4** u Prilogu).

Dodatno su provedeni eksperimenti u kojima se pratila kinetika izravne fotolitičke razgradnje citostatika pri prethodno određenim optimalnim uvjetima fotokatalize koji potvrđuju važnost korištenja TiO_2 koji potaknut svjetlošću promovira nastanak radikalskih vrsta odgovornih za brže smanjenje koncentracije analita. Usporedbom reakcija fotokatalize i fotolize pri 5 mg/L i pH 5 postignuta je 2,5 puta sporija razgradnja krizotiniba ($k = 0,055 \text{ min}^{-1}$; $R^2 = 0,9891$) i skoro četiri puta sporija razgradnja za imatinib ($k = 0,0046 \text{ min}^{-1}$; $R^2 = 0,9822$) bez dodatka fotokatalizatora. Smanjenje koncentracije citostatika tijekom fotolize prikazano je na **slikama P5 i P6** u Prilogu.

4.4.2. Utjecaj matice vode

Mikrozagađivala, među kojima su i farmaceutici pronađeni su u raznim vrstama voda, od otpadnih, podzemnih, površinskih pa sve do pitkih izvora čime se ukazuje na različitost matica koje mogu doprinijeti učinkovitosti fotokatalitičkog procesa. Hoće li taj doprinos biti pozitivan ili pak negativan, pokazalo se nizom eksperimenata gdje su se razne anorganske soli kao uobičajene sastavnice voda dodavale pojedinačno u otopinu s farmaceutikom. Također, utjecaj organske tvari ispitao se korištenjem huminskih kiselina kao reprezentativnog predstavnika pri čemu je poznato da najčešće sporedne tvari u vodi zauzimaju aktivna mjesta na katalizatoru i troše hidroksilne radikale. Doprinos razgradnji pojedinog iona opisan je kinetikom pseudo-prvog reda i rezultati su sumarno prikazani u **tablici 29**.

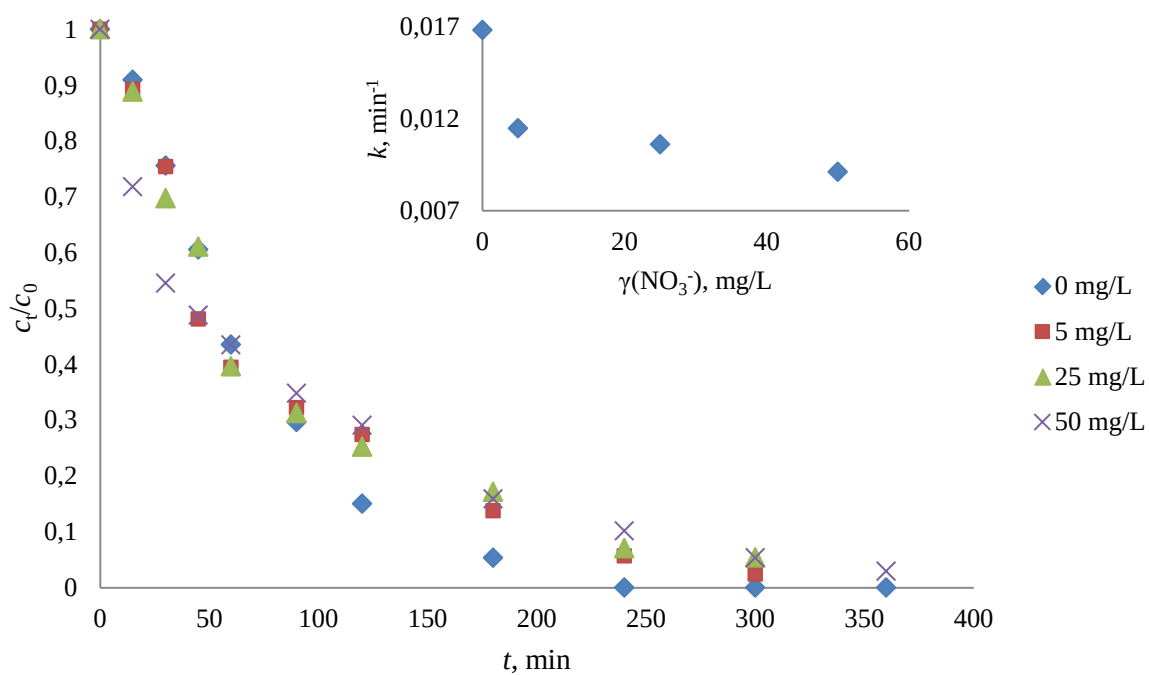
Tablica 29. Utjecaj anorganskih i organskih tvari na kinetiku razgradnje citostatika

Sastav vode	koncentracija, mg/L	IMT			CRZ		
		k , min ⁻¹	R^2	$t_{1/2}$, min	k , min ⁻¹	R^2	$t_{1/2}$, min
bez dodatka	0	0,0168	0,9912	41,26	0,1380	0,9767	5,02
nitrati	5	0,0115	0,9810	60,27	0,1361	0,9806	5,09
	25	0,0106	0,9768	65,39	0,0813	0,9848	8,53
	50	0,0091	0,9924	76,17	0,0523	0,9902	13,25
hidrogenkarbonati	50	0,0167	0,9892	41,51	0,0157	0,9406	44,15
	100	0,0178	0,9827	38,94	0,0188	0,9408	36,87
	250	0,0128	0,9838	54,15	0,0809	0,9338	8,57
kloridi	10	0,0134	0,9853	51,73	0,0584	0,9635	11,87
	100	0,0113	0,9473	61,34	0,0307	0,9654	22,58
	1000	0,0053	0,9590	130,78	0,0496	0,9582	13,97
fosfati	10	0,011	0,9753	63,01	0,0221	0,9346	31,36
	50	0,0126	0,9796	55,01	0,0255	0,9326	27,18
	100	0,0124	0,9617	55,90	0,0257	0,9330	26,97
huminske kiseline	5	0,0113	0,9927	61,34	0,0332	0,9509	20,88
	10	0,0066	0,9910	105,02	0,0099	0,9647	70,01
	20	0,0091	0,9728	76,17	0,0052	0,9484	133,30

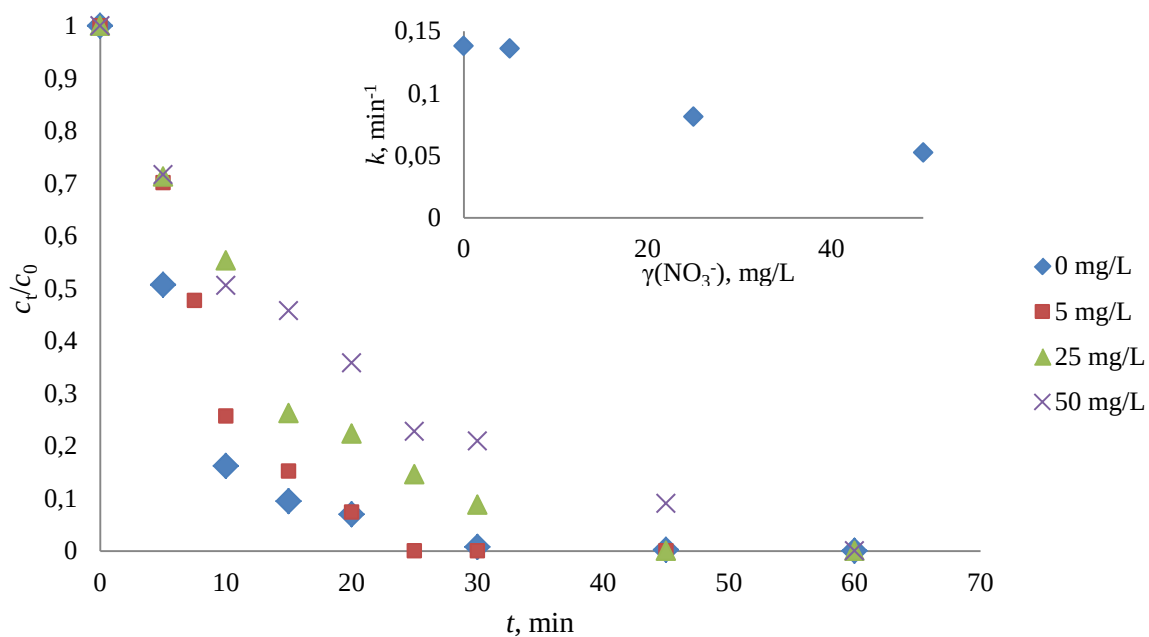
4.4.2.1. Utjecaj nitrata na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika

Ispitan je utjecaj nitrata pri koncentracijama 5, 25 i 50 mg/L kako bi se obuhvatile vrijednosti relevantne za okoliš koje se u prirodnim vodama uobičajeno nalaze između 0,62 do 62 mg/L [265]. Interakcija između nitrata i kinetike razgradnje može imati dvostruki učinak, odnosno njihova prisutnost u vodama može povećati učinkovitost razgradnje promovirajući nastanak hidroksilnih radikala [265] ili suprotno navedenom, djeluju kao hvatači radikala i usporavaju fotokatalizu prema reakcijama (28) i (29) [266].





Slika 31. Utjecaj nitrata na fotokatalitičku razgradnju imatiniba



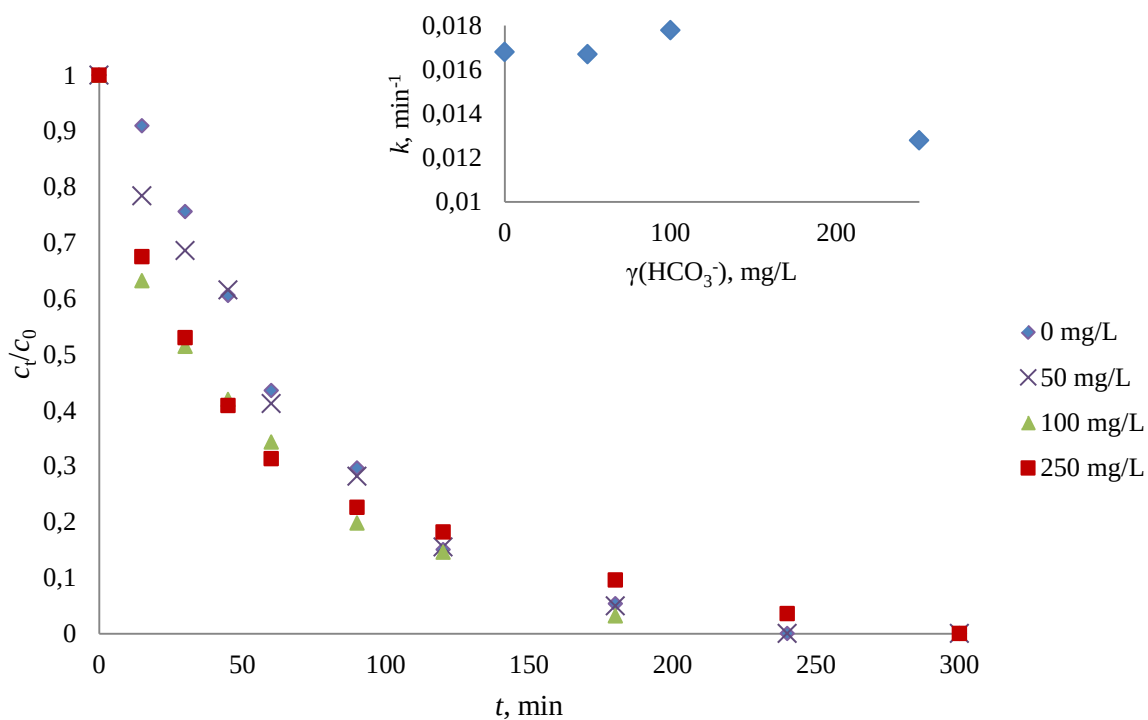
Slika 32. Utjecaj nitrata na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

Rezultati (slika 31 i 32) su pokazali da se razgradnja imatiniba i krizotiniba usporava s povećanjem koncentracije nitrata u otopini. U prethodno objavljenim radovima nitrati su

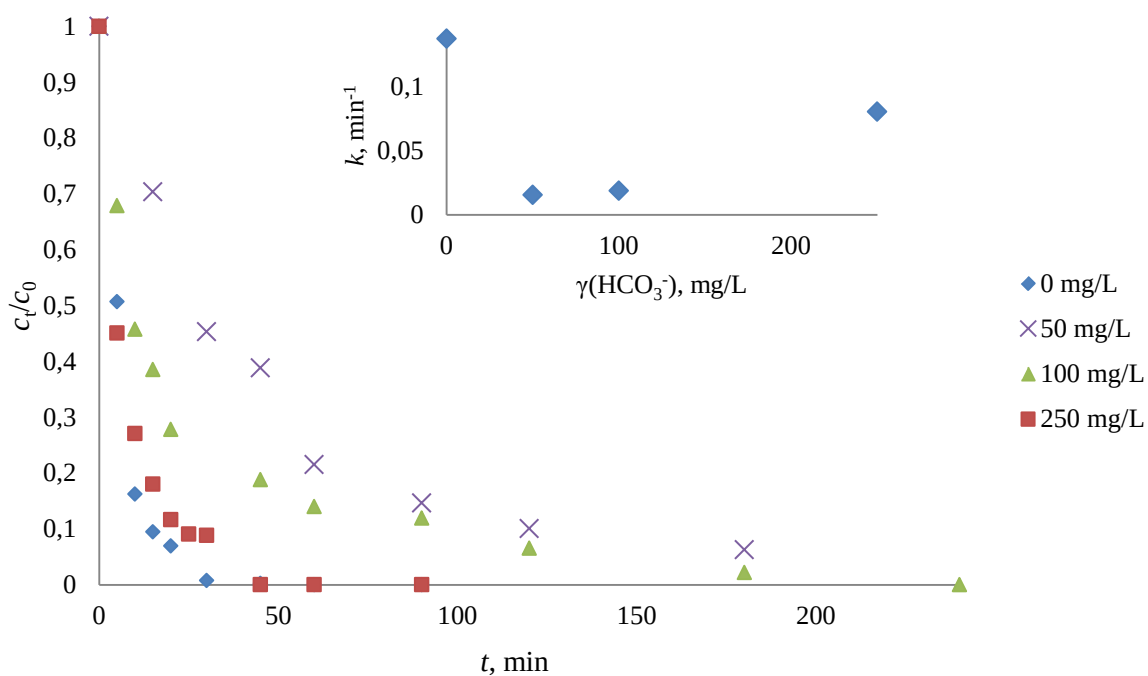
također uzrokovali negativan učinak na fotokatalitičku razgradnju nikosulfurona [266] te karbamazepina [267]. Smanjenje kinetike razgradnje farmaceutika može se pripisati sposobnošću nitrata da hvataju radikale i sorpcijom zauzimaju aktivna mjesta na površini katalizatora. Dodatnim eksperimentom, provedenim bez dodatka TiO_2 u reaktoru gdje je došlo do dodatne inhibicije fotolitičkog procesa razgradnje ($k(\text{IMT}) = 0,0045 \text{ min}^{-1}$; $k(\text{CRZ}) = 0,0113 \text{ min}^{-1}$) potvrdio se veći učinak nitrata kao hvatača radikala u fotoinduciranoj reakciji (**slika P7** u Prilogu).

4.4.2.2. Utjecaj hidrogenkarbonata na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika

Hidrogenkarbonati su, poput nitrata sveprisutni u prirodnim vodama pa se njihov utjecaj na fotokatalitičku razgradnju ispitao dodatkom aniona u otopinu citostatika u koncentracijskom rasponu od 50 do 250 mg/L, simulirajući stvarne uvjete u okolišu [267, 268]. Iako hidrogenkarbonati ne apsorbiraju Sunčevo zračenje, njihov negativni učinak na razgradnju krizotiniba može biti posljedica hvatanja hidroksilnih radikala pri čemu nastaju manje reaktivni karbonatni radikali ($k(\text{CO}_3^{\cdot-}) = 10^6 - 10^7 \text{ L/mol s}$; $k(\cdot\text{OH}) = 10^7 - 10^{10} \text{ L/mol s}$) [269, 270]. Njihovim dodatkom pH-vrijednost otopina iznosila je 8,4 – 8,7 za imatinib te 8 – 8,5 za krizotinib što je značilo da su hidrogenkarbonati prevladavajuća specija u vodenim otopinama ($\text{p}K_{\text{k1}}(\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-) = 6,37$; $\text{p}K_{\text{k2}}(\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}) = 10,32$) [271]. Odnosno, povećanjem koncentracije hidrogenkarbonata povećala se i bazičnost otopina (više hidroksilnih radikala) čime se u konačnici prolongirala razgradnja citostatika. Hidrogenkarbonati su pri najnižoj koncentraciji pokazali znatno manji učinak na fotokatalizu imatiniba. S druge strane, vidljivo je blago ubrzanje kinetike razgradnje imatiniba pri 100 mg/L HCO_3^- što se može pripisati kompenzaciji s novonastalim karbonatnim radikalima s visokim oksidativnim potencijalom te sposobnošću smanjenja rekombinacije elektrona i šupljina hvatanjem elektrona iz vodljivog pojasa [264]. Fotokatalitička razgradnja citostatika prikazana je na **slikama 33 i 34**.



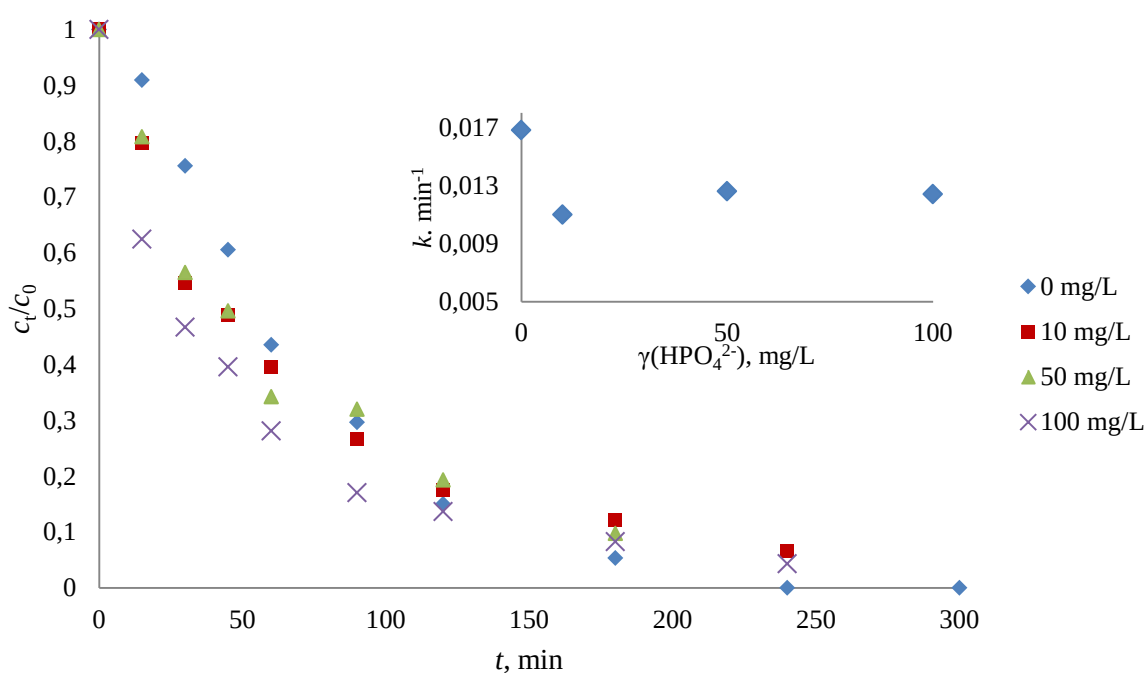
Slika 33. Utjecaj hidrogenkarbonata na fotokatalitičku razgradnju imatiniba



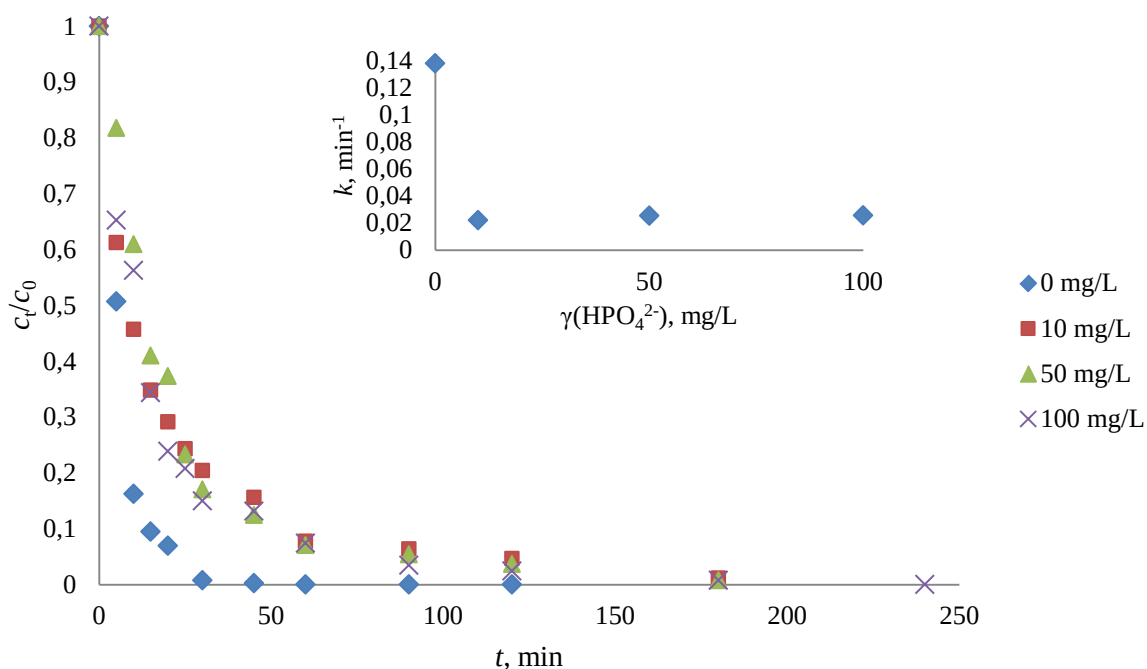
Slika 34. Utjecaj hidrogenkarbonata na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

4.4.2.3. Utjecaj fosfata i klorida na kinetiku fotokatalitičke razgradnje citostatika

Prisutnost fosfatnih iona imala je negativan utjecaj na fotokatalizu imatiniba i krizotiniba (slika 35 i 36) čime se potvrđuje visoki afinitet fosfata za sorpciju na površini imobiliziranog TiO_2 fotokatalizatora u odnosu na ciljane molekule [264, 271]. Prethodne studije pokazale su i pozitivno djelovanje na razgradnju jer sorpcijom fosfata, katalizator može poprimiti negativan naboj, spriječiti rekombinaciju parova elektron-šupljina i omogućiti nastanak slobodnih hidroksilnih radikala neophodnih za reakciju [272, 273].



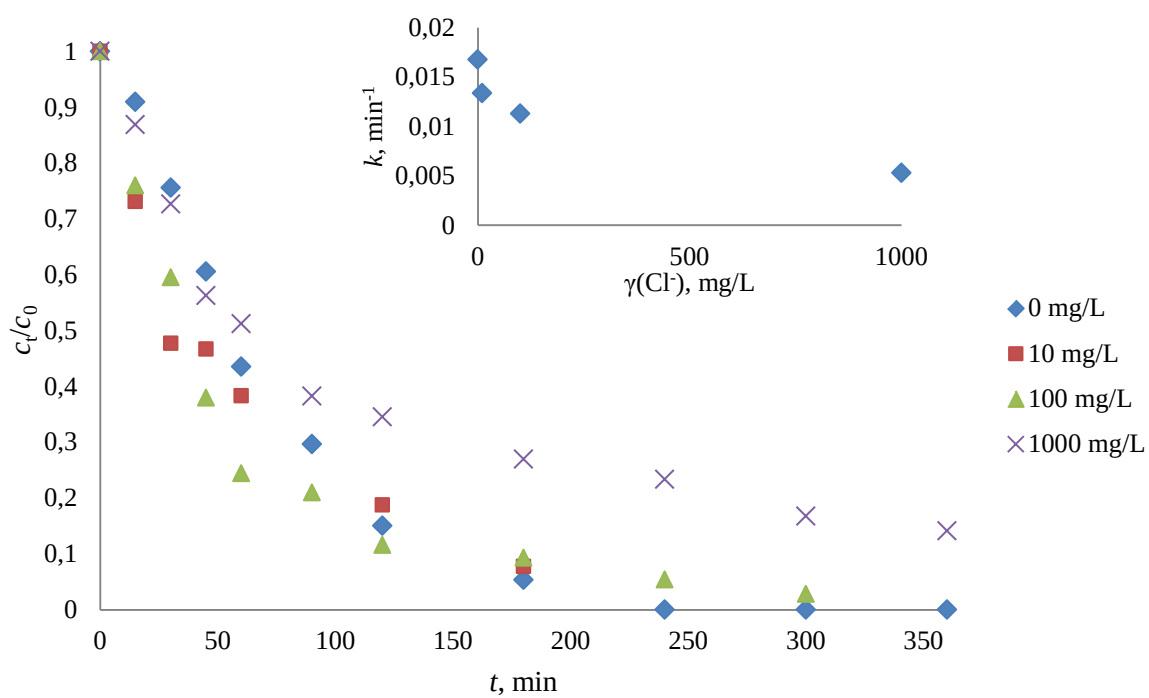
Slika 35. Utjecaj fosfata na fotokatalitičku razgradnju imatiniba



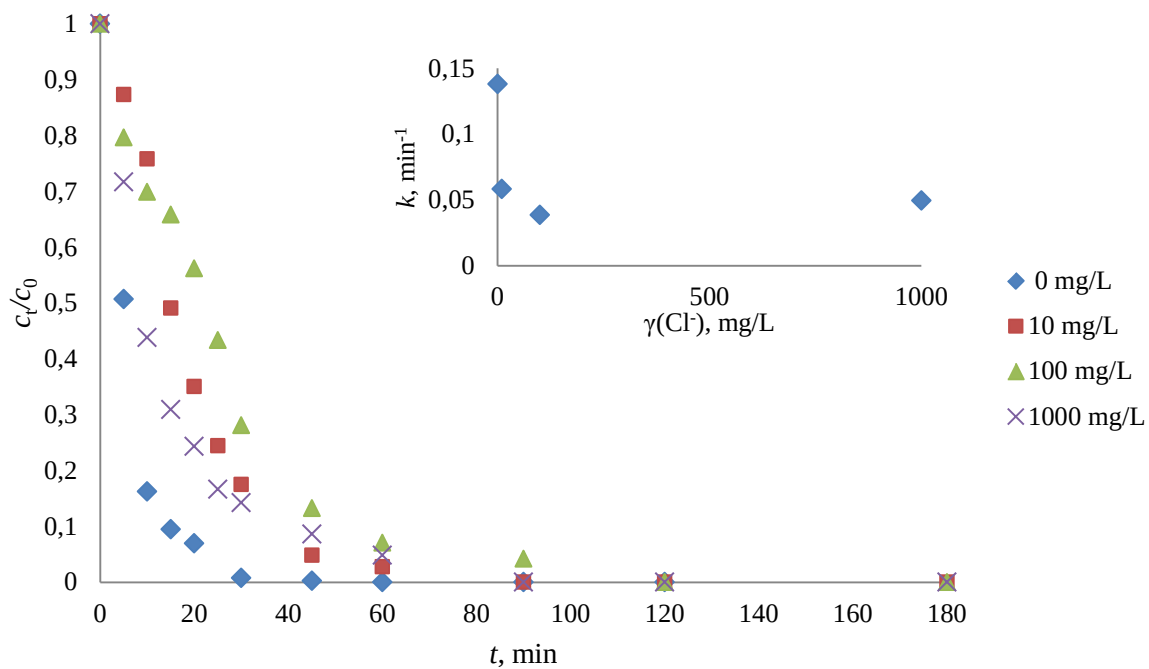
Slika 36. Utjecaj fosfata na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

Utjecaj kloridnih iona također ne treba biti zanemaren s obzirom da su usporili razgradnju oba farmaceutika pri sve tri ispitane koncentracije (**slika 37** i **38**). Kloridi, kao i većina prisutnih anionskih vrsta u vodi pokazuju inhibicijsko djelovanje zbog sorpcije na katalizator i hvatanja h^+ i $\cdot\text{OH}$ radikala prema navedenim reakcijama [266, 267]:





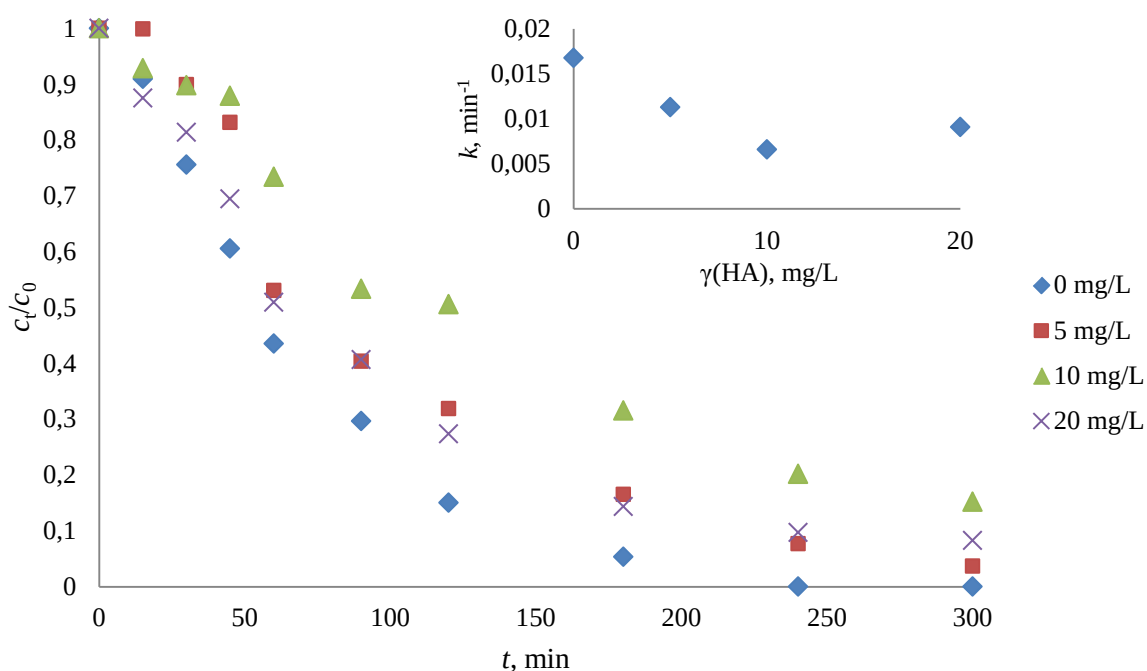
Slika 37. Utjecaj klorida na fotokatalitičku razgradnju imatiniba



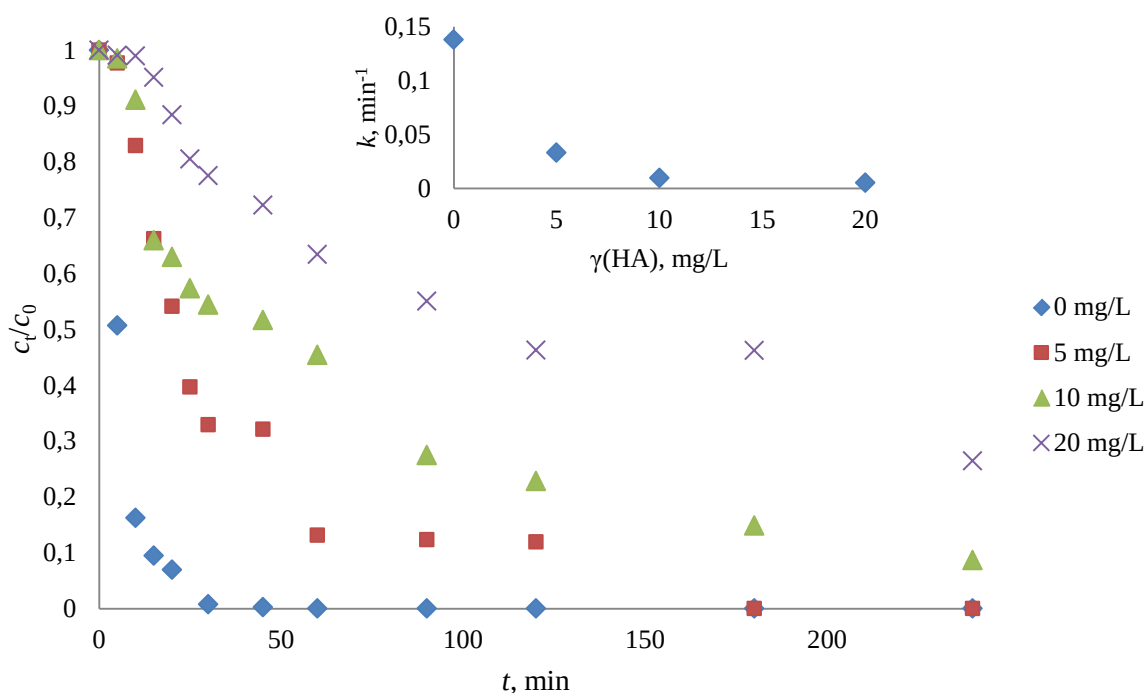
Slika 38. Utjecaj klorida na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

4.4.2.4. Utjecaj huminskih kiselina na kinetiku razgradnje citostatika

Provedena je fotokatalitička razgradnja imatiniba i krizotiniba u prisustvu huminskih kiselina kao reprezentativne organske tvari u prirodnim vodama čija se koncentracija uobičajeno nalazi ispod 10 mg/L [146, 274]. Utjecaj huminskih kiselina ispitan je također pri tri koncentracije. Huminske kiseline usporile su razgradnju oba citostatika. Povećanjem koncentracije organske tvari, njihov utjecaj bio je značajniji (slika 39 i 40).



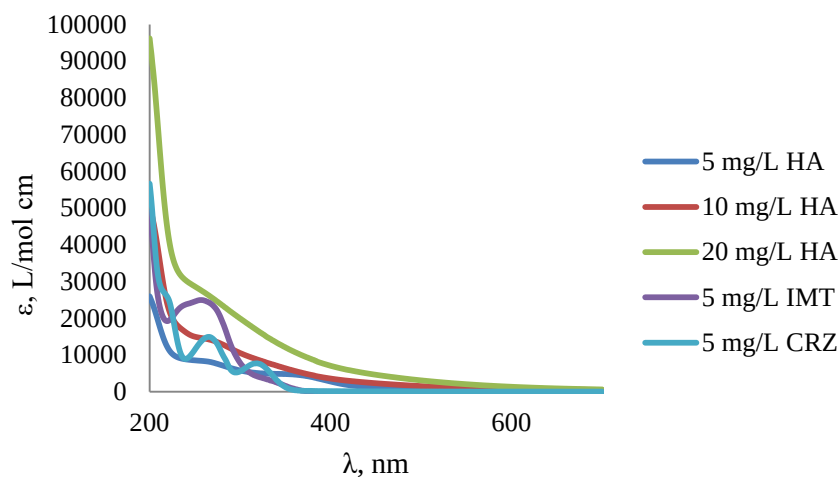
Slika 39. Utjecaj huminskih kiselina na fotokatalitičku razgradnju imatiniba



Slika 40. Utjecaj huminskih kiselina na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

Njihovo inhibicijsko djelovanje može biti pripisano uobičajenoj ulozi hvatača slobodnih radikala u otopini jer su to molekule bogate elektronima, zauzimanju aktivnih mjesta na katalizatoru te efektu zasjenjenja³⁴ kao posljedica apsorpcije zračenja huminskih kiselina širokog spektra valnih duljina, a ne samo od strane ciljanih analita (imatiniba i krizotiniba) [275]. Na **slici 41** prikazani su apsorpcijski spektri citostatika i huminskih kiselina pri čemu se može zaključiti da bi najsporija razgradnja pri najvećoj koncentraciji huminskih kiselina mogla biti rezultat najveće apsorpcije zračenja.

³⁴eng. *light attenuation effect*



Slika 41. UV-Vis spektri imatiniba, krizotiniba i huminskih kiselina u vodenoj otopini

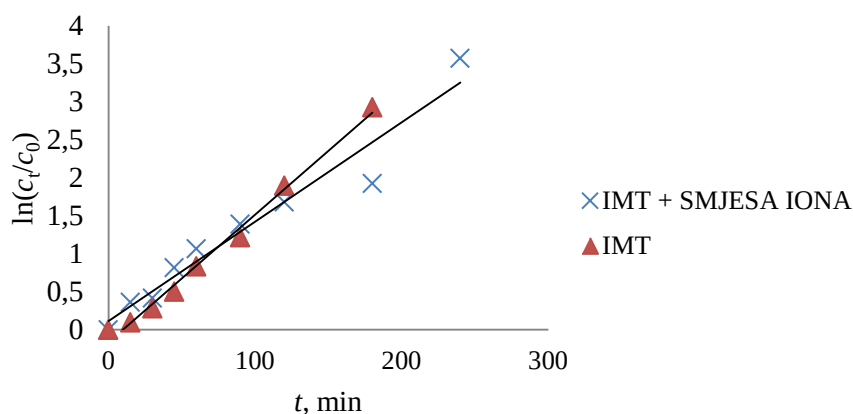
Međutim, pretpostavlja se da će negativan utjecaj huminskih kiselina ipak u najvećoj mjeri biti posljedica sorpcije na TiO_2 te reakcija s radikalima zbog činjenice da huminske kiseline najviše apsorbiraju UV zračenje u području oko 250 nm [276] dok su se eksperimenti provodili pri 365 nm. Dodatnim eksperimentom s huminskim kiselinama (5 mg/L) i izopropanolom kao hvatačem hidroksilnih radikala ispitaio se mehanizam fotokatalitičke razgradnje farmaceutika. Dobiveni rezultati (**slika P8** u Prilogu) potvrđuju ulogu huminskih kiselina kao hvatača radikala s obzirom da je došlo do smanjenja konstante brzine razgradnje i imatiniba i krizotiniba ($k = 0,0101 \text{ min}^{-1}$ za IMT; $k = 0,0126 \text{ min}^{-1}$ za CRZ).

Treba napomenuti da pored negativnog djelovanja huminskih kiselina na brzinu razgradnje, pregledom literature prepoznat je i suprotan trend, odnosno apsorpcija zračenja u širokom rasponu UV spektra može i potaknuti stvaranje oksidirajućih reaktivnih vrsta i tako promovirati uklanjanje zagađivala u nekim slučajevima [264, 265, 277].

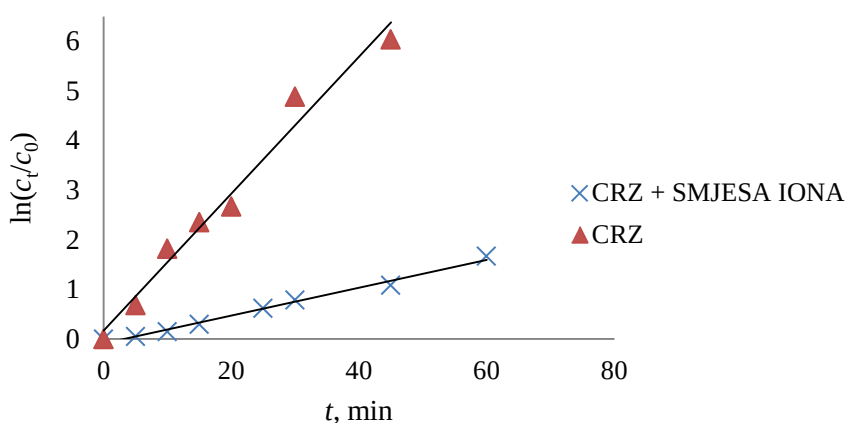
4.4.2.5. Utjecaj realne matice vode

Budući da su zagađivala, a među njima i farmaceutici, prijetnja realnim vodama, njihovo uklanjanje iz istih ovisit će o međusobnom utjecaju svih sastavnica vode. Iz tog razloga proveli su se eksperimenti fotokatalize imatiniba i krizotiniba uz dodatak svih anorganskih soli i huminskih kiselina u reakcijsku otopinu čiji se pojedini utjecaj na razgradnju prethodno

opisao. Smjesa se sastojala od 5 mg/L NO_3^- , 100 mg/L HCO_3^- , 10 mg/L HPO_4^{2-} , 100 mg/L Cl^- , i 5 mg/L huminskih kiselina. Rezultati prikazani na **slici 42** i **43**. pokazuju sinergijski utjecaj specija koje su svojom prisutnošću u otopini uzrokovale sporiju razgradnju za oba citostatika ($k = 0,0131 \text{ min}^{-1}$ za IMT; $k = 0,0281 \text{ min}^{-1}$ za CRZ). Zbog različitog afiniteta i međusobne kompeticije pojedine vrste anorganske i organske tvari za sorpciju na aktivna mjesta fotokatalizatora i hvatanja radikala, u slučaju fotokatalize imatiniba nije došlo do značajnog usporavanja razgradnje u usporedbi s pojedinačnim doprinosom svake vrste dok je uklanjanje krizotiniba pod većim utjecajem matrice vode (**tablica 30**).

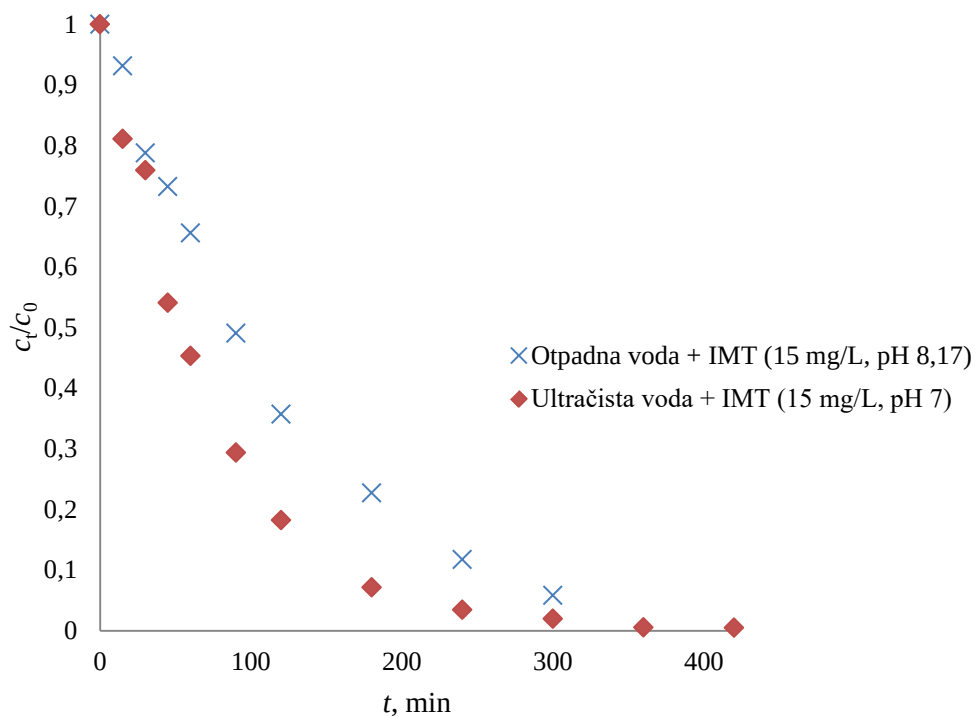


Slika 42. Usporedba kinetike razgradnje imatiniba u ultračistoj vodi i smjesi s ionima koji se uobičajeno nalaze u vodi

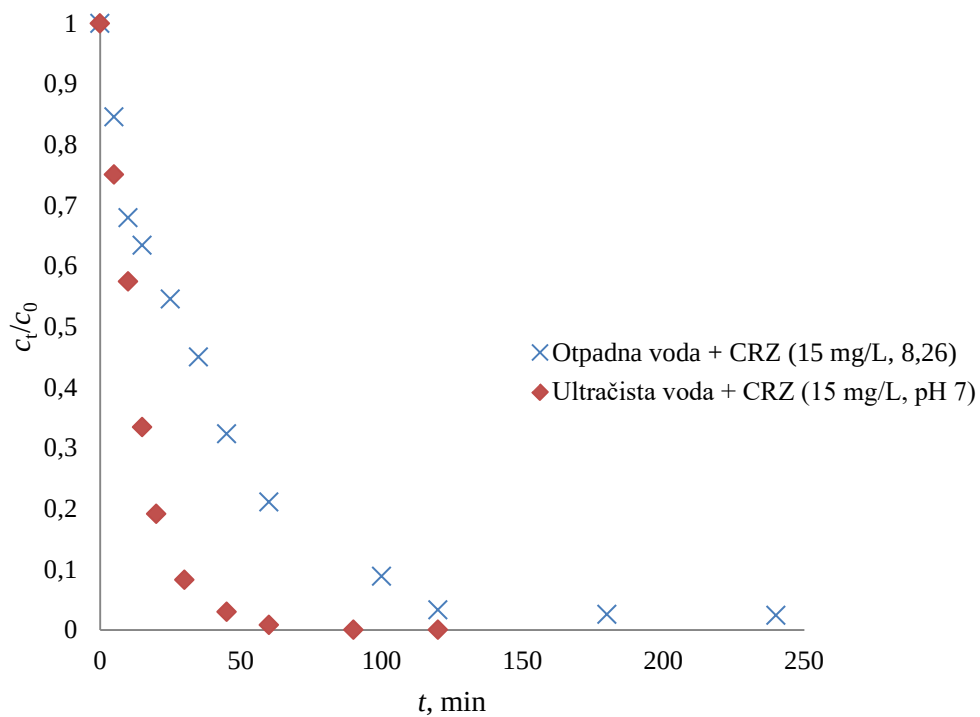


Slika 43. Usporedba kinetike razgradnje krizotiniba u ultračistoj vodi i smjesi s ionima koji se uobičajeno nalaze u vodi

Kao izvor citostatika u vodama pretežno se spominju otpadne vode i to u blizini bolnica pa se proveo eksperiment u kojem se umjesto ultračiste vode koristio uzorak smjese komunalne i bolničke otpadne vode kako bi se dobio uvid u uspješnost uklanjanja imatiniba i krizotiniba iz realne matice vode u kojoj se njihova pojava i očekuje. Korištena je veća koncentracija citostatika u odnosu na prethodno provedene eksperimente (15 mg/L) zbog utjecaja matice i prisutnosti drugih onečišćenja koji mogu utjecati na detekciju i kvantifikaciju analita. Kinetika fotokatalitičke razgradnje imatiniba i krizotiniba bila je sporija u usporedbi s eksperimentom u ultračistoj vodi (**slika 44 i 45**), čime se ponovno potvrdila složenost različitih sastojaka vode poput drugih vrsta farmaceutika ili huminskih kiselina (najznačnije komponente organske tvari u prirodnim i otpadnim vodama) koji će reagirati s hidroksilnim radikalima ili smanjiti broj aktivnih mjesta na TiO_2 [148] i tako spriječiti učinkovito uklanjanje analita od interesa kroz njihov neizravni učinak, prethodno opisan u radu. Ne može se razdvojiti međusoban utjecaj matice vode i pH jer prisutnost raznih tvari u otpadnoj vodi pored iznad navedenih (metali, drugi farmaceutski aktivni sastojci i ostale vrste zagađivala) mijenjaju pH otopine i posljedično uzrokuju promjenu ioniziranog oblika farmaceutika i ostalih prisutnih ionizirajućih tvari. Eksperimenti određivanja optimalnih uvjeta procesa pokazali su usporavanje razgradnje s povećanjem bazičnosti medija čime se može potkrijepiti činjenica da je veća pH-vrijednost otpadne vode doprinijela još sporijoj kinetici. Konkretno, pH otopine vodene matice imatiniba i krizotiniba u čistoj vodi bio je iznad 7 (7,67; 7,72), dok je otpadna voda bila bazičnija s pH-vrijednostima iznad 8 (8,17; 8,26). Također, porastom nekih pokazatelja koji ukazuju na zagađenje voda poput ukupno otopljenih tvari i kemijske potrošnje kisika, dolazi do pojave замуćenja otopine čime se sprječava prodiranje UV zračenja [133] i samim time učinkovito uklanjanje imatiniba i krizotiniba. **Tablica 30** prikazuje dobivene rezultate. Kinetika razgradnje krizotiniba u otpadnoj vodi složenija je od razgradnje imatiniba budući da se može podijeliti u dvije faze kinetike pseudo-prvog reda kao dvoeksponencijalna funkcija, gdje je prva faza procesa bila brža s vremenom poluraspada $t_{1/2}$ od 26,15 min, nakon čega je slijedila inhibicija fotokatalitičke reakcije s $t_{1/2}$ od 256,72 min.



Slika 44. Vremenski profil razgradnje imatiniba u otpadnoj vodi



Slika 45. Vremenski profil razgradnje krizotiniba u otpadnoj vodi

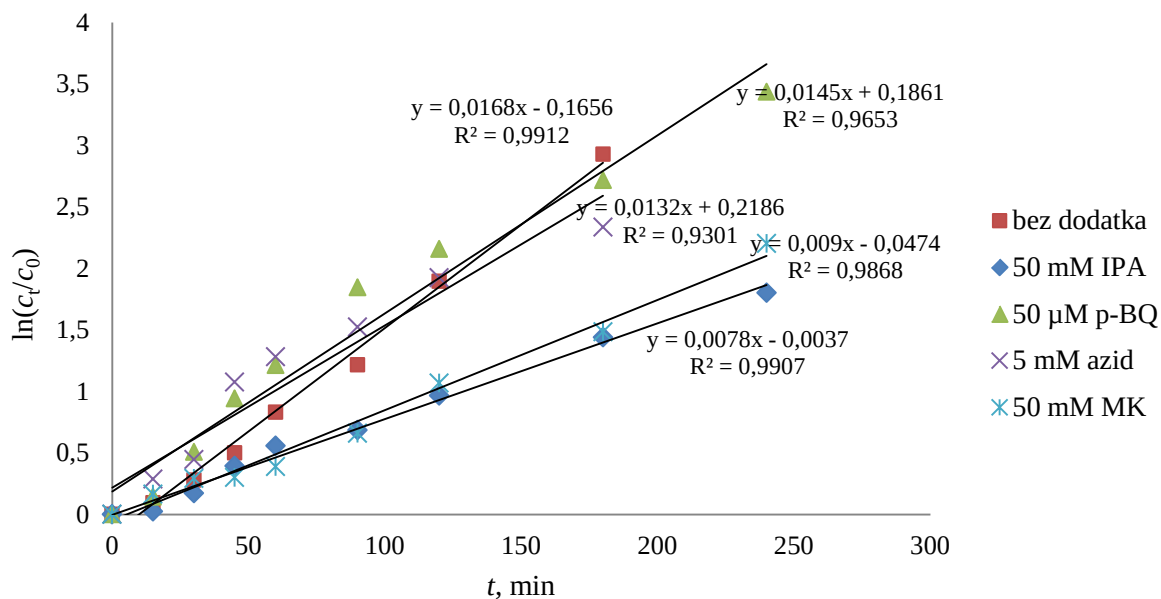
Tablica 30. Utjecaj matice vode na fotokatalitičku razgradnju citostatika

EKSPERIMENT	IMT			CRZ		
	k, min^{-1}	R^2	$t_{1/2}, \text{min}$	k, min^{-1}	R^2	$t_{1/2}, \text{min}$
citostatik + smjesa iona u ultračistoj vodi	0,0131	0,9493	52,91	0,0281	0,9886	24,67
citostatik + otpadna voda	0,0094	0,9947	73,74	0,0265	0,9863	26,15
				0,0027	0,9019	256,72

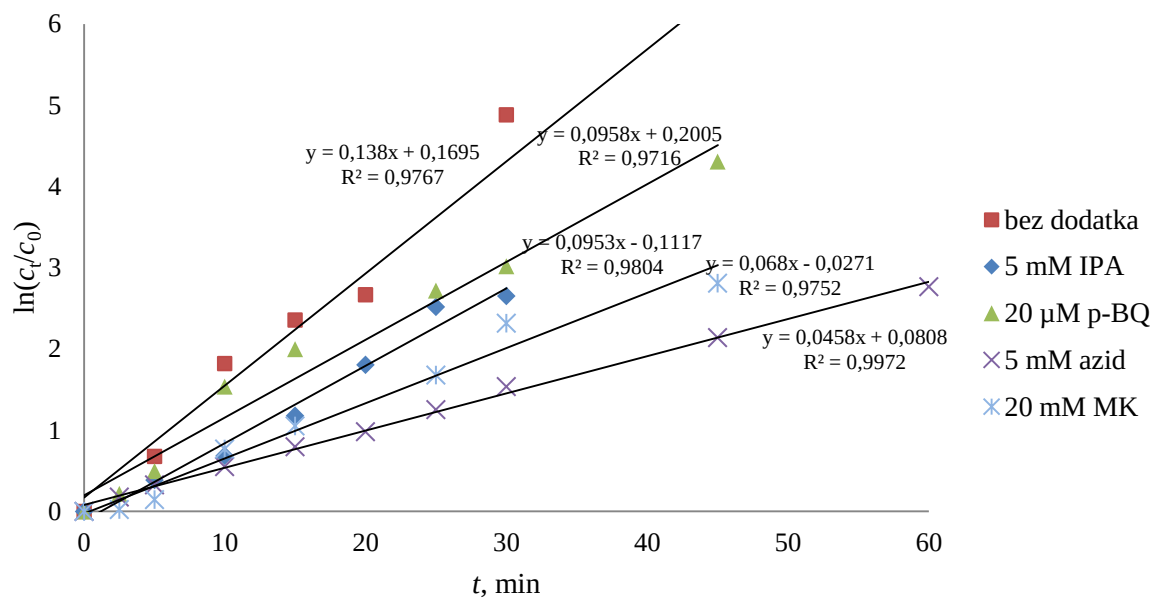
Provedenim eksperimentima pokazalo se da utjecaj matice uzorka nije zanemariv u heterogenim fotokatalitičkim procesima te da svaki od sastojaka matice, bilo druga vrsta farmaceutika, neko drugo zagađenje ili samo uobičajena sastavnica vode ima dodatnu ulogu u razgradnji ciljanog analita koju je dodatnim eksperimentima poželjno i otkriti s ciljem povećanja učinkovitosti uklanjanja i u konačnici zaštite vode.

4.4.3. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje citostatika

Tijekom osvjetljavanja fotokatalizatora dolazi do nastanka parova elektron/šupljina koji reakcijama oksidacije i redukcije stvaraju reaktivne kisikove vrste (ROS) koje su uključene u razgradnju organskih tvari [278]. Radi boljeg uvida u mehanizam fotokatalize i određivanja uloge pojedine vrste radikala, u reakcijske otopine citostatika s ultračistom vodom dodani su različiti hvatači radikala. Alkoholi poput metanola, izopropanola (IPA) i *tert*-butanola koriste se za određivanje hidroksilnih radikala, dodatkom mravlje kiseline (MK) kao elektron donora određuje se uloga pozitivnih šupljina u reakciji, superoksidni radikal reagira s *para*-benzokinonom (*p*-BQ) dok se uloga singletnog kisika uobičajeno potvrđuje korištenjem azida [118, 232, 279]. Kinetike razgradnje pseudo-prvog reda za oba citostatika bez dodatka i s dodatkom navedenih reagensa prikazane su na **slikama 46 i 47**.



Slika 46. Određivanje reaktivnih kisikovih vrsta odgovornih za razgradnju imatiniba



Slika 47. Određivanje reaktivnih kisikovih vrsta odgovornih za razgradnju krizotiniba

Prema rezultatima, vidljivo je da su oba citostatika vrlo podložna reakcijama s raznim kisikovim vrstama radikala. Fotokatalitička reakcija imatiniba najviše je usporena dodatkom izopropanola s $0,0168$ na $0,0078 \text{ min}^{-1}$ što sugerira da je razgradnja imatiniba prvenstveno

potaknuta stvaranjem $\cdot\text{OH}$ radikala. Da oni nisu jedine vrste koje su intenzivno uključene u uklanjanje navedenog citostatika, pokazano je dodatkom mravlje kiseline pri čemu je došlo do 46 % inhibicije fotokatalize. Tim eksperimentom pretpostavlja se aktivnost h^+ koje mogu utjecati i na druge reakcije koje se odvijaju tijekom fotokatalitičkog procesa, poput proizvodnje $\cdot\text{OH}$, singletnog kisika i oksidacije zagađivala na adsorbiranom katalizatoru [232]. Također, potvrđena je aktivnost O_2^- i $^1\text{O}_2$, no sa značajno nižom stopom inhibicije (13,7 % odnosno 21,4 %), a samim time i nedominantnom ulogom u razgradnji imatiniba. Uz očekivani doprinos hidroksil radikala, $^1\text{O}_2$ pokazuje najveću odgovornost za razgradnju krizotiniba, odnosno došlo je do značajne inhibicije kinetike razgradnje od k 0,138 do 0,0046 min^{-1} . Navedena uloga singletnog kisika može biti objašnjena stvaranjem azidnih radikala ($\text{N}_3\cdot$) tijekom reakcije s $\cdot\text{OH}$, koji naknadno interferiraju s podlogom, odnosno katalizatorom. Štoviše, azid reakcijama s h^+ ima tendenciju stvaranja N_3 kao donora elektrona koji pokazuje dobar sorpcijski potencijal prema TiO_2 [231, 280].

Iako ovi eksperimenti doprinose lakšem razjašnjavanju puteva razgradnje citostatika otkrivajući reaktivnost pojedinih radikala u reakcijama, dobiveni rezultati trebaju se tumačiti s rezervom budući da uobičajeno korišteni hvatači mogu imati upitnu selektivnost ka pojedinom radikalu. Odnosno, treba uzeti u obzir da alkoholi poput metanola pored hvatanja slobodnih hidroksil radikala, mogu i sorbirati na katalizatoru te djelovati i kao hvatači šupljina. Isto tako pokazano je da upotrebom *p*-benzokinona može doći do porasta količine hidroksil radikala u otopini redukcijom kinonskog prstena [231].

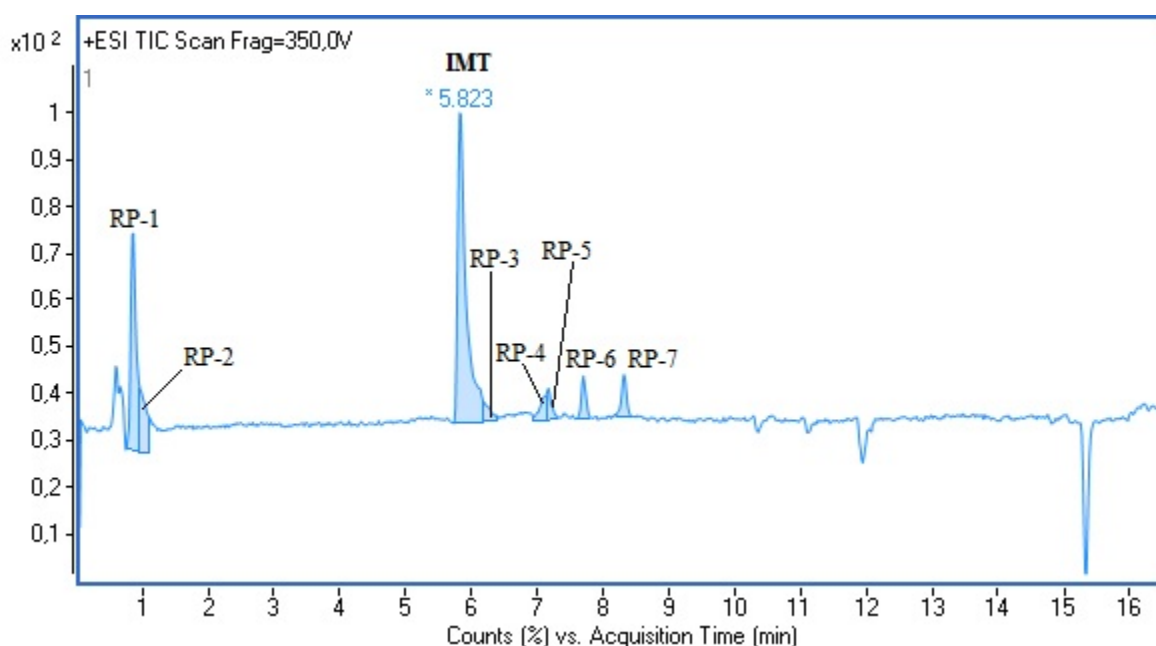
4.4.4. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje citostatika

Primarni cilj svakog razgradnog procesa poput fotolize ili naprednih oksidacijskih procesa poput fotokatalize je potpuno ukloniti potencijalno opasne tvari po okoliš iz vode. Smanjivanjem koncentracije ciljanog analita procesima razgradnje nastaju i transformacijski ili razgradni produkti koji mogu biti polarniji i toksičniji od početnog spoja [39]. Zato je važno identificirati novonastale produkte bez obzira što to predstavlja najizazovniji korak u analizi okoliša. Sama sugestija oko nastalih spojeva, bilo zbog neadekvatnih analitičkih tehnika ili izostanka referentnih standarada, pridonijet će razvoju procesa za uklanjanje spojeva iz postrojenja za obradu otpadnih voda i ostalih izvora zagađenja te omogućiti lakše shvaćanje utjecaja razgradnih procesa na okoliš. Korištenjem spektromerije masa visoke

razlučivosti pratila se fotokatalitička razgradnja citostatika pri optimalnim uvjetima kako bi se usporedno identificirali razgradni produkti.

4.4.4.1. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje imatiniba

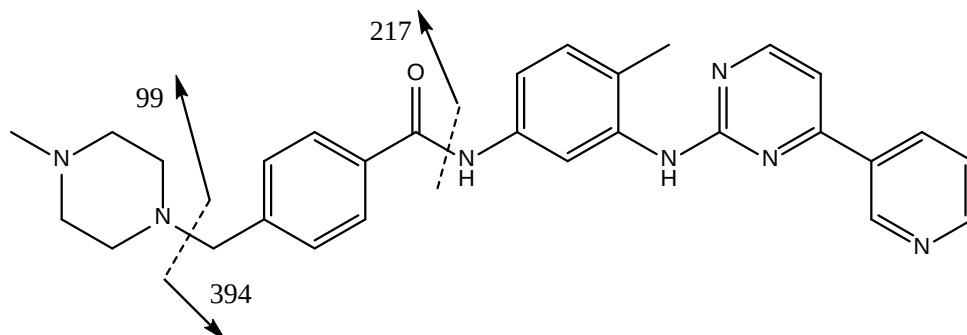
Tijekom fotokatalitičke razgradnje imatiniba, u ovom radu identificirano je sedam glavnih razgradnih produkata čije su kromatografske krivulje prikazane na kromatogramu na **slici 48**, a pripadajući spektri masa na **slikama P9 i P10** u Prilogu. Vidljivo je da dva razgradna produkta (RP-1 i RP-2) imaju manja vremena zadržavanja, a samim time i veću polarnost od imatiniba.



Slika 48. Kromatogram imatiniba i razgradnih produkata nastalih nakon 60 minuta fotokatalize

Nakon identifikacije potencijalnih razgradnih produkata slijedila je MS/MS analiza kako bi se odredili fragmenti koji će omogućiti predlaganje struktura spojeva RP-1 – RP-7. Na **slici 49** prikazana je shema fragmentacije molekulskog iona imatiniba s m/z vrijednošću 494 čiji glavni fragmenti nastaju gubitkom heterocikličkih prstenova molekule (benzen, piridin, pirimidin, piperazin) cijepanjem C-N veze. Predloženi put fotokatalitičke razgradnje

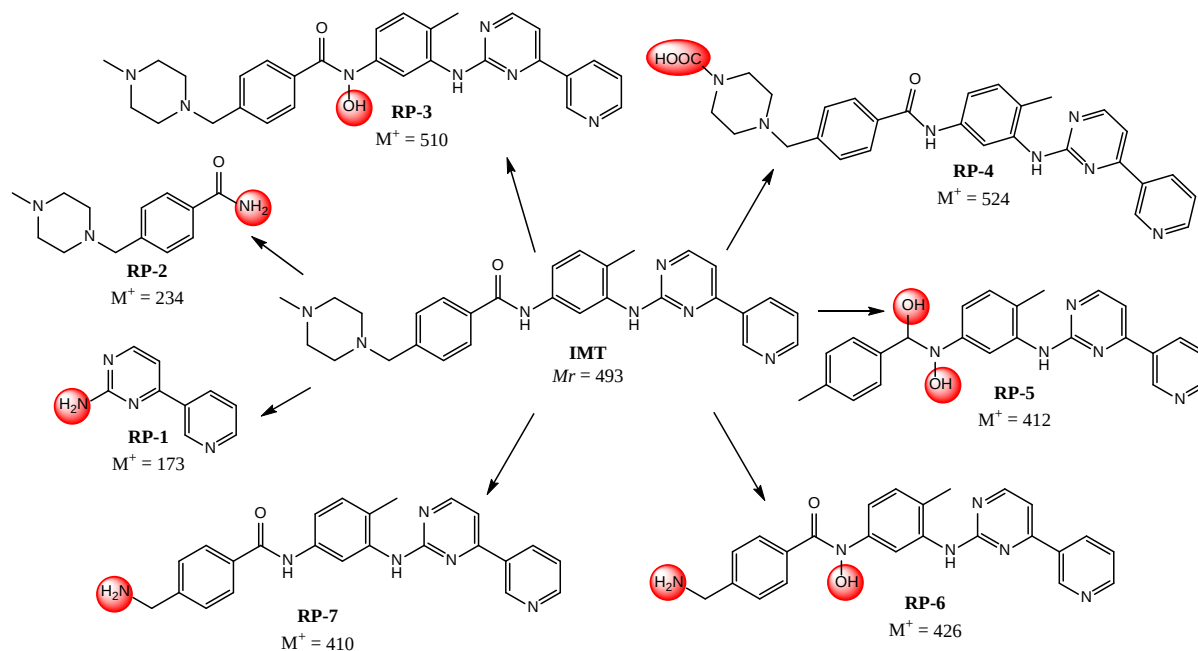
imatiniba nalazi se na **slici 50** dok su dobiveni fragmentni ioni prikazani u **tablici 31**, a strukture na pripadajućim MS/MS spektrima prikazanima u Prilogu na slici **P10**.



Slika 49. Predložena fragmentacija imatiniba

Tablica 31. MS/MS analiza imatiniba

Spoj	t_R , min	Fragmentacija		
		Molekulski ion, [M ⁺]	Produkt ioni	Kolizijska energija, eV
IMT	5,823	494	394, 217, 99	20
RP-1	0,866	173	156, 132, 78	20
RP-2	0,900	234	134, 106, 99	20
RP-3	6,239	510	423, 394, 277	40
RP-4	7,070	524	394, 352, 247	40
RP-5	7,170	412	394, 259, 135	40
RP-6	7,702	426	408, 380, 261, 149	20
RP-7	8,334	410	392, 261, 133	40

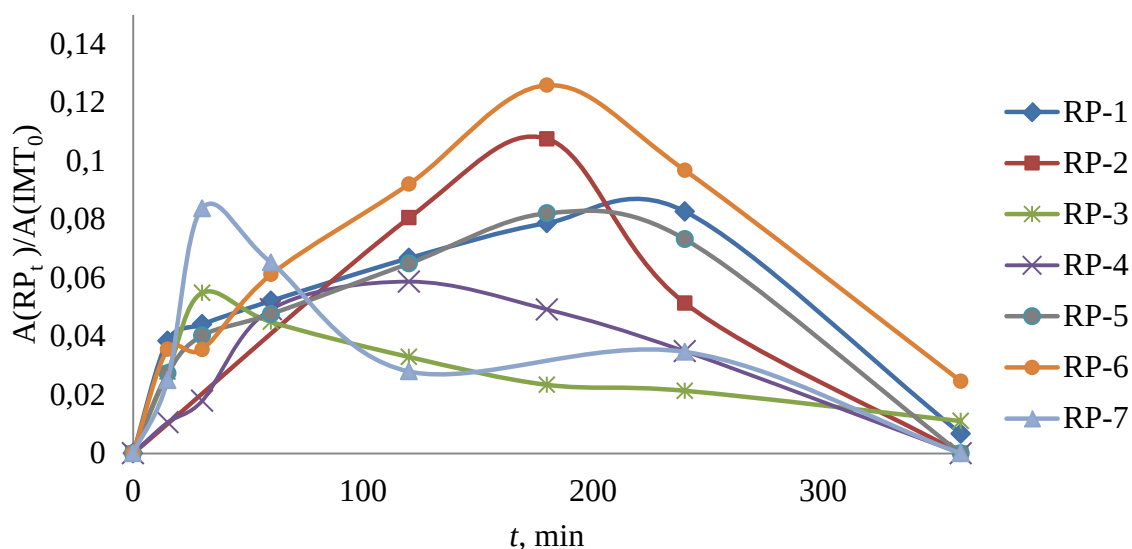


Slika 50. Predložene strukture razgradnih produkata nastalih fotokatalitičkom razgradnjom imatiniba (5 mg/L, pH 5)

Uzimajući u obzir da su hidroksil radikali većinski odgovorni za razgradnju imatiniba, pretpostavlja se da su razgradni produkti nastali reakcijama oksidacije koje uključuju $\cdot OH$ adiciju, apstrakciju vodika te prijenos elektrona [102]. Prema prethodno objavljenim radovima, šest razgradnih produkata s istim m/z vrijednostima potvrdili su Secrétan i suradnici [102], dok su provedbom fotokatalitičke razgradnje imatiniba Wilczewska i suradnici [281] identificirali dva razgradna produkta iste m/z vrijednosti, uz različitu lokalizaciju hidroksilnih skupina kod RP-3 i RP-6. Ranije provedenim studijama prisilne razgradnje imatiniba [259, 282] određeni su glavni razgradni produkti nastali oksidacijom vodikovim peroksidom pri čemu produkt s m/z 510 također odgovara hidroksiliranom RP-3 nastalom fotokatalizom. $\cdot OH$ radikali mogu reagirati s različitim funkcionalnim skupinama molekule analita što otežava jasno određivanje puta razgradnje. Zbog reaktivnosti amino skupine koja aktivira aromatski prsten [121], predložene su reakcije na N -atomu piperazinskog prstena te amino skupine fenilnog prstena. Isto tako, molekule imatiniba i krizotiniba čine višestruki aromatski prstenovi poput piridina, pirimidina, benzena i pirazola za koje $\cdot OH$ radikali kao elektrofilni pokazuju veći afinitet za napad u usporedbi s alifatskim dijelom molekula. U ovom radu benzilni dio molekule imatiniba je pretpostavljen kao favoriziran za napad radikala što se slaže s prethodno objavljenom elektrokemijskom

razgradnjom imatiniba [283]. Predložen je razgradni put oksidacije amino skupine fenilnog prstena imatiniba nakon napada $\cdot\text{OH}$ radikala pri čemu je nastao RP-3 s m/z 510. Nadalje, redukcijom nastalog hidroksi-spoja i oksidacijom šupljina, h^+ formirani su RP-1 (m/z 173) i RP-2 (m/z 234) cijepanjem C-N veze između amino pirimidinskog prstena (RP-1), odnosno benzamida (RP-2) i fenilnog dijela prstena. Alkil-amino skupine molekule podliježu reakcijama N -oksidacije i N -dealkilacije [284] pa su sukladno tome RP-6 (m/z 426) i RP-7 (m/z 410) rezultat N -dealkilacije piperazinskog prstena. RP-4 s m/z 524, većom od molekulskog iona, nastaje napadom $\cdot\text{OH}$ radikala na metil-piperazinski dio molekule imatiniba uz gubitak atoma vodika (H-apstrakcija). Dodatno je predložen još jedan hidroksilirani derivat, RP-5 s m/z 412 kao potencijalni razgradni produkt.

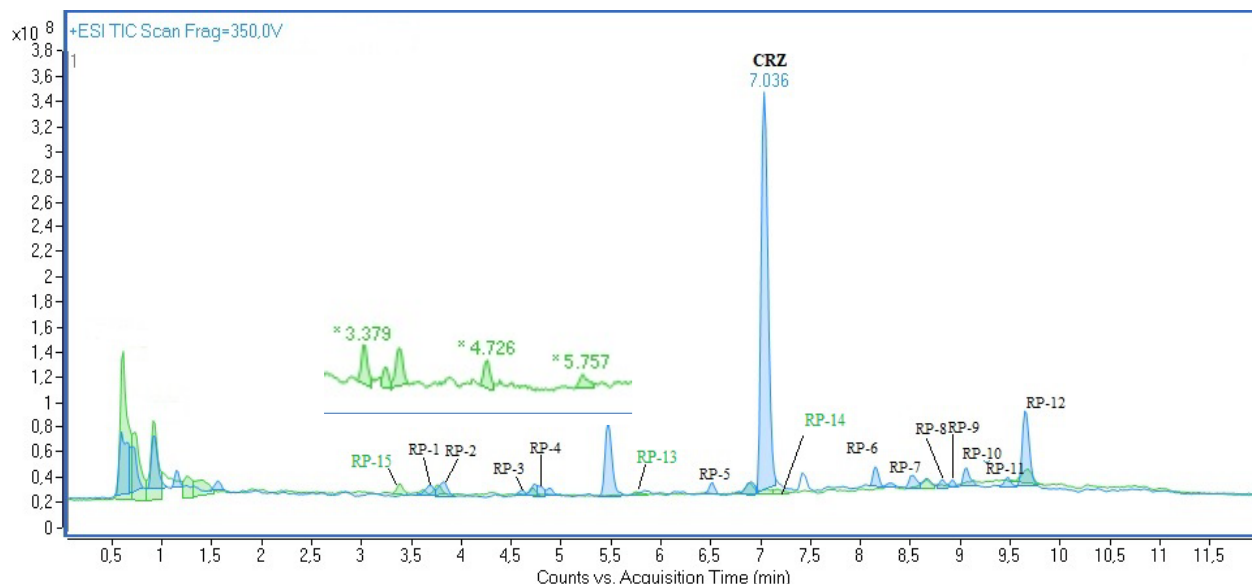
Uslijed izostanka referentnih standarada, profili nastajanja produkata razgradnje prikazani su kao omjer relativne površine ispod kromatografske krivulje razgradnog produkta i citostatika na početku eksperimenta kao funkcija vremena razgradnje. Prema **slici 51** vidi se da su razgradni produkti imatiniba većinom dosegli maksimalnu koncentraciju nakon 180 minuta, dok su RP-3 i RP-7 postigli maksimum nakon 30 minuta, a RP-4 nakon 120 minuta fotokatalitičke razgradnje. Pet razgradnih produkata (RP-1, RP-2, RP-4, RP-5, i RP-7) u potpunosti se razgradilo tijekom 360 minuta zračenja otopine dok je najzastupljeniji razgradni produkt bio RP-6.



Slika 51. Vremenski profili razgradnih produkata imatiniba

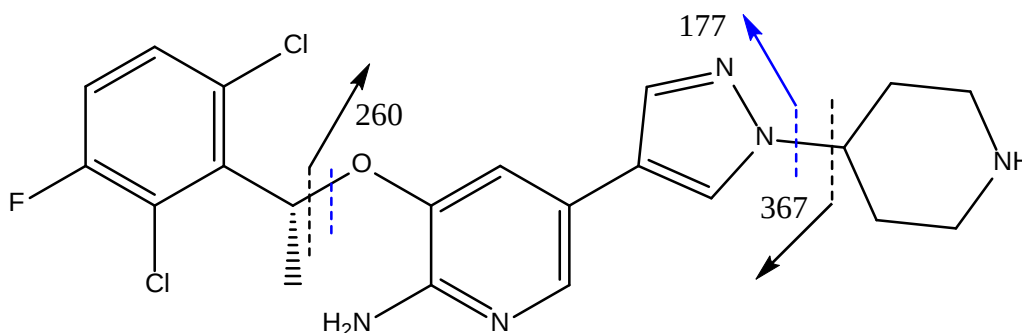
4.4.4.2. Identifikacija potencijalnih razgradnih produkata i puteva razgradnje krizotiniba

Tijekom fotokatalitičke razgradnje krizotiniba, petnaest razgradnih produkata predloženo je prema kromatogramu prikazanom na **slici 52**, od kojih sedam ima kraće vrijeme zadržavanja u usporedbi s krizotinibom.



Slika 52. Kromatogram krizotiniba i razgradnih produkata nastalih nakon 10 minuta (plavo) i 120 min (zeleno) fotokatalize

MS/MS analizom molekularnog iona krizotiniba (m/z 450) dobiveni su isti produkt ioni kao u prethodno provedenoj studiji prisilne razgradnje [58] (Prilog, **slika P11**). Glavni put fragmentacije krizotiniba odnosi se na eliminaciju piperidinskog te supstituiranog fenilnog prstena (**slika 53**).



Slika 53. Predložena fragmentacija krizotiniba

Fragmentacija razgradnih produkata prikazana je u **tablici 32** i na MS/MS spektrima s odgovarajućim strukturama na **slici P12** u Prilogu.

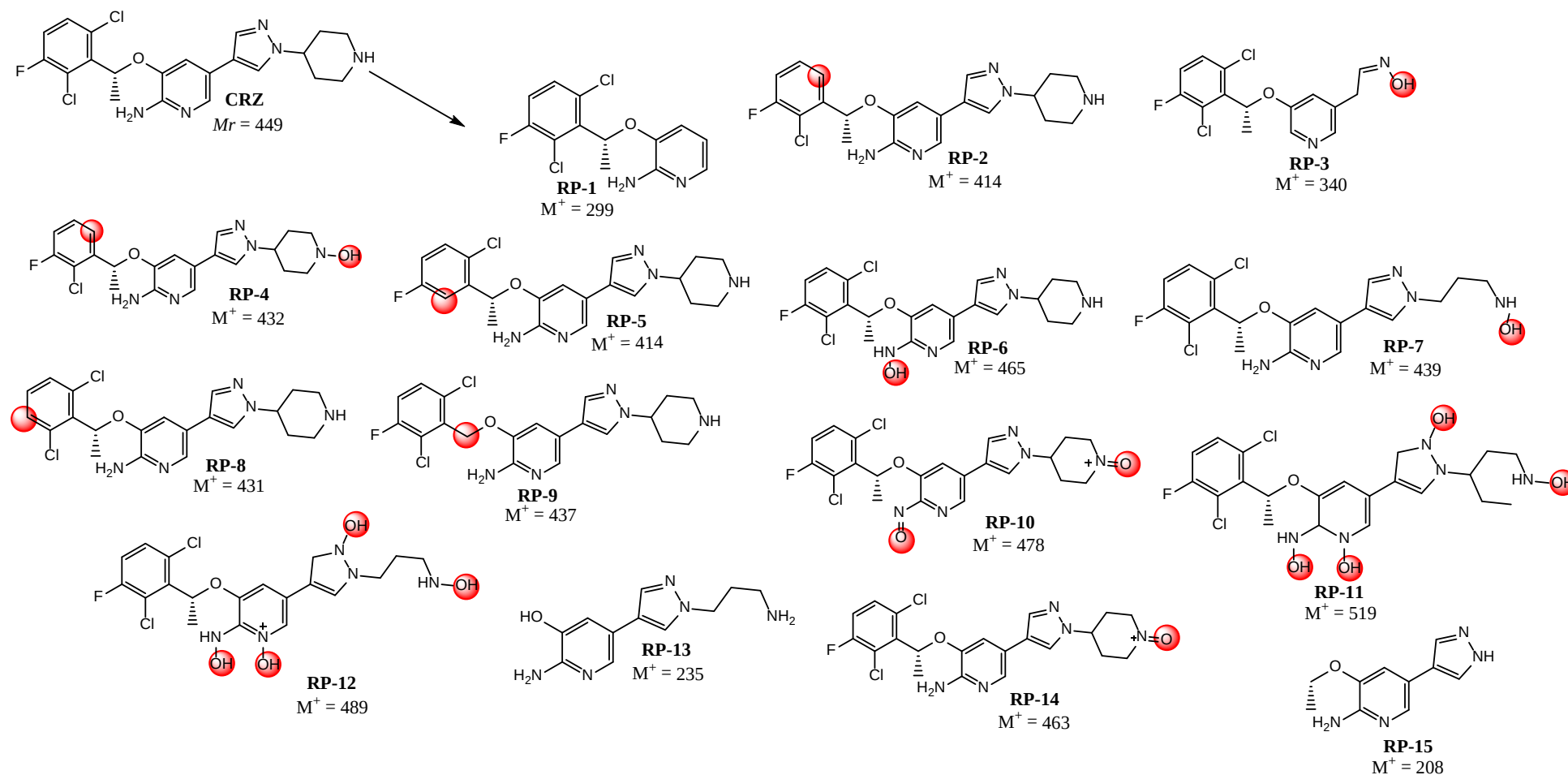
Tablica 32. MS/MS analiza krizotiniba

Spoj	t_R , min	Fragmentacija		
		Molekulski ion [M ⁺]	Produkt ioni	Kolizijska energija, eV
CRZ	7,013	450	367, 260, 177	20
RP-1	3,693	299	272, 229, 189	20
RP-2	3,823	414	331, 316, 259	40
RP-3	4,637	340	322, 227, 209	20
RP-4	4,757	432	414, 387, 304, 253	20
RP-5	6,52	414	399, 331, 316	40
RP-6	8,147	465	447, 382, 273	40
RP-7	8,546	439	381, 356, 285	40
RP-8	8,815	431	348, 305, 234	40
RP-9	8,915	437	354, 190	40
RP-10	9,062	478	288, 177, 112	20
RP-11	9,48	519	492, 302, 177	20
RP-12	9,644	489	462, 299, 272	20
RP-13	5,576	235	219, 202, 190	20
RP-14	7,166	463	428, 279, 208	40
RP-15	3,387	208	165, 147, 125	20

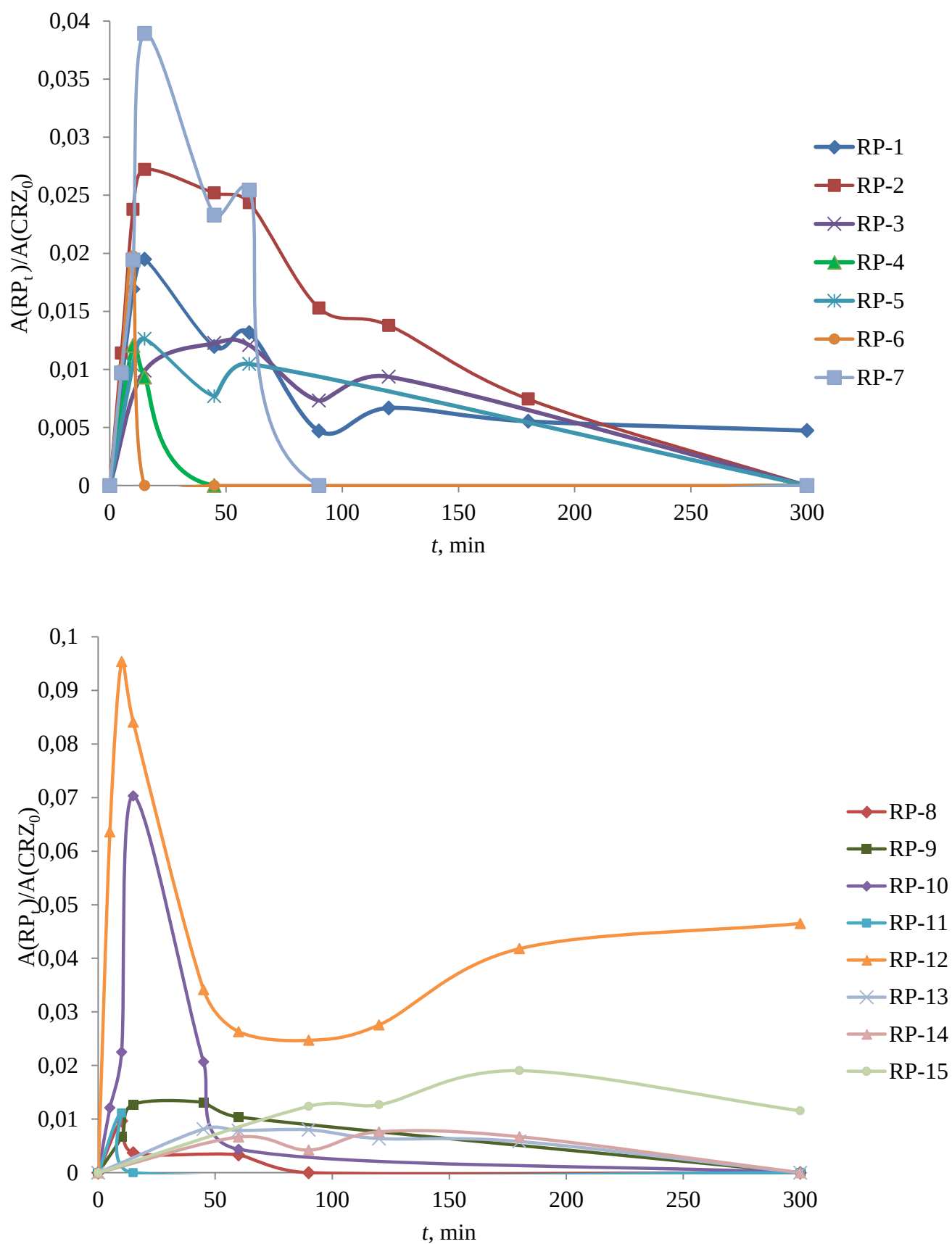
Na **slici 54** predložen je put razgradnje krizotiniba tijekom optimalne fotokatalize, odnosno prikazane su strukture petnaest identificiranih razgradnih produkata nastalih reakcijama oksidacije i eliminacije kroz reakcije s hidroksilnim radikalima i singletnim kisikom, uključujući stvaranje hidroksiliranih intermedijera, *N*-hidroksida, *N*-oksida, otvaranje prstena, *N*-dealkilaciju, dehalogeniranje. U već spomenutoj studiji prisilne razgradnje krizotiniba [58] tijekom provođenja reakcije oksidacije u prisustvu vodikova peroksida nastala su dva razgradna produkta s *m/z* vrijednostima koji odgovaraju spojevima nastalim fotokatalitičkom razgradnjom, mono-hidroksiliranom aminu RP-6 (*m/z* 466) i RP-10 (*m/z* 478) čiji je predloženi put razgradnje također uključivao oksidaciju piperidinskog i aminopiridinskog prstena tvoreći krizotinib *N*-oksid. Dodatno, predložen je još jedan *N*-oksid, spoj RP-14 s *m/z* 463. Razgradni put RP-11 uključivao je adiranje mase od 69 Da na molekulu krizotiniba što

odgovara stvaranju tetra-hidroksiliranog derivata s m/z 519 uz α -cijepanje C-N veze piperazinskog prstena. Daljnjom dealkilacijom, točnije gubitkom etana nastaje RP-12. Također, polisupstituirani RP-12 može bit analog i hidroksiamino spoja RP-7, nastalog oksidacijom piperazina, elektrofilnim napadom $\cdot\text{OH}$ radikala aromatskih prstena u daljnjem koraku reakcije. Nadalje, eliminacijom vode i tri-supstituiranog etil-benzena nastao je produkt manje mase, RP-13 (m/z 235). RP-3 predstavlja derivat oksima. Spojevi RP-2, RP-4, RP-5 te RP-8 nastaju reakcijama dehalogeniranja (deklorinacija i defluorinacija), a spoj RP-9 demetilacijom krizotiniba. Razgradni produkti RP-1 i RP-15 rezultat su eliminacije pirazol-piperidina, odnosno tri-supstituiranog benzena i piperidina od molekule krizotiniba. Predloženi mehanizmi nastajanja razgradnih produkata uglavnom uključuju reakcije oksidacije i hidroksilacije kao najčešću vrstu reakcija oksidacijskih procesa [285].

Prikazom vremenskih profila nastajanja i razgradnje razgradnih produkata krizotiniba (**Slika 55**) može se vidjeti da većina postiže najveću koncentraciju kroz 10 ili 15 minuta fotokatalize pri čemu se kromatografske krivulje istih ne mogu identificirati nakon 300 minuta zračenja. Razgradni produkti s najvišim intenzitetom su RP-12 čija se koncentracija povećava nakon 90 minuta te RP-10 koji se razgradio nakon 60 minuta reakcije. Može se reći da su produkti razgradnje imatiniba i krizotiniba također podložni fotokatalitičkim reakcijama čemu može doprinijeti i njihova nestabilnost zbog malih koncentracija u odnosu na glavnu komponentu.



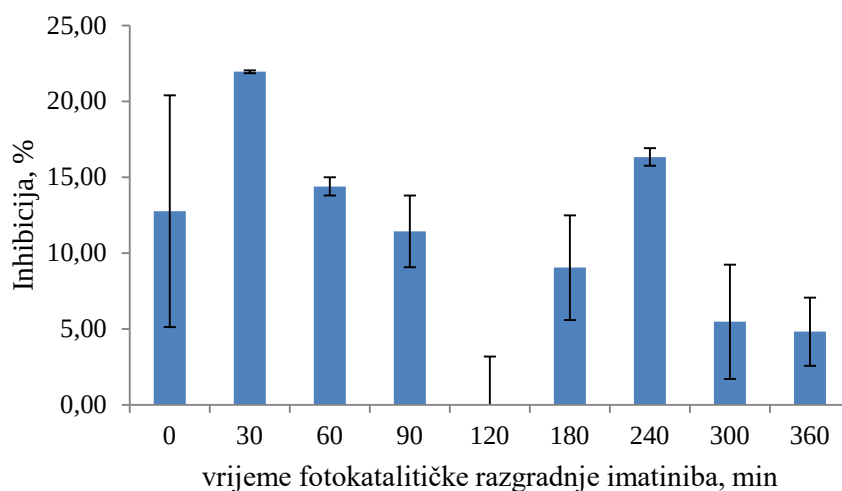
Slika 54. Predložene strukture razgradnih produkata nastalih fotokatalitičkom razgradnjom krizotiniba (5 mg/L, pH 5)



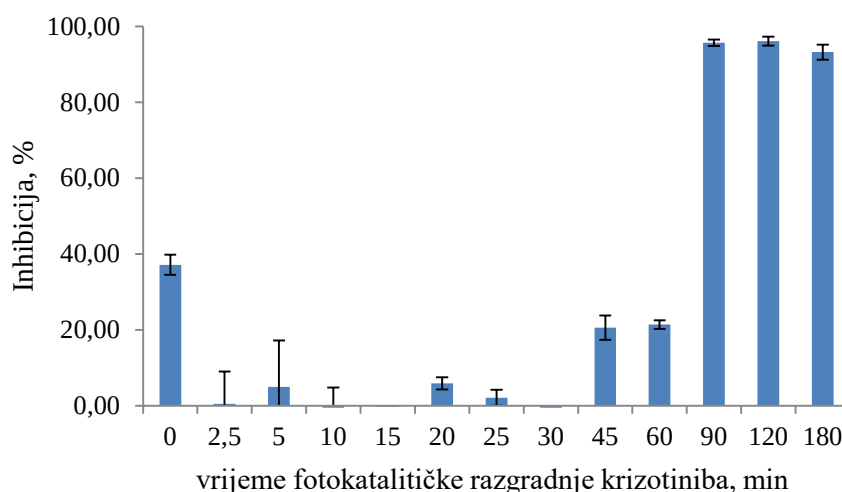
Slika 55. Vremenski profili razgradnih produkata kizotiniba

4.4.5. Procjena toksičnosti citostatika i njihovih razgradnih produkata

Ekotoksikološki učinak citostatika i nastale smjese njihovih razgradnih produkata procijenjeni su testom akutne toksičnosti pomoću luminiscentne bakterije *Vibrio fischeri* koja se uobičajeno koristi kao testni organizam za otkrivanje negativnih utjecaja mikrozagađivala u vodenom okruženju [61, 62, 224, 265]. Postotak inhibicije luminiscencije bakterije nakon kontakta s potencijalno toksičnim spojevima prikazana je na **slici 56** za imatinib te **slici 57** za krizotinib.



Slika 56. Promjena inhibicije luminiscencije tijekom fotokatalize imatiniba



Slika 57. Promjena inhibicije luminiscencije tijekom fotokatalize krizotiniba

Toksičnost imatiniba, koji se potpuno razgradio nakon 180 minuta, i smjese njegovih razgradnih produkata, nije se značajno promijenila tijekom 360 minuta provođenja fotokatalitičke reakcije. Štoviše, inhibicija luminiscencije izmjerena nakon 30 minuta kontakta otopine smjese imatiniba i razgradnih produkata s *V. fischerima* ne prelazi 22 % što ukazuje na izostanak akutne toksičnosti ispitanih uzoraka. No, dugoročni utjecaji i potencijalno antimikrobno djelovanje uz pojavu rezistencije bi se trebali dodatno ispitati radi boljeg uvida toksičnosti novonastalih spojeva. S druge strane, inhibicija luminiscencije krizotiniba pokazuje silazni trend u prvih 45 minuta fotokatalize, nakon čega dolazi do potpune razgradnje krizotiniba i porasta toksičnosti otopine. Dakle, uslijed nastanka razgradnih produkata u vremenskom razdoblju od 90. do 180. minute dolazi do smanjenja inhibicije, veće od 90 % što navedenu smjesu produkata čini potencijalno opasnijom za okoliš u usporedbi s ciljanom komponentom. Naime, koncentracije RP-1 i RP-12 ponovno rastu nakon 90 minuta zračenja dok je RP-15 identificiran u otopini u 90. minuti s maksimumom koncentracije u 180. minuti (**slika 55**). Zajednički utjecaj sedam razgradnih produkata prisutnih u smjesi unutar vremenskog intervala od 90. do 180. minute također može utjecati na povećanje akutne toksičnosti otopine prema testnim organizmima. Naravno, navedene tvrdnje i opširniji zaključak o štetnosti pojedine tvari treba istražiti i drugim testovima kao što su testovi za kroničnu toksičnost koji se provode u duljem vremenskom razdoblju s algama, ribama, beskralješnjacima, itd. kao testnim organizmima [268, 286] s obzirom da su farmaceutici tvari koje su postojane u okolišu zbog konstantnog ispuštanja, a pritom male brzine razgradnje [10].

Nadalje, tvari čija se EC_{50} vrijednost nalazi u rasponu od 10 do 100 mg/L karakteriziraju se kao štetne tvari za organizme u vodi [287] pa se idućim eksperimentom (nominalna koncentracija 100 mg/L) potvrdila činjenica da se pojava korištenih citostatika u vodi ne bi trebala zanemarivati ($EC_{50} = 63$ mg/L za IMT; $EC_{50} = 50$ mg/L za CRZ).

Iako je za procjenu toksičnosti poželjna provedba testova na živim organizmima, napravila se usporedba eksperimentom dobivenih rezultata i rezultata dobivenih računalnim programom T.E.S.T.³⁵ v. 4.2.1. Svrha navedenog programa je procijentiti toksičnost i fizikalna svojstva kemikalija na temelju QSAR³⁶ metodologije odnosno proračuna baziranih na molekulskoj

³⁵eng. Toxicity Estimation Software Tool

³⁶eng. Quantitative Structure Activity Relationships

strukturi ispitne tvari [217, 232]. Određeni su parametri razvojna toksičnost koja se odnosi na sve učinke kojima se remeti normalan razvoj nakon začeća, prije ili poslije rođenja (smrt organizma, strukturne anomalije, funkcionalni poremećaj, poremećaj rasta) [288], bioakumulacijski faktor (BAF) te mutagenost za imatinib i krizotinib, te za predložene strukture identificiranih razgradnih produkata. Prema konsenzus metodi imatinib se može okarakterizirati kao netoksičan spoj dok su njegovi razgradni produkti prema predloženim molekulskim strukturama pokazali razvojnu toksičnost s vjerojatnošću u rasponu od 0,51 do 0,90. Kod razgradnih produkata krizotiniba, uključujući i njega, tri od petnaest predloženih spojeva (RP-3, RP-11 i RP-12), pokazali su razvojnu toksičnost. Imatinib i svi razgradni produkti imaju niske vrijednosti bioakumulacijskog faktora, < 30 (1,26 – 5,89) koje upućuju na to da se navedene tvari neće zadržavati u biološkim tkivima i tako ih onečistiti. Što se tiče krizotiniba i njegovih predloženih razgradnih produkata, sklonost bioakumulaciji je raznolika. Krizotinib i pet spojeva (RP-2, RP-3, RP-5, RP-8 i RP-9) pokazuju umjerenu sklonost bioakumulaciji (vrijednosti faktora nalaze se u rasponu od 52,5 – 100), a prema strukturama RP-1 i RP-10 procijenila se visoka sklonost bioakumulaciji (BAF vrijednosti > 100) [289]. Produkti RP-13 i RP-15 pokazuju niske vrijednosti faktora bioakumulacije dok za preostala dva spoja nijednim testom procjena nije bila moguća. Procijenjena pozitivna mutagenost za imatinib i njegova dva razgradna produkta (RP-3 i RP-7) te za krizotinib i njemu pripadajuća četiri razgradna produkta (RP-1, RP-6, RP-11, RP-13) zahtijeva potvrdu *in vivo* testovima dok se negativan rezultat može smatrati validnim [290]. Treba napomenuti da predložene strukturne promjene navedenih razgradnih produkata pokazuju veće vrijednosti mutagenosti dobivene Ames testom u usporedbi s ciljanim komponentama čime ne isključuju mogućnost negativnog djelovanja na DNA. Opisani rezultati prikazani su u **tablicama P1 i P2** koje su vidljive u Prilogu ove disertacije.

5. ZAKLJUČAK

Već desetljećima čovječanstvo se suočava s problematikom pojave farmaceutski aktivnih tvari u okolišu uslijed izostanka zakonskih regulativa. Njihova raznolikost i međusobni utjecaji predstavljaju dugoročnu opasnost za pitku vodu. Radi proširenja znanja o uklanjanju potencijalnih zagađivala iz vode, na primjeru dva citostatika imatiniba i krizotiniba ispitana je mogućnost TiO_2 u ulozi sorbensa i fotokatalizatora.

Prije provođenja procesa sorpcije i fotokatalize zaključeno je:

- Razvijena HPLC-DAD metoda prikladna je za određivanje imatiniba u vodi unutar radnog područja od 0,06 do 25 mg/L te krizotiniba od 0,11 do 25 mg/L.
- Imatinib i krizotinib hidrolitički su stabilne komponente.

Na temelju rezultata dobivenih sorpcijom citostatika na tri oblika TiO_2 sorbensa izvedeni su sljedeći zaključci:

- Sorpcijska ravnoteža za imatinib i oba oblika imobiliziranog TiO_2 sorbensa postignuta je za četiri sata dok je kontaktno vrijeme za krizotinib i TiO_2/CNT iznosilo 24 sata. Suspendirani oblik TiO_2 postigao je ravnotežu nakon 24 sata za oba analita.
- Kinetika sorpcije oba citostatika na TiO_2 sorbense odgovara modelu pseudo-drugog reda pri čemu porast koncentracije analita pozitivno utječe na količinu sorbirane tvari po masi sorbensa.
- Prema modelu unutarčestične difuzije, sorpcija tvari na površini sorbensa određuje brzinu reakcije kao zadnja faza procesa.
- Pored dobrog slaganja eksperimentom dobivenih rezultata i Langmuirovog te Freundlichovog modela izoterma, s regresijskim koeficijentima R^2 većim od 0,99 ističe se linearna izoterma.
- Oba citostatika pokazuju veći sorpcijski afinitet u bazičnom području.
- Povećanjem mase sorbensa i ionske jakosti promovirala se sorpcija imatiniba dok je porast koncentracije anorganske soli u otopini negativno utjecao na sorpciju krizotiniba.
- Spontanost procesa fizisorpcije citostatika na TiO_2 sorbense potvrđena je negativnim vrijednostima Gibbsove slobodne energije, a povećanje temperature u rasponu od 298 K do 308 K ne pogoduje vezanju imatiniba na aktivna mjesta suspendiranog TiO_2 .

Općenito gledano, najveći sorpcijski potencijal za ispitane citostatike pokazuje TiO_2 u suspendiranom obliku (najviše K_d vrijednosti), no razmatrajući operative troškove i jednostavnost izvedbe procesa, bilo sorpcije same ili u kombinaciji s fotokatalizom, filtracija uzoraka i nemogućnost ponovne uporabe praškastog materijala, dugoročno, u stvarnoj primjeni obrade voda ne bi bila isplativa u usporedbi s imobiliziranim materijalima. Stoga,

kod razgradnje imatiniba i krizotiniba kao fotokatalizator primijenio se TiO₂ imobiliziran na staklene mrežice.

Iz rezultata dobivenih fotokatalizom citostatika može se zaključiti:

- Rezultati razgradnje opisani su kinetikom pseudo-prvog reda.
- Najučinkovitija razgradnja imatiniba i krizotiniba postignuta je pri pH 5 i najnižoj koncentraciji unutar ispitivanog raspona od 5 do 15 mg/L. Analiti zbog svoje molekulske strukture sastavljene od heterocikličkih prstenova s atomom dušika (piperidin, piperazin, pirimidin, itd.) mogu djelovati kao elektron donori i tako se protonirati. Prema konstantama ionizacije, imatinib kao amid i krizotinib kao amin u kiselijim uvjetima reagiraju s H⁺ iz kiseline pa ne iznenađuje činjenica da se ponašaju slično tijekom sorpcije i fotokatalize.
- Pojedinačni i zajednički doprinosi anorganskih i organskih tvari u vodi (nitrati, bikarbonati, fosfati, kloridi, huminske kiseline) pokazuju negativan utjecaj na fotokatalitičku razgradnju citostatika zbog zauzimanja aktivnih mjesta na fotokatalizatoru, stvaranja manje reaktivnih radikalskih vrsta, povećanja bazičnosti medija te zamućenja otopine koje ograničava prodiranje fotona do TiO₂. Pored fosfata koji pokazuju veliki afinitet za sorbiranje na fotokatalizatoru, huminske kiseline najviše utječu na smanjenje kinetike razgradnje oba analita.
- Kompleksna matica otpadne vode i porast pH-vrijednosti otopine odgovorni su za smanjenu učinkovitost fotokatalitičke razgradnje oba citostatika.
- Citostatici su pokazali osjetljivost prema kisikovim radikalskim vrstama. Hidroksil radikali u najvećoj su mjeri odgovorni za fotokatalitičku razgradnju imatiniba dok se u slučaju krizotiniba potvrđuje i dominantnost singletnog kisika.
- Tijekom fotokatalitičke razgradnje pri optimalnim uvjetima, određeno je sedam razgradnih produkata za imatinib dok je za krizotinib predloženo petnaest struktura razgradnih produkata, većina nastalih oksidacijom citostatika.
- Test akutne toksičnosti s *Vibrio fischeri* pokazao je relativno nisku inhibiciju, manju od 23 % tijekom 360 minuta fotokatalitičke razgradnje imatiniba. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba od 90. do 180. minute uzrokuje akutnu toksičnost koja se može pripisati glavnim protagonistima u tom vremenskom periodu, RP-1, RP-12 i RP-15.
- Iako su za inhibiciju bakterijske kulture potrebne veće koncentracije citostatika, imatinib i krizotinib okarakterizirani su kao ekološki štetne tvari čime se ukazuje potreba za proučavanjem njihovih dugoročnih učinaka na organizme u okolišu,

posebice jer je za neke od predloženih spojeva, uključujući i glavnu komponentu procijenjena razvojna toksičnost te sklonost bioakumulaciji.

Naposljetku, sumirajući navedene zaključke može se reći da oba citostatika pokazuju slično ponašanje i relativno dobru sposobnost sorbiranja na TiO_2 fotokatalizator i posljedično sklonost fotokatalitičkoj razgradnji. Dobiveni rezultati mogu se uzeti u obzir za buduća istraživanja navedenog materijala i u ulozi sorbensa kod uklanjanja farmaceutika iz vode čime se razvija ekonomičan proces primjenjiv u većim mjerilima. Komponente s dobrim sorpcijskim afinitetom prema TiO_2 , u idealnom slučaju mogu biti uklonjeni procesom sorpcije do te mjere da ne predstavljaju opasnost za okoliš. Komplementarnost sorpcije s fotokatalizom također može biti jedan od rješenja uklanjanja spojeva poput imatiniba i krizotiniba iz raznih matica vode pri tom uzimajući u obzir prezentirane rezultate. Provedenim eksperimentima potvrđena je hipoteza rada, odnosno TiO_2 kao poluvodički materijal ima perspektivu u primjeni sorbensa i fotokatalizatora ovisno o raznim procesnim parametrima od pH, koncentracije zagađivala, sastava matice vode, itd. koji direktno utječu na prirodu spoja koji se uklanja.

6. LITERATURA

1. O. I. González Peña, M. Ángel López Zavala, H. Cabral Ruelas, Pharmaceuticals market, consumption trends and disease incidence are not driving the pharmaceutical research on water and wastewater, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18 (2021) 2532.
2. K. Kümmerer, The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges, *J. Environ. Manage.* 90 (2009) 2354-2366.
3. M. A. Sousa, C. Gonçalves, V. J. P. Vilar, R. A. R. Boaventura, M. F. Alpendurada, Suspended TiO₂-assisted photocatalytic degradation of emerging contaminants in a municipal WWTP effluent using a solar pilot plant with CPCs, *Chem. Eng. J.* 198–199 (2012) 301-309.
4. J. Rivera-Utrilla, M. Sánchez-Polo, M. Ángeles Ferro-García, G. Prados-Joya, R. Ocampo-Pérez, Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review, *Chemosphere* 93 (2013) 1268-1287.
5. M. Patel, R. Kumar, K. Kishor, T. Mlsna, C. U. Pittman Jr., D. Mohan, Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods, *Chem. Rev.* 119 (2019) 3510-3673.
6. A. J. Ebele, M. A. E. Abdallah, S. Harrad, Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment, *Emerg. Contam.* 3 (2017) 1-16.
7. M. Šabić, M. Vuković Domanovac, Z. Findrik Blažević, E. Meštrović, Kinetika bioremedijacije farmaceutske industrijske otpadne vode, *Kem. Ind.* 64 (5–6) (2015) 229-236.
8. D. Mutavdžić Pavlović, K. Tolić Čop, V. Barbir, M. Gotovuša, I. Lukač, A. Lozančić, M. Runje, Sorption of cefdinir, memantine, praziquantel and trimethoprim in sediment and soil samples, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (2022) 66841-66857.
9. C. J. Houtman, Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe, *J. Integr. Environ. Sci.* 7 (4) (2010) 271-295.
10. S. Zrnčević, Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, *Hrvatske vode* 24 (2016) 119-136.
11. K. Kümmerer, Pharmaceuticals in the environment, *Annu. Rev. Environ. Resour.* 35 (2010) 57-75.
12. C. Gómez-Canela, V. Pueyo, C. Barata, S. Lacorte, R. M. Marcé, Development of predicted environmental concentrations to prioritize the occurrence of pharmaceuticals in rivers from Catalonia, *Sci. Total Environ.* 666 (2019) 57-67.
13. V. Geissen, H. Mol, E. Klumpp, G. Umlauf, M. Nadal, M. van der Ploeg, S. E. A. T. M. van de Zee, C. J. Ritsema, Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management, *Int. Soil Water Conserv. Res.* 3 (2015) 57-65.

14. A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta, Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments, *Anal. Bioanal. Chem.* 387 (2007) 1225-1234.
15. M. Ågerstrand, C. Berg, B. Björlenius, M. Breitholtz, B. Brunström, J. Fick, L. Gunnarsson, D. G. J. Larsson, J. P. Sumpter, M. Tysklind, C. Rudén, Improving environmental risk assessment of human pharmaceuticals, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 5336-5345.
16. B. I. Escher, R. Baumgartner, M. Koller, K. Treyer, J. Lienert, C. S. McArdell, Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater, *Water Res.* 45 (2011) 75-92.
17. D. Wu, Q. Sui, X. Yu, W. Zhao, Q. Li, D. Fatta-Kassinos, S. Lyu, Identification of indicator PPCPs in landfill leachates and livestock wastewaters using multi-residue analysis of 70 PPCPs: Analytical method development and application in Yangtze River Delta, China, *Sci. Total Environ.* 753 (2021) 141653.
18. M. Ivešić, A. Krivohlavek, I. Žuntar, S. Tolić, S. Šikić, V. Musić, I. Pavlić, A. Bursik, N. Galić, Monitoring of selected pharmaceuticals in surface waters of Croatia, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 23389-23400.
19. C. Nassour, S. J. Barton, S. Nabhani-Gebara, Y. Saab, J. Barker, Occurrence of anticancer drugs in the aquatic environment: a systematic review, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27 (2020) 1139-1347.
20. E. O. Omotola, O. S. Olatunji, Quantification of selected pharmaceutical compounds in water using liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry (LC-ESI-MS), *Heliyon* 6 (2020) e05787.
21. M. Ebrahimi, O. Akhavan, Nanomaterials for photocatalytic degradations of analgesic, mucolytic and anti-biotic/viral/inflammatory drugs widely used in controlling SARS-CoV-2, *Catalysts* 12 (2022) 667.
22. N. Zaiha Arman, S. Salmiati, A. Aris, M. Razman Salim, T. Hassan Nazifa, M. Suliza Muhamad, M. Marpongahtun, A Review on emerging pollutants in the water environment: Existences, health effects and treatment processes, *Water* 13 (2021) 3258.
23. D. Papagiannaki, M. H. Belay, N. P. F. Gonçalves, E. Robotti, A. Bianco-Prevot, R. Binetti, P. Calza, From monitoring to treatment, how to improve water quality: The pharmaceuticals case, *J. Adv. Chem. Eng.* 10 (2022) 100245.
24. M. Biel-Maeso, R. M. Baena-Nogueras, C. Corada-Fernández, P. A. Lara-Martín, Occurrence, distribution and environmental risk of pharmaceutically active compounds (PhACs) in coastal and ocean waters from the Gulf of Cadiz (SW Spain), *Sci. Total Environ.* 612 (2018) 649-659.

25. C. Zhang, L. Barron, S. Sturzenbaum, The transportation, transformation and (bio)accumulation of pharmaceuticals in the terrestrial ecosystem, *Sci. Total Environ.* 781 (2021) 146684.
26. B. Gworek, M. Kijeńska, J. Wrzosek, M. Graniewska, Pharmaceuticals in the soil and plant environment: A review, *Wat. Air Soil Pollut.* 232 (2021) 145.
27. F. Mansouri, K. Chouchene, N. Roche, M. Ksibi, Removal of pharmaceuticals from water by adsorption and advanced oxidation processes: state of the art and trends, *Appl. Sci.* 11 (2021) 6659.
28. R. Guedes-Alonso, S. Montesdeoca-Esponda, J. Pacheco-Juárez, Z. Sosa-Ferrera, J. J. Santana-Rodríguez, A survey of the presence of pharmaceutical residues in wastewaters. Evaluation of their removal using conventional and natural treatment procedures, *Molecules* 25 (2020) 1639.
29. L. Palli, F. Spina, G. C.Varese, M. Vincenzi, M. Aragno, G. Arcangeli, N. Mucci, D. Santianni, S. Caffaz, R. Gori, Occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater treatment plants of Tuscany: An effect-based approach to evaluate the potential environmental impact, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222 (2019) 717-725.
30. OECD, *Pharmaceutical Residues in Freshwater: Hazards and Policy Responses*, OECD Studies on Water, OECD Publishing (2019), Paris. <https://doi.org/10.1787/c936f42d-en>.
31. Z. Schmidtová, R. Kodešová, K. Grabicová, M. Kočárek, M. Fér, H. Švecová, A. Klement, A. Nikodem, R. Grabic, Competitive and synergic sorption of carbamazepine, citalopram, clindamycin, fexofenadine, irbesartan and sulfamethoxazole in seven soils, *J. Contam. Hydrol.* 234 (2020) 103680.
32. V. Chander, B. Sharma, V. Negi, R. Singh Aswal, P. Singh, R. Singh, R. Dobhal, Pharmaceutical compounds in drinking water, *J Xenobiot.* 6 (2016) 5774.
33. European parliament and council of the European Union, Directive 2000/60/EC establishing a framework for community action in the field of water policy, *Official J. of the European Communities* L327 (2000) 1.
34. European parliament and council of the European Union, Directive 2008/105/EC on environmental quality standards in the field of water policy, *Official J. of the EU* L348 (2008) 84.
35. European parliament and council of the European Union, Directive 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy L226 (2013) 1.

36. European Union Commission, Implementing decision (EU) 2015/495 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, Official J. of the EU L78 (2015)
37. European Union Commission, Implementing decision (EU) 2020/1161 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, Official J. of the EU L257 (2020)
38. European Union Commission, Implementing decision (EU) 2022/1307 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, Official J. of the EU L197 (2022)
39. T. Haddad, E. Baginska, K. Kummerer, Transformation products of antibiotic and cytostatic drugs in the aquatic cycle that result from effluent treatment and abiotic/biotic reactions in the environment: An increasing challenge calling for higher emphasis on measures at the beginning of the pipe, *Water Res.* 72 (2015) 75-126.
40. L. Mzukisi Madikizela, S. Ncube, H. Tutuc, H. Richards, B. Newman, K. Ndungu, L. Chimuka, Pharmaceuticals and their metabolites in the marine environment: Sources, analytical methods and occurrence, *Trends Environ. Anal. Chem.* 28 (2020) e00104.
41. S. Babić, D. Mutavdžić Pavlović, Analysis of PhACs in solid environmental samples (soil, sediment, sludge). Analysis, removal, effects and risk of pharmaceuticals in the water cycle: Occurrence and transformation in the environment, Elsevier (2013) str. 129-169.
42. A. de Santiago-Martín, R. Meffe, G. Teijón, V. Martínez Hernández, I. López-Heras, C. Alonso, M. Arenas Romasanta, I. de Bustamante, Pharmaceuticals and trace metals in the surface water used for crop irrigation: Risk to health or natural attenuation?, *Sci. Total Environ.* 705 (2020) 135825.
43. M. Periša, S. Babić, Farmaceutici u okolišu, *Kem. Ind.* 65 (2016) 471-482.
44. D. Mutavdžić Pavlović, T. Pinušić, M. Periša, S. Babić, Optimization of matrix solid phase dispersion liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of 12 pharmaceuticals in sediments, *J. Chromatogr. A* 1258 (2012) 1-15.
45. R. López-Serna, M. Petrović, D. Barceló, Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain), *Sci. Total Environ.* 440 (2012) 280-289.

46. J. P. Fernandes, C. Marisa, R. Almeida, Maria A. Salgado, M. F. Carvalho, A. P. Mucha, Pharmaceutical compounds in aquatic environments—occurrence, fate and bioremediation prospective, *Toxics* 9 (2021) 257.
47. K. Noguera-Oviedo, D. S. Aga, Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment, *J. Hazard. Mater.* 316 (2016) 242-251.
48. J. L. Santos, I. Aparicio, M. Callejón, E. Alonso, Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain), *J. Hazard. Mater.* 164 (2009) 1509-1516.
49. A. Priya Toolaram, K. Kümmerer, M. Schneider, Environmental risk assessment of anti cancer drugs and their transformation products: A focus on their genotoxicity characterization-state of knowledge and short comings, *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.* 760 (2014) 18-35.
50. M. M. Abdelshaheed, I. M. Fawzy, H. I. El-Subbagh, K. M. Youssef, Piperidine nucleus in the field of drug discovery, *Future J. Pharm. Sci.* 7 (2021) 188.
51. A. Pieczynska, A. Fiszka Borzyszkowska, A. Ofiarska, E. M. Siedlecka, Removal of cytostatic drugs by AOPs: A review of applied processes in the context of green technology, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 47 (2017) 1282-1335.
52. E. Heath, M. Filipič, T. Kosjek, M. Isidori, Fate and effects of the residues of anticancer drugs in the environment, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (2016) 14687-14691.
53. A. R. M Coates, G. Halls, Y. Hu, Novel classes of antibiotics or more of the same?, *Br. J. Pharmacol.* 163 (2011) 184-194.
54. M. B. Ahmed, J. L. Zhou, H. H. Ngo, W. Guo, Adsorptive removal of antibiotics from water and wastewater: Progress and challenges, *Sci. Total Environ.* 532 (2015) 112-126.
55. M. Hassan, G. Zhu, Y.-Z. Lu, A. H. Al-Falahi, Y. Lu, S. Huang, Z. Wan, Removal of antibiotics from wastewater and its problematic effects on microbial communities by bioelectrochemical technology: Current knowledge and future perspectives, *Environ. Eng. Res.* 26 (2021) 190405.
56. M. N. Alnajrani, O. A. Alsager, Removal of antibiotics from water by polymer of intrinsic microporosity: Isotherms, kinetics, thermodynamics, and adsorption mechanism, *Sci. Rep.* 10 (2020) 794.
57. J. Dutta, A. A. Mala, Removal of antibiotic from the water environment by the adsorption technologies: A review, *Water Sci. Technol.* 82 (2020) 401-426.

58. K. Tolić, M. Runje, T. Gazivoda Kraljević, D. Mutavdžić Pavlović, Identification of crizotinib major degradation products obtained under stress conditions by RP-UHPLC-HRMS, *Croat. Chem. Acta* 94 (2021) 17-24.
59. V. Booker, C. Halsall, N. Llewellyn, A. Johnson, R. Williams, Prioritising anticancer drugs for environmental monitoring and risk assessment purposes, *Sci. Total Environ.* 473-474 (2014) 159-170.
60. J. P. Besse J. F. Latour, J. Garric, Anticancer drugs in surface waters. What can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs?, *Environ. Int.* 39 (2012) 73-86.
61. P. Calza, C. Medana, M. Sarro, V. Rosato, R. Aigotti, C. Baiocchi, C. Mineroa, Photocatalytic degradation of selected anticancer drugs and identification of their transformation products in water by liquid chromatography–high resolution mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1362 (2014) 135.
62. A. Chatzimpaloglou, C. Christophoridis, I. Fountoulakis, M. Antonopoulou, D. Vlastos, A. Bais, K. Fytianos, Photolytic and photocatalytic degradation of antineoplastic drug irinotecan. Kinetic study, identification of transformation products and toxicity evaluation, *Chem. Eng. J.* 405 (2021) 126866.
63. M. Ortúzar, M. Esterhuizen, D. R. Olicón-Hernández, J. González-López, E. Aranda, Pharmaceutical pollution in aquatic environments: A concise review of environmental impacts and bioremediation systems, *Front. Microbiol.* 13 (2022) 869332.
64. A. Kumar Tripathi, A. David, T.i Govil, S. Rauniyar, N. Krishnaraj Rathinam, K. Mau Goh, R. Kumar Sani, Environmental remediation of antineoplastic drugs: Present status, challenges, and future directions, *Processes* 8 (2020) 747.
65. T. I. A. Gouveia, A. Alves, M. S. F. Santos, New insights on cytostatic drug risk assessment in aquatic environments based on measured concentrations in surface waters, *Environ. Int.* 133 (2019) 105236.
66. M. Jureczko, J. Kalka, Cytostatic pharmaceuticals as water contaminants, *Eur. J. Pharmacol.* 866 (2020) 172816.
67. P. K. Manash, A. K. Mukhopadhyay, Tyrosin kinase role and significance in Cancer, *Int. J. Med. Sci.* 1 (2004) 101-115.
68. M. Mišik, M. Filipic, A. Nersesyan, M. Kundi, M. Isidori, S. Knasmueller, Environmental risk assessment of widely used anticancer drugs (5-fluorouracil, cisplatin, etoposide, imatinib mesylate), *Water Res.* 164 (2019) 114953.

69. FDA approved drug products: Gleevec (imatinib) oral tablet 2022, https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/021588s060lbl.pdf (pristup 14.9.2022.)
70. B. M. H. Al-Hadiya, A. H. H. Bakheit, A. A. Abd-Elgalil, Chapter Six – Imatinib mesylate, H. G. Brittain (ur.), Profiles of drug Substances, excipients and related methodology. Vol. 39., Academic Press, 2015, str. 266, 297.
71. T. Sacha, Imatinib in chronic myeloid leukemia: an Overview, *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 6 (2014) e2014007.
72. D. Samuel Metibemu, O. Adeboye Akinloye, A. Jamiu Akamo, D. Ajiboye Ojo, O. Tolulope Okeowo, I. Olaposi Omotuyi, Exploring receptor tyrosine kinases inhibitors in cancer treatments, *Egypt. J. Med. Hum. Genet.* 20 (2019) 35.
73. H. Mihçioğur, Environmental risk assessment of commonly used anti-cancer drugs, *Cumhuriyet Sci. J.* 42 (2021) 310-320.
74. WHO, Cancer, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (pristup 14.9.2022.)
75. G. Hamilton, B. Rath, O. Burghuber, Pharmacokinetics of crizotinib in NSCLC patients, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 11 (2015) 1.
76. T. A. Wani, I. A. Darwish, A novel 96-microwell-based high-throughput spectrophotometric assay for pharmaceutical quality control of crizotinib, a novel potent drug for the treatment of non-small cell lung cancer, *Braz. J. of Pharm. Sci.* 51 (2015) 439.
77. J. J. Cui, M. Tran-Dubé, H. Shen, M. Nambu, P. P. Kung, M. Pairish, L. Jia, J. Meng, L. Funk, I. Botrous, M. McTigue, N. Grodsky, K. Ryan, E. Padrique, G. Alton, S. Timofeevski, S. Yamazaki, Q. Li, H. Zou, J. Christensen, B. Mroczkowski, B. S. Bender, R. S. Kania, M. P. Edwards, Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal–epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK), *J. Med. Chem.* 54 (2011) 6342-6363.
78. Q. Jiao, L. Bi, Y. Ren, S. Song, Q. Wang, Y.-S. Wang, Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance, *Mol. Cancer* 17 (2018) 36.
79. Product information, crizotinib, Cayman chemical 2018, <https://cdn.caymanchem.com/cdn/insert/12087.pdf> (pristup 14.9. 2022.)
80. D. Sreekanth, D. Sivaramakrishna, V. Himabindu, Y. Anjaneyulu, Thermophilic treatment of bulk drug pharmaceutical industrial wastewaters by using hybrid up flow anaerobic sludge blanket reactor, *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 2534-2539.
81. J. Zhang, V. W. C. Chang, A. Giannis, J.-Y. Wang, Removal of cytostatic drugs from aquatic environment: A review, *Sci. Total Environ.* 445-446 (2013) 281-298.

82. H. Franquet-Griell, D. Cornadó, J. Caixach, F. Ventura, S. Lacorte, Determination of cytostatic drugs in Besòs River (NE Spain) and comparison with predicted environmental concentrations, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 6492-6503.
83. W. Balcerzak, P. Rezka, Occurrence of anti-cancer drugs in the aquatic environment and efficiency of their removal – the selected issues, *Tech. Trans. Environ. Eng.* 1 (2014) 11-18.
84. M. Petrović, J. Rađenović, D. Barcelo, Advanced oxidation processes (AOPs) applied for wastewater and drinking water treatment elimination of pharmaceuticals, *Holistic Approach Environ.* 1 (2011) 63-74.
85. Y. Deng, R. Zhao, Advanced oxidation processes (AOPs) in wastewater treatment, *Curr. Pollution Rep.* 1 (2015) 167-176.
86. grupa autora, Advanced oxidation processes for water and wastewater treatment, Simon Parsons (ur.), IWA publishing, 2004, str. 5-7.
87. J. A. Garrido-Cardenas, B. Esteban-García, A. Agüera, J. A. Sánchez-Pérez, F. Manzano-Agugliaro, Wastewater treatment by advanced oxidation process and their worldwide research trends, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17 (2020) 170.
88. A. G. Capodaglio, Critical perspective on advanced treatment processes for water and wastewater: AOPs, ARPs, and AORPs, *Appl. Sci.* 10 (2020) 4549.
89. N. Taoufik, W. Boumya, M. Achak, M. Sillanp, N. Barka, Comparative overview of advanced oxidation processes and biological approaches for the removal pharmaceuticals, *J. Environ. Manage.* 288 (2021) 112404.
90. M. Klavarioti, D. Mantzavinos, D. Kassinos, Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes, *Environ. Int.* 35 (2009) 402-417.
91. H. Shemer, Y. K. Kunukcu, K. G. Linden, Degradation of the pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes, *Chemosphere* 63 (2006) 269-276.
92. I. J. Buerge, H. Buser, T. Poiger, M. D. Muller, Occurrence and fate of the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide in wastewater and surface waters, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 7242-7250.
93. H. H.-H. Lin, A. Y.-C. Lin, Photocatalytic oxidation of 5-fluorouracil and cyclophosphamide via UV/TiO₂ in an aqueous environment, *Water Res.* 48 (2014) 559-568.
94. C. Hernández, Y. Ramos, L. A. Fernández, O. Ledea, Ozonation of cisplatin in aqueous solution at pH 9, *Ozone: Sci. Eng.* 30 (2008) 189-196.
95. J. Ferre-Aracil, Y. Valcárcel, N. Negreira, M. J. López de Alda, D. Barceló, S. C. Cardona, J. Navarro-Laboulais, Ozonation of hospital raw wastewaters for cytostatic compound removal,

- Kinetic modelling and economic assessment of the process, *Sci. Total Environ.* 556 (2016) 70-79.
96. M. Governo, M. S. F. Santos, A. Alves, L. M. Madeira, Degradation of the cytostatic 5-fluorouracil in water by Fenton and photo-assisted oxidation processes, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 844-854.
 97. L. Xu, S. Tang, K. Wang, X. Ma, J. Niu, Insights into the degradation and detoxication mechanisms of aqueous capecitabine in electrochemical oxidation process, *Chemosphere* 241 (2020) 125058.
 98. C. A. Somensi, E. L. Simionatto, J. B. Dalmarco, P. Gaspareto, C. M. Radetski, A comparison between ozonolysis and sonolysis/ozonolysis treatments for the degradation of the cytostatic drugs methotrexate and doxorubicin: Kinetic and efficiency approaches, *J. Environ. Sci. Health, Part A* 47 (2012) 1543-1550.
 99. D. Kanakaraju, B. D. Glass, M. Oelgemöller, Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review, *J. Environ. Manage.* 219 (2018) 189-207.
 100. M. Antonopoulou, C. Kosma, T. Albanisa, I. Konstantinou, An overview of homogeneous and heterogeneous photocatalysis applications for the removal of pharmaceutical compounds from real or synthetic hospital wastewaters under lab or pilot scale, *Sci. Total. Environ.* 765 (2021) 144163.
 101. J. Borràs-Ferrís, R. Sánchez-Tovar, E. Blasco-Tamarit, M. J. Muñoz-Portero, R. M. Fernández-Domene, J. García-Antón, TiO₂ nanostructures for photoelectrocatalytic degradation of acetaminophen, *Nanomaterials* 9 (2019) 583.
 102. P. H. Secrétan, M. Karoui, H. Sadou Yayé, Y. Levi, L. Tortolano, A. Solgadi, N. Yagoubi, B. Do, Imatinib: Major photocatalytic degradation pathways in aqueous media and the relative toxicity of its transformation products, *Sci. Total Environ.* 655 (2019) 547-556.
 103. O. Porcar-Santos, A. Cruz-Alcalde, N. López-Vinent, D. Zanganas, C. Sans, Photocatalytic degradation of sulfamethoxazole using TiO₂ in simulated seawater: Evidence for direct formation of reactive halogen species and halogenated by-products, *Sci. Total Environ.* 736 (2020) 139605.
 104. R. Ameta, M. S. Solanki, S. Benjamin, S. C. Ameta, Chapter 6 – Photocatalysis, S. C. Ameta, R. Ameta (ur.), *Advanced oxidation process for wastewater treatment*, Academic press, 2018, str. 136.
 105. T. K. Tseng, Y. S. Lin, Y. J. Chen, H. Chu, A review of photocatalysts prepared by sol-gel method for VOCs removal, *Int. J. Mol. Sci.* 11 (2010) 2336-2361.

106. M. R. Hoffmann, S. T. Martin, W. Y. Choi, D. W. Bahnemann, Environmental applications of semiconductor photocatalysis, *Chem. Rev.* 95 (1995) 69-96.
107. E. M. Samsudin, S. N. Goh, T. Y. Wu, T. L. Tan, S. B. Abd Hamid, J. C. Juan, Evaluation on the photocatalytic degradation activity of reactive Blue 4 using pure anatase nano-TiO₂, *Sains Malays.* 44 (7) (2015) 1011-1019.
108. M. N. Chong, B. Jin, C. W. K. Chow, C. Saint, Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review, *Water Res.* 44 (2010) 2997-3027.
109. J. Zhang, B. Tian, L. Wang, M. Xing, J. Lei, Mechanism in photocatalysis, *Photocatalysis fundamentals, Materials and Applications*, B. Carpenter, P. Ceroni, B. Kirchner, K. Landfester, J. Leszczynski, T.-Y. Luh, E. Perlt, N. C. Polfer, R. Salzer (ur.), LNC, Vol. 100., Springer, 2019, str. 3-5.
110. Z. Zhu, H. Cai, D. W. Sun, Titanium dioxide (TiO₂) photocatalysis technology for nonthermal inactivation of microorganisms in foods, *Trends Food Sci. Technol.* 75 (2018) 23-35.
111. F. Jović, V. Tomašić, Heterogena fotokataliza: osnove i primjena za obradu onečišćenog zraka, *Kem. Ind.* 60 (2011) 387-403.
112. R. Cheng, J. Xia, J. Wen, P. Xu, X. Zheng, Nano metal-containing photocatalysts for the removal of volatile organic compounds: Doping, performance, and mechanisms, *Nanomaterials* 12 (2022) 1335.
113. M. Gambín, G. Pérez-Lucas, S. Navarro, Removal kinetics of four leacher herbicides through solar heterogeneous photocatalysis as influenced by water matrix, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* B 106 (2021) 989-995.
114. R. A. Osawa, B. T. Barrocas, O. C. Monteiro, M. Conceicao Oliveira, M. Helena Florencio, Photocatalytic degradation of cyclophosphamide and ifosfamide: Effects of wastewater matrix, transformation products and in silico toxicity prediction, *Sci. Tot. Environ.* 692 (2019) 503-510.
115. H. K. Paumo, S. Dalhatou, L. M. Katata-Seru, B. P. Kamdem, J. O. Tijani, V. Vishwanathan, A. Kane, I. Bahadu, TiO₂ assisted photocatalysts for degradation of emerging organic pollutants in water and wastewater, *J. Mol. Liq.* 331 (2021) 115458.
116. R. Krakowiak, J. Musiał, P. Bakun, M. Spychała, B. Czarczynska-Goslinska, D. T. Mlynarczyk, T. Koczorowski, L. Sobotta, B. Stanisław, T. Goslinski, Titanium dioxide-based photocatalysts for degradation of emerging contaminants including pharmaceutical pollutants, *Appl. Sci.* 11 (2021) 8674.

117. L. M. Pastrana-Martínez, J. L. Faria, J. M. Dona-Rodríguez, C. Fernández-Rodríguez, A. M. T. Silva, Degradation of diphenhydramine pharmaceutical in aqueous solutions by using two highly active TiO_2 photocatalysts: Operating parameters and photocatalytic mechanism, *Appl. Catal. B* 113-114 (2012) 221-227.
118. R. Pereira Cavalcante, R. Falcao Dantas, H. Wender, B. Bayarri, O. González, J. Giménez, S. Esplugas, A. Machulek Jr., Photocatalytic treatment of metoprolol with B-doped TiO_2 : Effect of water matrix, toxicological evaluation and identification of intermediates, *Appl. Catal. B* 176 (2015) 173-182.
119. S. Bagheri, Z. A. Mohd Hir, A. T. Yousefi, S. B. Abdul Hamid, Progress on mesoporous titanium dioxide: synthesis, modification and applications, *Microporous Mesoporous Mater.* 218 (2015) 206-222.
120. H. Xu, S. Ouyang, L. Liu, P. Reunchan, N. Umezawaac, J. Ye, Recent advances in TiO_2 -based photocatalysis, *J. Mater. Chem. A* 2 (2014) 12642.
121. S. Babić, M. Zrnčić, D. Ljubas, L. Ćurković, I. Škorić, Photolytic and thin TiO_2 film assisted photocatalytic degradation of sulfamethazine in aqueous solution, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015) 11372-11386.
122. A. Rachel, M. Subrahmanyam, P. Boule, Comparison of photocatalytic efficiencies of TiO_2 in suspended and immobilized form for the photocatalytic degradation of nitrobenzene sulfonic acids, *Appl. Catal. B* 37 (2002) 301-308.
123. S. Babić, L. Ćurković, D. Ljubas, M. Čizmić, TiO_2 assisted photocatalytic degradation of macrolide antibiotics, *Curr. Opin. Green Sustain.* 6 (2017) 34-41.
124. W. Shin Koe, J. Wen Lee, W. Chan Chong, Y. Ling Pang, L. Ching Sim, An overview of photocatalytic degradation: photocatalysts, mechanisms, and development of photocatalytic membrane, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27 (2020) 2522-2565.
125. D. Awfa, M. Ateia, M. Fujii, M. S. Johnson, C. Yoshimura, Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products in water treatment using carbonaceous- TiO_2 composites: A critical review of recent literature, *Water Res.* 142 (2018) 26-45.
126. Z. Li, B. Gaoa, C. Zheng, G. Chena, R. Mokaya, S. Sotiropoulos, G. Li Puma, Carbon nanotube/titanium dioxide (CNT/ TiO_2) core-shell nanocomposites with tailored shell thickness, CNT content and photocatalytic/photoelectrocatalytic properties, *Appl. Catal. B* 110 (2011) 50.
127. X. Liu, M. Wang, S. Zhang, B. Pan, Application potential of carbon nanotubes in water treatment: A review, *J. Environ. Sci.* 25 (2013) 1263-1280.

128. C. G. Silva, J. L. Faria, Photocatalytic oxidation of benzene derivatives in aqueous suspensions: Synergic effect induced by the introduction of carbon nanotubes in a TiO₂ matrix, *Appl. Catal. B* 101 (2010) 81-89.
129. El Mountassir El Mouchtari, C. Daou, S. Rafqah, F. Najjar, H. Anane, A. Piram, A. Hamade, S. Briche, P. Wong-Wah-Chunge, TiO₂ and activated carbon of *Argania Spinosa* tree nutshells composites for the adsorption photocatalysis removal of pharmaceuticals from aqueous solution, *J. Photochem. Photobiol.* 388 (2020) 11218.
130. I. Grčić, S. Papić, I. Brnardić, Photocatalytic activity of TiO₂ thin films: Kinetic and efficiency study, *Int. J. Chem. React.* 16 (2017) 20160153.
131. C. Andriantsiferana, E. Farouk Mohamed, H. Delmas, Sequential adsorption – photocatalytic oxidation process for wastewater treatment using a composite material TiO₂/activated carbon, *Environ. Eng. Res.* 20 (2015) 181-189.
132. M. V. de Liz, R. M. de Lima, B. do Amaral, B. A. Marinho, J. T. Schneider, N. Nagata, P. Peralta-Zamora, Suspended and immobilized TiO₂ photocatalytic degradation of estrogens: Potential for application in wastewater treatment processes, *J. Braz. Chem. Soc.* 29 (2018) 380-389.
133. M. Malakootian, A. Nasiri, M. A. Gharaghani, Photocatalytic degradation of ciprofloxacin antibiotic by TiO₂ nanoparticles immobilized on a glass plate, *Chem. Eng. Commun.* 207 (2019) 56-72.
134. Y. He, N. B. Sutton, H. H. H. Rijnaart, A. A. M. Langenhoff, Degradation of pharmaceuticals in wastewater using immobilized TiO₂ photocatalysis under simulated solar irradiation, *Appl. Catal. B* 182 (2016) 132-141.
135. B. Niu, X. Wang, K. Wu, X. He, R. Zhang, Mesoporous titanium dioxide: Synthesis and applications in photocatalysis, energy and biology, *Materials* 11 (2018) 1910.
136. G. J. Owens, R. K. Singh, F. Foroutan, M. Alqaysi, C-M Han, C. Mahapatra, H.-W. Kim, J. C. Knowles, Sol–gel based materials for biomedical applications, *Prog. Mater. Sci.* 77 (2016) 1-79.
137. A. J. Expósito, D. A. Patterson, W. S. W. Mansor, J. M. Monteagudo, E. Emanuelsson, I. Sanmartín, A. Durán, Antipyrine removal by TiO₂ photocatalysis based on spinning disc reactor technology, *J. Environ. Manag.* 187 (2017) 504-512.
138. J. Carbajo, M. Jimenez, S. Miralles, S. Malato, M. Faraldos, A. Bahamonde, Study of application of titania catalysts on solar photocatalysis: influence of type of pollutants and water matrices, *Chem. Eng. J.* 291 (2016) 64-73.

139. R. Saravanan, F. Gracia, A. Stephen, Basic Principles, Mechanism, and Challenges of Photocatalysis, M. Khan, D. Pradhan, Y. Sohn (ur.), Nanocomposites for Visible Light-induced Photocatalysis, Springer Series on Polymer and Composite Materials, Springer, Cham., 2017, str. 25-29.
140. R. Sabouni, H. Gomaa, Photocatalytic degradation of pharmaceutical micro-pollutants using ZnO, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26 (2019) 5372-5380.
141. M. H. Abdellah, S. A. Nosier, A. H. El-Shazly, A. A. Mubarak, Photocatalytic decolorization of methylene blue using TiO₂/UV system enhanced by air sparging, *Alex. Eng. J.* 57 (2018) 3727-3735.
142. M. Qamar, M. Saquib, M. Muneer, Photocatalytic degradation of two selected dye derivatives, chromotrope 2B and amido black 10B, in aqueous suspensions of titanium dioxide, *Dyes Pigments* 65(1) (2005) 1-9.
143. A. Gnanaprakasam, V. M. Sivakumar, M. Thirumarimurugan, Influencing parameters in the photocatalytic degradation of organic effluent via nanometal oxide catalyst: A review, *Mater. Sci. Res. India* (2015) 1-16.
144. C.-H. Chiou, C.-Y. Wu, R.-S. Juang, Influence of operating parameters on photocatalytic degradation of phenol in UV/TiO₂ process, *Chem. Eng. J.* 139 (2008) 322-329.
145. H. Yang, G. Li, T. An, Y. Gao, J. Fua, Photocatalytic degradation kinetics and mechanism of environmental pharmaceuticals in aqueous suspension of TiO₂: A case of sulfa drugs, *Catal. Today* 153 (2010) 200-207.
146. N. Rioja, S. Zorita, F. J. Peñas, Effect of water matrix on photocatalytic degradation and general kinetic modelling, *Appl. Catal. B: Environ.* 180 (2016) 330-335.
147. A. R. Ribeiro, N. F. F. Moreira, G. Li Puma, A. M. T. Silva, Impact of water matrix on the removal of micropollutants by advanced oxidation technologies, *Chem. Eng. J.* 363 (2019) 155-173.
148. J. Choi, H. Lee, Y. Choi, S. Kim, S. Lee, S. Lee, W. Choi, J. Lee, Heterogeneous photocatalytic treatment of pharmaceutical micropollutants: Effects of wastewater effluent matrix and catalyst modifications, *Appl. Catal. B: Environ.* 147 (2014) 8-16.
149. Y. Chen, L. Liu, J. Su, J. Liang, B. Wu, J. Zuo, Y. Zuo, Role of humic substances in the photodegradation of naproxen under simulated sunlight, *Chemosphere* 187 (2017) 261-267.
150. S. Li, J. Hu, Photolytic and photocatalytic degradation of tetracycline: Effect of humic acid on degradation kinetics and mechanisms, *J. Hazard. Mater.* 318 (2016) 134-144.
151. J. Wiszniowski, D. Robert, J. Surmacz-Gorska, K. Miksch, S. Malato, J.-V. Weber, Solar photocatalytic degradation of humic acids as a model of organic compounds of landfill

- leachate in pilot-plant experiments: influence of inorganic salts, *Appl. Catal. B: Environ.* 53 (2004) 127-137.
152. F. Beheshti, R. M. A. Tehrani, A. Khadir, Sulfamethoxazole removal by photocatalytic degradation utilizing TiO₂ and WO₃ nanoparticles as catalysts: analysis of various operational parameters, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16 (2019) 7987-7996.
 153. M. Verma, A. K. Haritash, Photocatalytic degradation of amoxicillin in pharmaceutical wastewater: A potential tool to manage residual antibiotics, *Environ. Technol. Innov.* 20 (2020) 101072.
 154. M. L. Tran, C.-C. Fu, R.-S. Juang, Effects of water matrix components on degradation efficiency and pathways of antibiotic metronidazole by UV/TiO₂ photocatalysis, *J. Mol. Liq.* 276 (2019) 32-38.
 155. E. Mugunthan, M. B. Saidutt, P. E. Jagadeeshbabu, Photocatalytic degradation of diclofenac using TiO₂-SnO₂ mixed oxide catalysts, *Environ. Technol.* 40 (2019) 929-941.
 156. E. Hapeshi, A. Achilleos, M. I. Vasquez, C. Michael, N. P. Xekoukoulotakis, D. Mantzavinos, D. Kassinos, Drugs degrading photocatalytically: Kinetics and mechanisms of ofloxacin and atenolol removal on titania suspensions, *Water Res.* 44 (2010) 1737-1746.
 157. L. K. B. Paragasa, V. Dien Dang, R. Shanker Sahu, S. Garcia-Segura, M. D. G.de Luna, J. A. I. Pimentel, R.-A. Doong, Enhanced visible-light-driven photocatalytic degradation of acetaminophen over CeO₂/I, K-codoped C₃N₄ heterojunction with tunable properties in simulated water matrix, *Sep. Purif. Technol.* 272 (2021) 117567.
 158. J. J. Rueda-Marquez, C. Palacios-Villarreal, M. Manzano, E. Blanco, M. Ramírez del Solar, I. Levchuk, Photocatalytic degradation of pharmaceutically active compounds (PhACs) in urban wastewater treatment plants effluents under controlled and natural solar irradiation using immobilized TiO₂, *Solar Energy* 208 (2020) 480-492.
 159. D. Bertagna Silva, G. Buttiglieri, B. Babić, D. Ašperger, Sandra Babić, Performance of TiO₂/UV-LED-based processes for degradation of pharmaceuticals: Effect of matrix composition and process variables, *Nanomaterials* 12 (2022) 295.
 160. Y. Xu, X. Yu, B. Xu, D. Peng, X. Guo, Sorption of pharmaceuticals and personal care products on soil and soil components: Influencing factors and mechanisms, *Sci. Tot. Environ.* 753 (2021) 141891.
 161. M. Zhang, J. Shen, Y. Zhong, T. Ding, P. D. Dissanayake, Y. Yang, Y. F. Tsang, Y. S. Ok, Sorption of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from water and wastewater by carbonaceous materials: A review, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 52 (2022) 727-766.

162. J. Akhtar, N. A. S. Amin, K. Shahzad, A review on removal pharmaceuticals from water by adsorption, *Desalin. Water Treat.* 57 (2015) 12842-12860.
163. S. Iftekhhar, D. Lakshmi Ramasamy, V. Srivastava, M. B. Asif, M. Sillanpää, Understanding the factors affecting the adsorption of Lanthanum using different adsorbents: A critical review, *Chemosphere* 204 (2018) 413-430.
164. J. Li, L. J. Carter, A. B. A. Boxall, Evaluation and development of models for estimating the sorption behaviour of pharmaceuticals in soils, *J. Hazard. Mater.* 392 (2020) 122469.
165. H. Banu Yener, Removal of cefdinir from aqueous solution using nanostructure adsorbents of TiO_2 , SiO_2 and $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies, *Chem. Biochem. Eng. Q.* 33 (2019) 235-248.
166. Y. Tian, B. Gao, H. Chen, Y. Wang, H. Li, Interactions between carbon nanotubes and sulfonamide antibiotics in aqueous solutions under various physicochemical conditions, *J. Environ. Sci. Health A* 48 (2013) 1136-1144.
167. D. S. Tong, C. H. C. Zhou, Y. Lu, H. Yu, G. F. Zhang, W. H. Yu, Adsorption of acid red G dye on octadecyl trimethylammonium montmorillonite, *Appl. Clay Sci.* 50 (2010) 427-431.
168. V. K. Gupta, P. J. M. Carrott, M. M. L. Ribeiro Carrott, Suhas, Low-cost adsorbents: growing approach to wastewater treatment - a review, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 39 (2009) 783-842.
169. N. Negreira, M. López de Alda, D. Barceló, Cytostatic drugs and metabolites in municipal and hospital wastewaters in Spain: Filtration, occurrence, and environmental risk, *Sci. Tot. Environ.* 497-498 (2014) 68-77.
170. Z. Chen, G. Park, P. Herckes, P. Westerhoff, Physicochemical treatment of three chemotherapy drugs: Irinotecan, tamoxifen, and cyclophosphamide, *J. Adv. Oxid. Technol.* 11 (2008) 254-260.
171. D. S. Bhatkhande, V. G. Pangarkar, A. A. C. M. Beenackers, Photocatalytic degradation for environmental applications - a review, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 77 (2001) 102-116.
172. S. L. Gora, S. A. Andrews, Adsorption of natural organic matter and disinfection byproduct precursors from surface water onto TiO_2 nanoparticles: pH effects, isotherm modelling and implications for using TiO_2 for drinking water treatment, *Chemosphere* 174 (2017) 363-370.
173. Y. Zhuang, F. Yu, J. Ma, Enhanced adsorption and removal of ciprofloxacin on regenerable long TiO_2 nanotube/graphene oxide hydrogel adsorbents, *J. Nanomater.* 2015 (2015) 1-8.
174. Y. Kim, S. Lim, M. Han, J. Cho, Sorption characteristics of oxytetracycline, amoxicillin, and sulfathiazole in two different soil types, *Geoderma* 185-186 (2012) 97-101.

175. K. Y. Foo, B. H. Hameed, Insights into the modeling of adsorption isotherm systems, *Chem. Eng. J.* 156 (2010) 2-10.
176. D. Mutavdžić Pavlović, L. Ćurković, J. Macan, K. Žižek, Eggshell as a new biosorbent for the removal of pharmaceuticals from aqueous solutions, *Clean-Soil Air Water* 45 (2017) 1700082.
177. J. Y. Park, B. Huwe, Effect of pH and soil structure on transport of sulfonamide antibiotics in agricultural soils, *Environ. Pollut.* 213 (2016) 561-570.
178. F. Haghseresht, G. Q. Lu, Adsorption characteristics of phenolic compounds onto coal-reject-derived adsorbents, *Energy Fuels* 12 (1998) 1100-1107.
179. N. Hasani, T. Selimi, A. Mele, V. Thaçi, J. Halili, A. Berisha, M. Sadiku, Theoretical, equilibrium, kinetics and thermodynamic investigations of methylene blue adsorption onto lignite coal, *Molecules* 27 (2022) 1856.
180. C. C. Nnaji, A. E. Agim, C. N. Mama, P. G. Chidozie Emenike, N. M. Ogarekpe, Equilibrium and thermodynamic investigation of biosorption of nickel from water by activated carbon made from palm kernel chaff, *Scientific Reports* 11 (2021) 7808.
181. Z. Glavaš, Kinetics of adsorption process for the system waste mold sand/Cu (II) ions, *Hrvat. Vode* 23 (2015) 185.
182. S. A. Lunelli Bachmann, T. Calvete, L. Amaral Féris, Caffeine removal from aqueous media by adsorption: An overview of adsorbents evolution and the kinetic, equilibrium and thermodynamic studies, *Sci. Tot. Environ.* 767 (2021) 144229.
183. S. Chandrashekar Kollarahithlu, R. Mohan Balakrishnan, Adsorption of pharmaceuticals pollutants, ibuprofen, acetaminophen, and streptomycin from the aqueous phase using amine functionalized superparamagnetic silica nanocomposite, *J. Clean. Prod.* 294 (2021) 126155.
184. A. Pholosi, E. B. Naidoo, A. E. Ofomaja, Intraparticle diffusion of Cr (VI) through biomass and magnetite coated biomass: a comparative kinetic and diffusion study, *S. Afr. J. Chem. Eng.* 32 (2020) 39-55.
185. B. Das, N. K. Mondal, Calcareous soil as a new adsorbent to remove lead from aqueous solution: Equilibrium, kinetic and thermodynamic study, *Univers. J. Environ. Res.* 1 (2011) 515-530.
186. S. Babić, M. Biošić, I. Škorić, Transformation products of pharmaceuticals in the environment: Formation and analysis, *Curr. Org. Chem.* 22 (2017) 987-1004.
187. K. Samal, S. Mahapatra, M. H. Ali, Pharmaceutical wastewater as emerging contaminants (EC): Treatment technologies, impact on environment and human health, *Energy Nexus* 6 (2022) 100076.

188. F. Hernández, M. Ibáñez, R. Bade, L. Bijlsma, J. V. Sancho, Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry, *Trends Anal. Chem.* 63 (2014) 140-157.
189. V. Leendert, H. van Langenhove, K. Demeestere, Trends in liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for multi residue analysis of organic micropollutants in aquatic environment, *Trends Anal. Chem.* 67 (2015) 192-208.
190. M. Holčapek, R. Jirásko, M. Lída, Recent developments in liquid chromatography-mass spectrometry and related techniques, *J. Chromatogr. A* 1259 (2012) 3-15.
191. M. Cindrić, A. Marković, A. Horvatić, Spregnute tehnike tekućinski kromatograf – spektrometar masa: osnove metodologije i primjene, *Medicina* 45 (2009) 218-232.
192. I. V. Chernushevich, A. V. Loboda, B. A. Thomson, An introduction to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 36 (2001) 849-865.
193. J. Faktor, M. Dvorakova, J. Maryas, P. Bouchal, Identification and characterisation of prometastatic targets, pathways and molecular complexes using a toolbox of proteomic technologies, *Klin. Onkol.* 25 (2012) 2S70-2S77.
194. M.-Q. Cai, R. Wang, L. Feng, L.-Q. Zhang, Determination of selected pharmaceuticals in tap water and drinking water treatment plant by high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometer in Beijing, China, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015) 1854-1867.
195. S. Lacorte¹, A. R. Fernandez-Alba, Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food, *Mass Spectrosc. Rev.* 28 (2009) 35-49.
196. M. Petrović, D. Barcelo, LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment, *Trends Anal. Chem.* 26 (2007) 486-493.
197. I. Ferrer, E. M. Thurman, Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1259 (2012) 148-157.
198. grupa autora, *Analitika okoliša*, M. Kaštelan-Macan i M. Petrović (ur.), HINUS i Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013., str. 199.
199. A. A. Bletsou, J. Jeon, J. Hollender, E. Archontaki, N. S. Thomaidis, Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment, *Trends Anal. Chem.* 66 (2015) 32-44.

200. A. Sahu, A. Balhara, N. Raju, B. K. Kumar, P. Sharma, D. K. Singh, S. Singh, Characterization of degradation products of celiprolol hydrochloride using hyphenated mass and NMR techniques, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 197 (2021) 113953.
201. J. Eriksson, J. Svanfelt, L. Kronberg, A photochemical study of diclofenac and its major transformation products, *Photochem. Photobiol.* 86 (2010) 528-532.
202. E. Leyva, E. Moctezum, Mariana López, K. M. Baines, B. Zermeño, Photocatalytic degradation of β -blockers in TiO_2 with metoprolol as model compound. Intermediates and total reaction mechanism, *Catal. Today* 323 (2019) 14-25.
203. R. M. Maggio, N. L. Calvo, S. E. Vignaduzzo, T. S. Kaufman, Pharmaceutical impurities and degradation products: Uses and applications of NMR techniques, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 101 (2014) 102-122.
204. P. Sanabria, D. Scunderlick, M. L. Wilde, D. S. Lüdtke, C. Sirtor, Solar photo-Fenton treatment of the anti-cancer drug anastrozole in different aqueous matrices at near-neutral pH: Transformation products identification, pathways proposal, and in silico (Q)SAR risk assessment, *Sci. Total Environ.* 754 (2021) 142300.
205. M. Čizmić, D. Ljubas, M. Rožman, D. Ašperger, L. Čurković, S. Babić, Photocatalytic degradation of azithromycin by nanostructured TiO_2 film: Kinetics, degradation Products, and toxicity, *Materials* 12 (2019) 873.
206. M. Mezcuca, I. Ferrer, M. D. Hernando, A. R. Fernández-Alba, Photolysis and photocatalysis of bisphenol A: identification of degradation products by liquid chromatography with electrospray ionization/time-of-flight/mass spectrometry (LC/ESI/ToF/MS), *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 1242-1251.
207. T.-K. Kim, T. Kim, Y. Cha, K.-D. Zoh, Energy-efficient erythromycin degradation using UV-LED (275 nm)/chlorine process: Radical contribution, transformation products, and toxicity evaluation, *Water Res.* 185 (2020) 116159.
208. S. Babić, D. Mutavdžić Pavlović, M. Biošić, D. Ašperger, I. Škorić, M. Runje, Fate of febantel in the aquatic environment – the role of abiotic elimination processes, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (2018) 28917-28927.
209. N. P. F. Gonçalves, O. del Puerto, C. Medana, P. Calza, P. Roslev, Degradation of the antifungal pharmaceutical clotrimazole by UVC and vacuum-UV irradiation: Kinetics, transformation products and attenuation of toxicity, *J. Environ. Chem. Eng.* 9 (2021) 106275.
210. D. Dabić, M. Hanževački, I. Škorić, B. Žegura, K. Ivanković, M. Biošić, K. Tolić, S. Babić, Photodegradation, toxicity and density functional theory study of pharmaceutical metoclopramide and its photoproducts, *Sci. Total Environ.* 807 (2022) 150694.

211. M. L. Tran, C.-C. Fu, R.-S. Juang, Removal of metronidazole by TiO₂ and ZnO photocatalysis: a comprehensive comparison of process optimization and transformation product, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (2018) 28285-28295.
212. W. W.-P. Lai, H. H.-H. Lin, A. Y.-C. Lin, TiO₂ photocatalytic degradation and transformation of oxazaphosphorine drugs in an aqueous environment, *J. Hazard. Mater.* 287 (2015) 133-141.
213. M. Čizmić, D. Ljubas, L. Ćurković, I. Škorić, S. Babić, Kinetics and degradation pathways of photolytic and photocatalytic oxidation of the anthelmintic drug praziquantel, *J. Hazard. Mater.* 323 (2017) 500-512.
214. V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Gru, R. Colin, Y. Andrès, Assessment of the efficiency of photocatalysis on tetracycline biodegradation, *J. Hazard. Mater.* 209–210 (2012) 355-364.
215. A. Fiszka Borzyszkowska, A. Pieczyńska, A. Ofiarska, W. Lisowski, K. Nikiforow, E. M. Siedlecka, Photocatalytic degradation of 5-fluorouracil in an aqueous environment via Bi–B co-doped TiO₂ under artificial sunlight, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 17 (2020) 2163-2176.
216. S. Irmak, O. Erbatur and A. Akgerman, Degradation of 17β-estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques, *J. Hazard. Mater. B* 126 (2005) 54-62.
217. T. Borojević, D. Ašperger, D. Dolar, Određivanje toksičnosti ksenobiotika u vodi, *Kem. Ind.* 67 (13) (2018) 135-142.
218. H. K. Khan, M. Y. A. Rehman, R. N. Malik, Fate and toxicity of pharmaceuticals in water environment: An insight on their occurrence in South Asia, *J. Environ. Manage.* 271 (2020) 111030.
219. EU direktiva, https://ec.europa.eu/environment/archives/dansub/pdfs/annex6_en.pdf (pristup 10.10.2022.)
220. A. C. Johnson, M. D. Jürgens, R. J. Williams, K. Kümmerer, A. Kortenkamp, J. P. Sumpter, Do cytotoxic chemotherapy drugs discharged into rivers pose a risk to the environment and human health? An overview and UK case study, *J. Hydrol.* 348 (2008) 167-175.
221. D. Fatta-Kassinos, M. I. Vasquez, K. Kümmerer, Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes – Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency, *Chemosphere* 85 (2011) 693-709.
222. S. Parvez, C. Venkataraman, S. Mukherji, A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, *Environ. Int.* 32 (2006) 265-268.

223. B. Czech, I. Joško, P. Oleszczuk, Ecotoxicological evaluation of selected pharmaceuticals to *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* before and after photooxidation process, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104 (2014) 247-253.
224. J. J. Rueda-Marquez, I. Levchuk, P. Fernández Ibañez, M. Sillanpää, A critical review on application of photocatalysis for toxicity reduction of real wastewaters, *J. Clean. Prod.* 258 (2020) 120694.
225. H. Wang, H. Xi, L. Xu, M. Jin, W. Zhao, H. Liu, Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal care products in the water environment: A review, *Sci. Tot. Environ.* 788 (2021) 147819.
226. A. Parrella, M. Lavorgna, E. Criscuolo, C. Russo, V. Fiumano, M. Isidori, Acute and chronic toxicity of six anticancer drugs on rotifers and crustaceans, *Chemosphere* 115 (2014) 59-66.
227. K. Mioduszevska, J. Dołzonek, D. Wyrzykowski, Ł. Kubik, P. Wiczling, C. Sikorska, M. Toński, Z. Kaczyński, P. Stepnowski, A. Białk-Bielińska, Overview of experimental and computational methods for the determination of the pK_a values of 5-fluorouracil, cyclophosphamide, ifosfamide, imatinib, *Trends Anal. Chem.* 97 (2017) 283-296.
228. I. Grčić, J. Marčec, L. Radetić, A. M. Radovan, I. Melnjak, I. Jajčinović, I. Brnardić, Ammonia and methane oxidation on TiO_2 supported on glass fiber mesh under artificial solar irradiation, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28 (2020) 18354-18367.
229. S. Malinowski, I. Presečki, I. Jajčinović, I. Brnardić, V. Mandić, I. Grčić, Intensification of dihydroxybenzenes degradation over immobilized TiO_2 based photocatalysts under simulated solar light, *Appl. Sci.* 10 (2020) 17571.
230. I. Jajčinović, I. Brnardić, S. Kožuh, K. Tolić, The impact of multiwall carbon nanotubes on the photocatalytic properties of immobilized TiO_2 , *Coexistence of material science and sustainable technology in economic growth* (2019) 247-254.
231. J. T. Schneider, D. Scheres Firak, R. R. Ribeiro, P. Peralta-Zamora, Use of scavenger agents in heterogeneous photocatalysis: Truths, half-truths, and misinterpretations, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 22 (2020) 15723.
232. J. Trawiński, R. Skibiński, Rapid degradation of clozapine by heterogeneous photocatalysis. Comparison with direct photolysis, kinetics, identification of transformation products and scavenger study, *Sci. Tot. Environ.* 665 (2019) 557-567.
233. OECD, Guidelines for the Testing of Chemicals: Test No 111: Hydrolysis as a Function of pH, (2004) 1-15.

234. S. Bagheri, A. Termeh Yousefi, T.-O. Do, Photocatalytic pathway toward degradation of environmental pharmaceutical pollutants: structure, kinetics and mechanism approach, *Catal. Sci. Technol.* 7 (2017) 4548.
235. H. Li, D. Zhang, X. Han, B. Xing, Adsorption of antibiotic ciprofloxacin on carbon 496 nanotubes: pH dependence and thermodynamics, *Chemosphere* 95 (2014) 150-155.
236. Y. S. Ho, G. McKay, The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat, *Water Res.* 34 (2000) 735-742.
237. L. Xiang, T. Xiao, C. H. Mo, H. M. Zhao, Y. W. Li, H. Li, Q. Y. Cai, D. M. Zhou, M. H. Wong, Sorption kinetics, isotherms, and mechanism of aniline aerofloat to agricultural soils with various physicochemical properties, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 154 (2018) 84-91.
238. P. Ramachandran, R. Vairamuthu, S. Ponnusamy, Adsorption isotherms, kinetics, thermodynamics and desorption studies of reactive orange 16 on activated carbon derived from *Ananas comosus* (L.) carbon, *ARPN J. Eng. Appl. Sci.* 6 (2011) 15-26.
239. N. F Campos, C. M. B. M. Barbosa, J. M. Rodríguez-Díaz, M. M. M. B. Duarte, Removal of naphthenic acids using activated charcoal: Kinetic and equilibrium studies, *Adsorp. Sci. Technol.* 36 (2018) 1405-1421.
240. R. Mamitiana Razanajatovoa, J. Dinga, S. Zhanga, H. Jianga, Z. Zoua, Sorption and desorption of selected pharmaceuticals by polyethylene microplastics, *Mar. Pollut. Bull.* 136 (2018) 516-523.
241. M. Qamar, M. Muneer, D. Bahnemann, Heterogeneous photocatalysed degradation of two selected pesticide derivatives, triclopyrd and daminozid in aqueous suspensions of titanium dioxide, *J. Environ. Manag.* 80 (2006) 99-106.
242. F. Azeez, E. Al-Hetlani, M. Arafa, Y. Abdelmonem, A. A. Nazeer, M. O. Amin, M. Madkour, The effect of surface charge on photocatalytic degradation of methylene blue dye using chargeable titania nanoparticles, *Sci. Rep.* 8 (2018) 20174.
243. J. Bandla, S. Ganapaty, Stability indicating UPLC method development and validation for the determination of crizotinib in pharmaceutical dosage forms, *Int. J. Sci. Prog. Res.* 9 (2018) 1493-1498.
244. C. Theivarasu, S. Mylsamy, Equilibrium and kinetic adsorption studies of rhodamine-B from aqueous solutions using cocoa (*Theobroma cacao*) shell as a new adsorbent, *Int. J. Eng. Sci. Technol.* 2 (2010) 6284-6292.
245. A. Tor, Y. Cengeloglu, Removal of congo red from aqueous solution by adsorption onto acid activated red mud, *J. Hazard. Mater.* 138 (2006) 409-415.

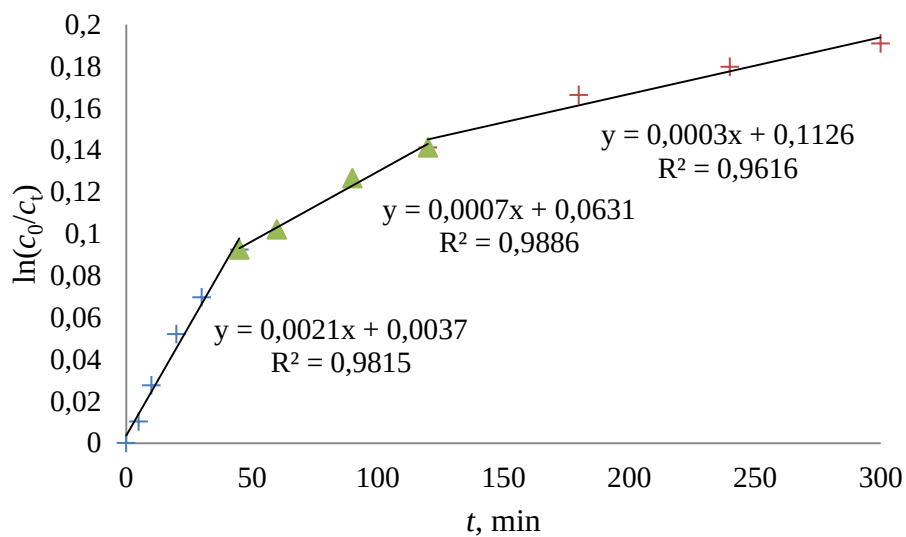
246. M. Toński, J. Dołzonek, M. Paszkiewicz, J. Wojsławski, P. Stepnowski, A. Białk-Bielińska, Preliminary evaluation of the application of carbon nanotubes as potential adsorbents for the elimination of selected anticancer drugs from water matrices, *Chemosphere* 201 (2018) 32-40.
247. S. Santanu Mukherjee, L. Weihermüller, W. Tappe, D. Hofmann, S. Köppchen, V. Laabs, H. Vereecken, P. Burauel, Sorption–desorption behaviour of bentazone, boscalid and pyrimethanilin biochar and digestate based soil mixtures for biopurification systems, *Sci. Tot. Environ.* 559 (2016) 63-73.
248. K. Tolić, D. Mutavdžić Pavlović, N. Stankir, M. Runje, Biosorbents from tomato, tangerine, and maple Leaves for the removal of ciprofloxacin from aqueous media, *Water Air Soil Pollut.* 232 (2021) 1-16.
249. K. M. Doretto, S. Rath, Sorption of sulfadiazine on Brazilian soils, *Chemosphere* 90 (2013) 2027-2034.
250. Z. Yi, J. Yao, M. Zhu, H. Chen, F. Wang, X. Liu, Kinetics, equilibrium, and thermodynamics investigation on the adsorption of lead (II) by coal-based activated carbon, *Springer Plus* 5 (2016) 1160.
251. A. Aguedach, S. Brosillon, J. Morvan, E. K. Lhadi, Influence of ionic strength in the adsorption and during photocatalysis of reactive black 5 azo dye on TiO₂ coated on nonwoven paper with SiO₂ as a binder, *J. Hazard. Mater.* 150 (2008) 250-256.
252. E. M. Golet, I. Xifra, H. Siegrist, A. C. Alder, W. Giger, Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 3243-3249.
253. S. Sarkar, R. Das, H. Choi, C. Bhattacharjee, Involvement of process parameters and various modes of application of TiO₂ nanoparticles in heterogeneous photocatalysis of pharmaceutical wastes—a short review, *RSC Adv.* 4 (2014) 57250-57266.
254. H. A. Awala, M. M. El Jamal, Equilibrium and kinetics study of adsorption of some dyes onto feldspar, *J. Chem. Technol. Metall.* 46 (2011) 45-52.
255. Z. Bekçi, Y. Seki, M. K. Yurdakoç, Equilibrium studies for trimethoprim adsorption on montmorillonite KSF, *J. Hazard. Mater. B* 133 (2006) 233-242.
256. F. Yu, Y. Wu, X. Li, J. Ma, Kinetic and thermodynamic studies of toluene, ethylbenzene, and m-Xylene adsorption from aqueous solutions onto KOH-activated multiwalled carbon nanotubes, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 12245-12253.

257. P. Saha, S. Chowdhury, S. Gupta, I. Kumar, Insight into adsorption equilibrium, kinetics and thermodynamics of Malachite Green onto clayey soil of Indian origin, *Chem. Eng. J.* 165 (2010) 874-882.
258. M. Udovičić, K. Baždarić, L. Bilić-Zulle, M. Petrovečki, What we need to know when calculating the coefficient of correlation?, *Biochem. Med.* 17 (2007) 10-15.
259. W. J. Szczepek, B. Kosmacinska, A. Bielejewska, W. Łuniewski, M. Skarzynski, D. Rozmarynowska, Identification of imatinib mesylate degradation products obtained under stress conditions, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43 (2007) 1682-1691.
260. T. Rakić, I. Kasagić-Vujanović, M. Jovanović, B. Jančić-Stojanović, D. Ivanović, Comparison of full factorial design, central composite design, and Box-Benken design in chromatographic method development for the determination of fluconazole and its impurities, *Anal. Lett.* 47 (2013) 1334-1347.
261. L. Havlíková, D. Satínský, P. Solich, Aspects of decontamination of ivermectin and praziquantel from environmental waters using advanced oxidation technology, *Chemosphere* 144 (2016) 21-28.
262. K. Tolić Čop, D. Mutavdžić Pavlović, K. Duić, M. Pranjić, I. Fereža, I. Jajčinović, I. Brnardić, V. Špada, Sorption potential of different forms of TiO_2 for the removal of two anticancer drugs from water, *Appl. Sci.* 12 (2022) 4113.
263. N. Parmar, J. K. Srivastava, Degradation of pharmaceutical antibiotic (ciprofloxacin) by photocatalysis process using sol-gel based titanium dioxide nanoparticles, *Int. J. Chem. React. Eng.* 19 (2021) 929-938.
264. Y. Ye, Y. Feng, H. Bruning, D. Yntema, H. H. M. Rijnaart, Photocatalytic degradation of metoprolol by TiO_2 nanotube arrays and UV-LED: Effects of catalyst properties, operational parameters, commonly present water constituents, and photo-induced reactive species, *Appl. Catal. B* 220 (2018) 171-181.
265. J. Xu, Z. Hao, C. Guo, Y. Zhang, W. Meng, Photodegradation of sulfapyridine under simulated sunlight irradiation: Kinetics, mechanism and toxicity evolvement, *Chemosphere* 99 (2014) 186-191.
266. A. M. Dugandžić, A. V. Tomašević, M. M. Radišić, N. Ž. Šekuljica, D. Ž. Mijin, S. D. Petrović, Effect of inorganic ions, photosensitisers and scavengers on the photocatalytic degradation of nicosulfuron, *J. Photochem. Photobiol.* 336 (2017) 146-155.
267. X. Gao, Q. Guo, G. Tang, W. Peng, Y. Luo, D. He, Effects of inorganic ions on the photocatalytic degradation of carbamazepine, *J. Water Reuse Desalin.* 9 (2019) 301-309.

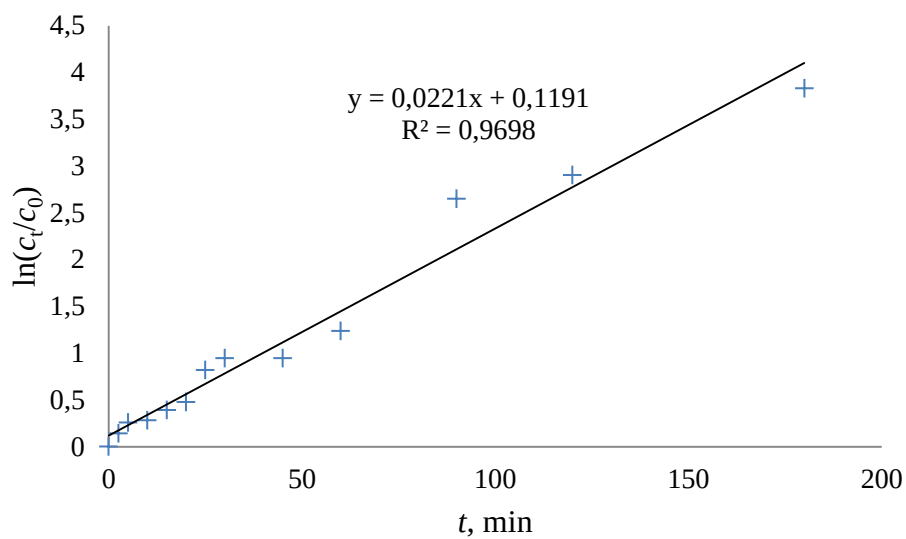
268. M. Wang, J. Li, H. Shi, D. Miao, Y. Yang, L. Qian, Photolysis of atorvastatin in aquatic environment: Influencing factors, products, and pathways, *Chemosphere* 212 (2018) 467-475.
269. M. W. Lam, K. Tantuco, S. Mabury, PhotoFate: a new approach in accounting for the contribution of indirect photolysis of pesticides and pharmaceuticals in surface waters, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 899-907.
270. L. Mao, C. Meng, C. Zeng, Y. Ji, X. Yang, S. Gao, The effect of nitrate, bicarbonate and natural organic matter on the degradation of sunscreen agent *p*-aminobenzoic acid by simulated solar irradiation, *Sci. Total Environ.* 409 (2011) 5376-5381.
271. L. Ismail, C. Ferronato, L. Fine, F. Jaber, J.-M. Chovelon, Effect of water constituents on the degradation of sulfaclozine in the three systems: UV/TiO₂, UV/K₂S₂O₈, and UV/TiO₂/K₂S₂O₈, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (2018) 2651-2663.
272. D. Zhao, C. Chen, Y. Wang, H. Ji, W. Ma, L. Zang, J. Zhao, Surface modification of TiO₂ by phosphate: effect on photocatalytic activity and mechanism implication, *J. Phys. Chem.* 112 (2008) 5993-6001.
273. H. Liao, T. Reitberger, Generation of free OH_{aq} radicals by black light illumination of Degussa (Evonik) P25 TiO₂ aqueous suspensions, *Catalysts* 3 (2013) 418-443.
274. X. van Doorslaer, J. Dewulf, J. de Maerschalk, H. van Langenhove, K. Demeestere, Heterogeneous photocatalysis of moxifloxacin in hospital effluent: Effect of selected matrix constituents, *Chem. Eng. J.* 261 (2015) 9-16.
275. H. Ding, J. Hu, Degradation of ibuprofen by UVA-LED/TiO₂/persulfate process: Kinetics, mechanism, water matrix effects, intermediates and energy consumption, *Chem. Eng. J.* 397 (2020) 125462.
276. W. Chu, N. Gao, C. Li, J. Cui, Photochemical degradation of typical halogenated herbicide 2,4-D in drinking water with UV/H₂O₂/micro-aeration, *Sci. China, Ser. B: Chem.* 52 (2009) 2351.
277. D. Dabić, S. Babić, I. Škorić, The role of photodegradation in the environmental fate of hydroxychloroquine, *Chemosphere* 230 (2019) 268-277.
278. H. Yang, G. Li, T. Ana, Y. Gao, J. Fu, Photocatalytic degradation kinetics and mechanism of environmental pharmaceuticals in aqueous suspension of TiO₂: A case of sulfa drugs, *Catal. Today* 153 (2010) 200-207.
279. M. Pelaez, P. Falaras, V. Likodimos, K. O'Shead, A. A. de la Cruz, P. S. M. Dunlop, J. A. Byrne, D. D. Dionysiou, Use of selected scavengers for the determination of NF-TiO₂ reactive oxygen species during the degradation of microcystin-LR under visible light irradiation, *J. Mol. Catal. A Chem.* 425 (2016) 183-189.

280. E. M. Rodríguez, G. Márquez, M. Tena, P. M. Álvarez, F. J. Beltrán, Determination of main species involved in the first steps of TiO₂ photocatalytic degradation of organics with the use of scavengers: The case of ofloxacin, *Appl. Catal. B* 178 (2015) 44-53.
281. P. Wilczewska, A. E. N. Ona, A. Bielicka-Giełdoń, A. Malankowska, K. Tabaka, J. Ryl, F. Pniewski, E. M. Siedlecka, Application of BiOCl₂ photocatalyst to cytostatic drugs removal from water; mechanism and toxicity assessment, *Sep. Purif. Technol.* 254 (2021) 117601.
282. A. Nageswari, K. V. S. R. Krishna Reddy, K. Mukkanti, Stability-indicating UPLC method for determination of Imatinib Mesylate and their degradation products in active pharmaceutical ingredient and pharmaceutical dosage forms, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 66 (2012) 109-115.
283. E. M. Siedlecka, A. Ofiarska, A. F. Borzyszkowska, A. Białk-Bielińska, P. Stepnowski, A. Pieczyńska, Cytostatic drug removal using electrochemical oxidation with BDD electrode: Degradation pathway and toxicity, *Water Res.* 144 (2018) 235-245.
284. B. M. Eh-Haj, Metabolic *N*-dealkylation and *N*-oxidation as elucidators of the role of alkylamino moieties in drugs acting at various receptors, *Molecules* 26 (2021) 1917.
285. M. A. Achilleos, D. Lambropoulou, V. Osorio Torrens, S. Pérez, M. Petrović, D. Barceló, D. Fatta-Kassinos, Proposed transformation pathway and evolution profile of diclofenac and ibuprofen transformation products during (sono) photocatalysis, *Appl. Catal. B* 147 (2014) 1015-1027.
286. M. Crane, C. Watts, T. Boucard, Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals, *Sci. Tot. Environ.* 367 (2006) 23-41.
287. B. Mano, F. Jesus, F. J. M. Gonçalves, S. P. M. Ventura, J. L. Pereira, Applicability of heuristic rules defining structure–ecotoxicity relationships of ionic liquids: an integrative assessment using species sensitivity distributions (SSD), *Green. Chem.* 22 (2020) 6176-6186.
288. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2011_06_64_1423.html (pristup 10.10.2022.)
289. C. Franke, G. Studinger, G. S. Berger, S. Böhling, U. Bruckmann, D. Cohors-Fresenborg, U. Jöhncke, The assessment of bioaccumulation, *Chemosphere* 29 (1994) 1501-1514.
290. TEST (Toxicity Estimation Software Tool) Ver 4.1, <https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test> (pristup 10.10.2022).

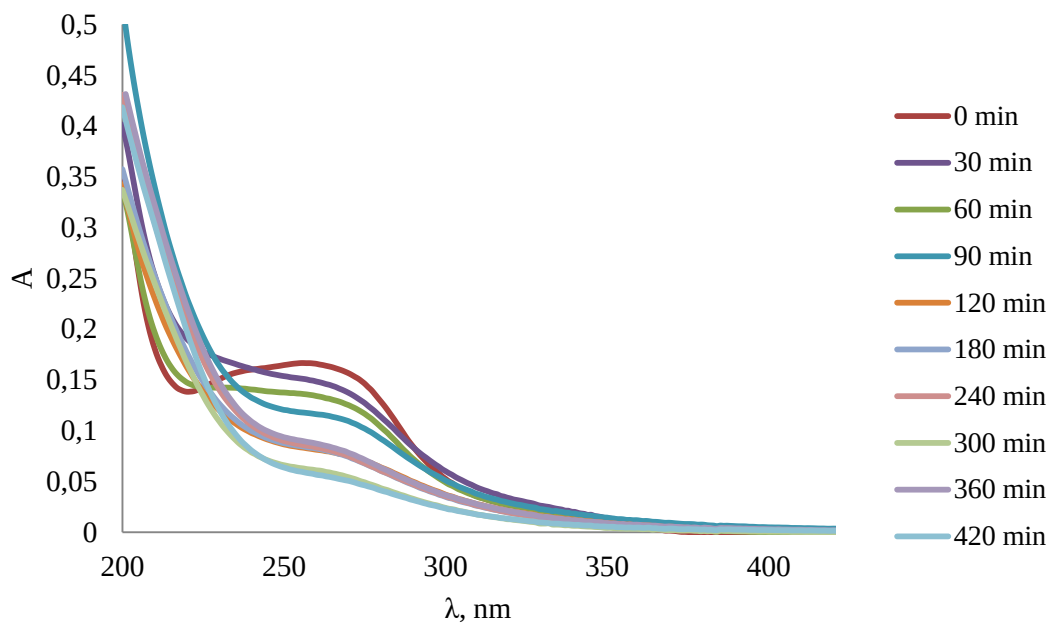
7. PRILOZI



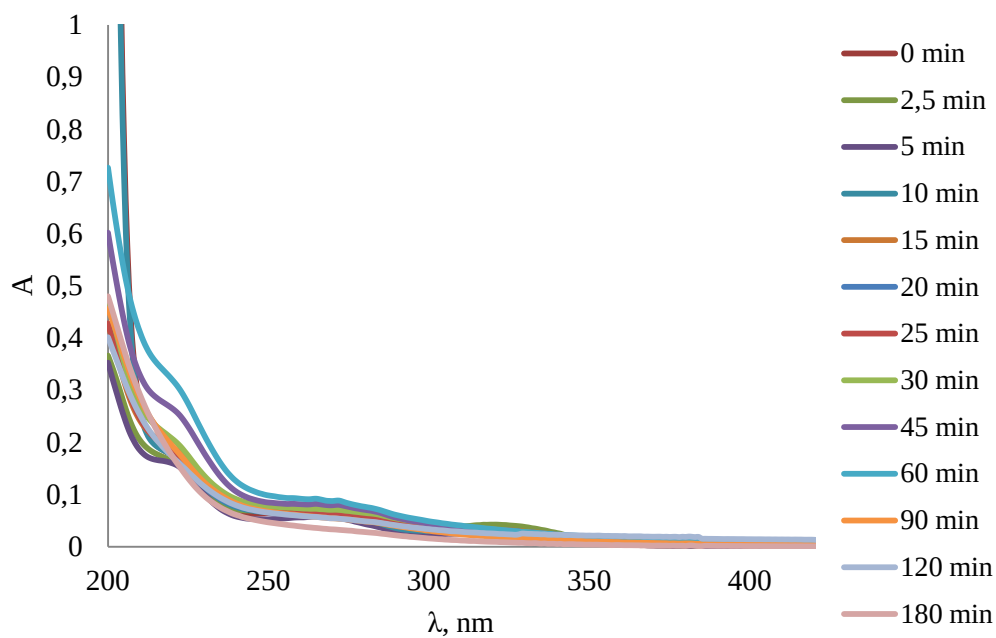
Slika P1. Kinetika fotolitičke razgradnje imatiniba podijeljena u tri područja (10 mg/L, pH 5,25)



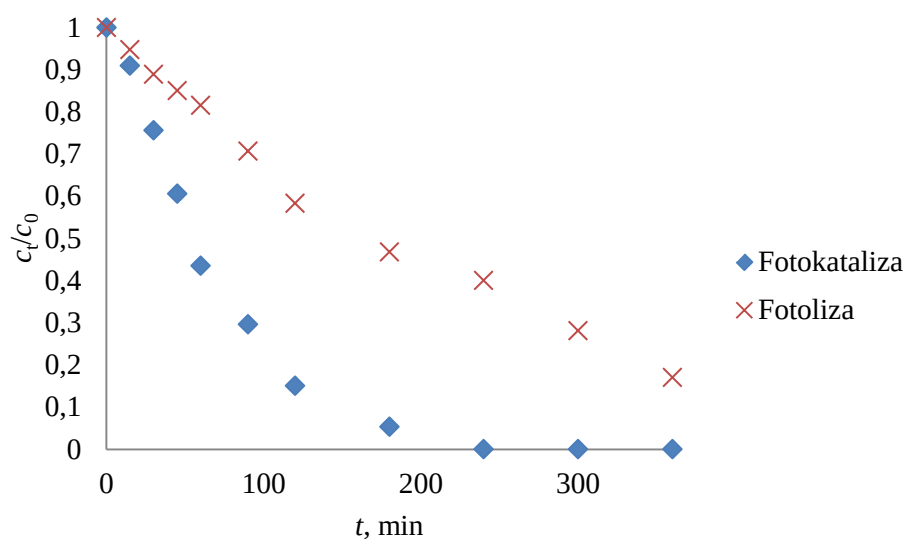
Slika P2. Kinetika fotolitičke razgradnje krizotiniba (10 mg/L, pH 7,14)



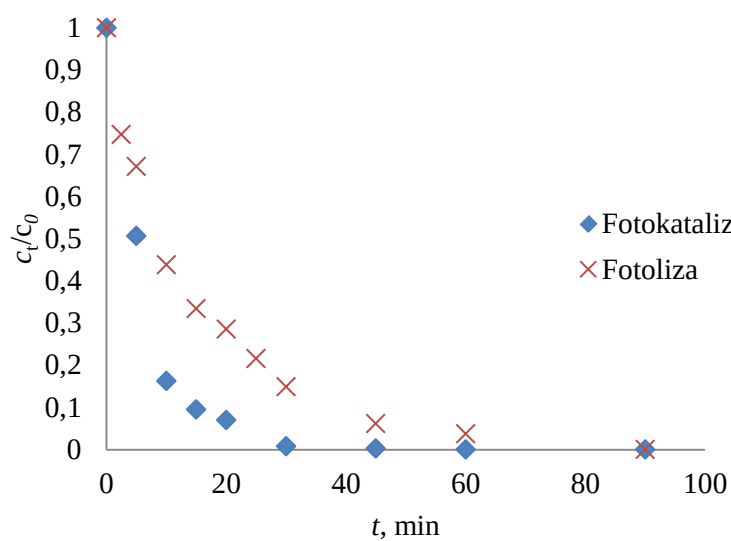
Slika P3. Apsorpcijski spektar imatiniba tijekom 420 minuta fotokatalitičke reakcije pri optimalnim uvjetima (pH 5; 5 mg/L)



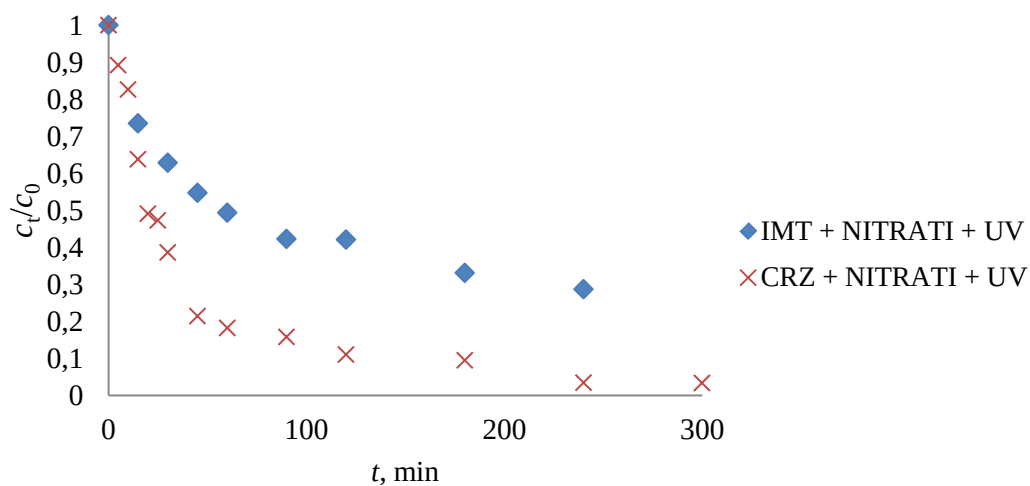
Slika P4. Apsorpcijski spektar krizotiniba tijekom 180 minuta fotokatalitičke reakcije pri optimalnim uvjetima (pH 5; 5 mg/L)



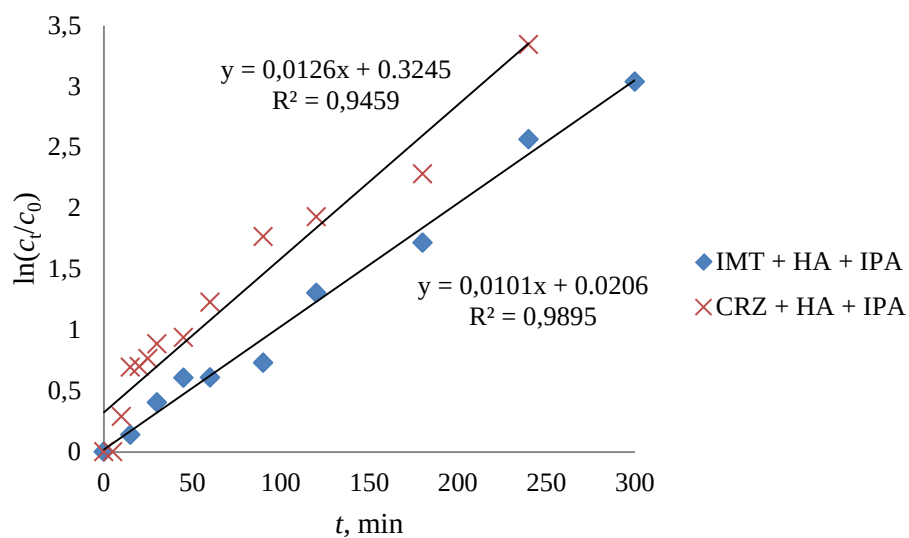
Slika P5. Usporedba fotokatalitičke i fotolitičke razgradnje imatiniba pri optimalnim uvjetima (5 mg/L; pH 5)



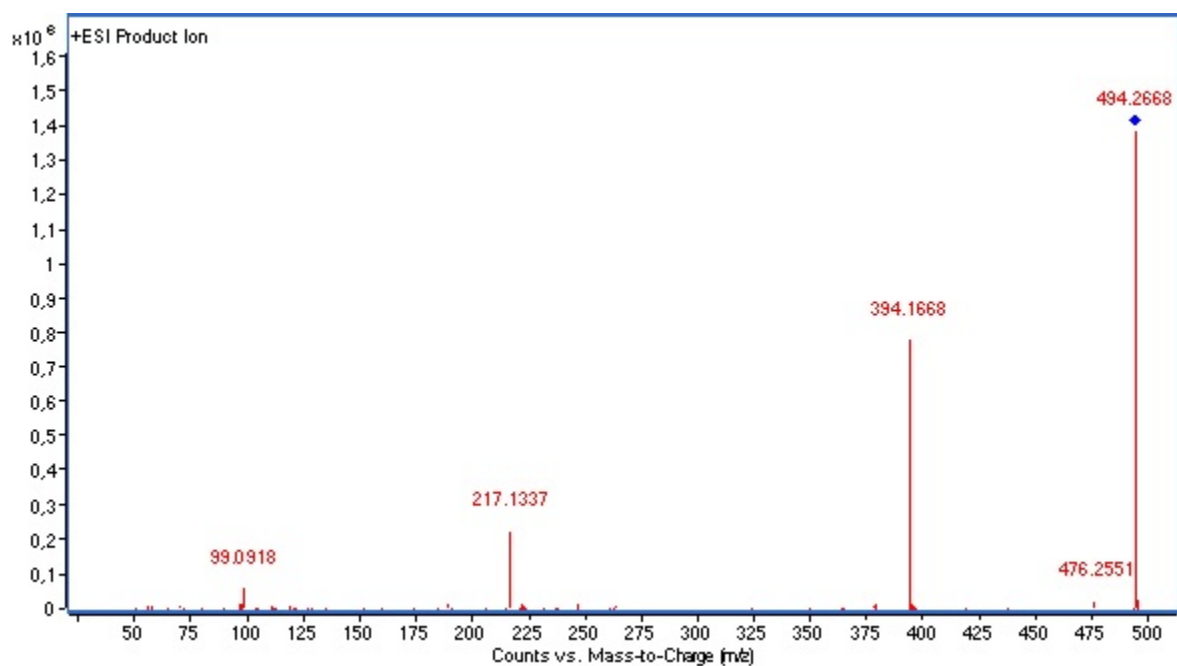
Slika P6. Usporedba fotokatalitičke i fotolitičke razgradnje krizotiniba pri optimalnim uvjetima (5 mg/L; pH 5)



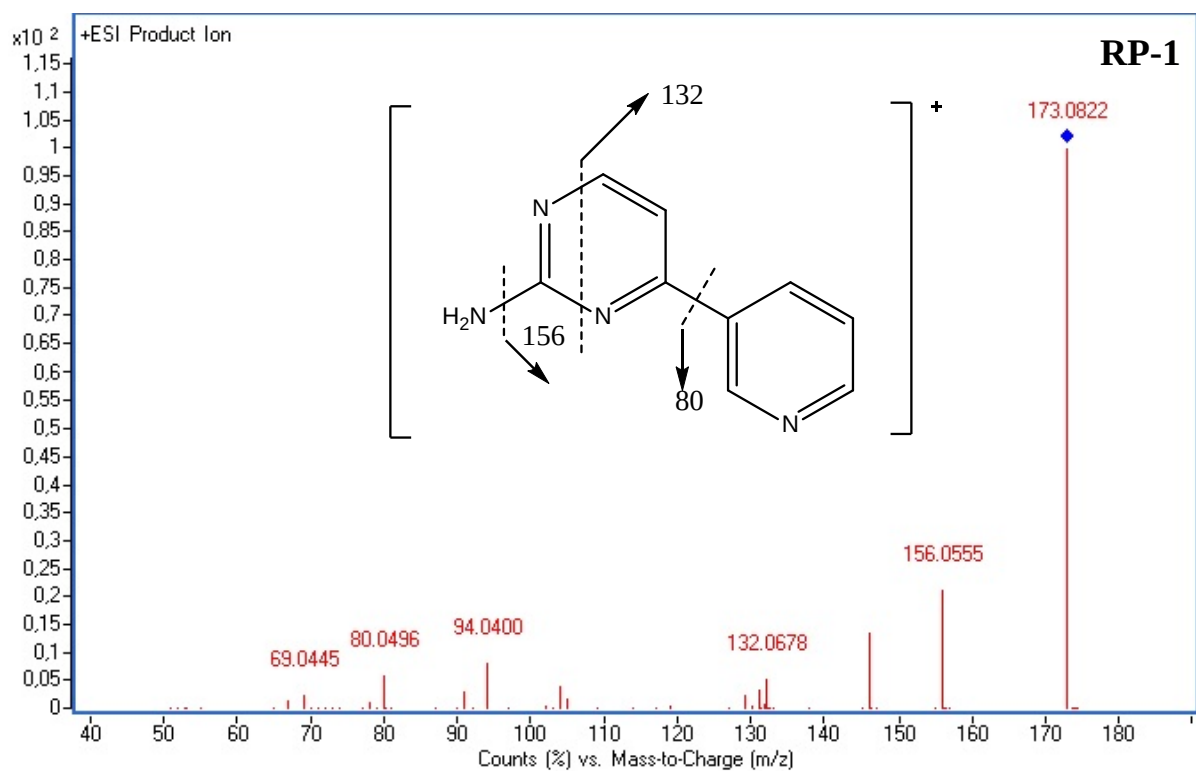
Slika P7. Utjecaj nitrata na razgradnju citostatika bez dodatka fotokatalizatora

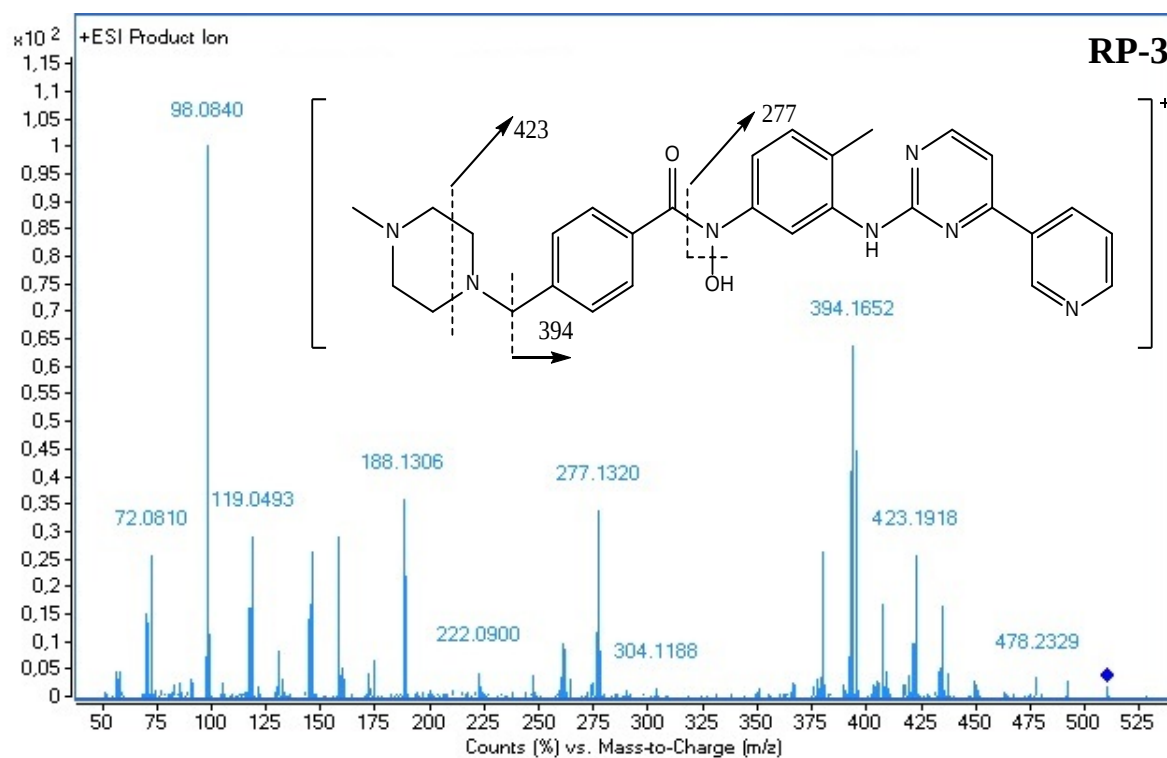
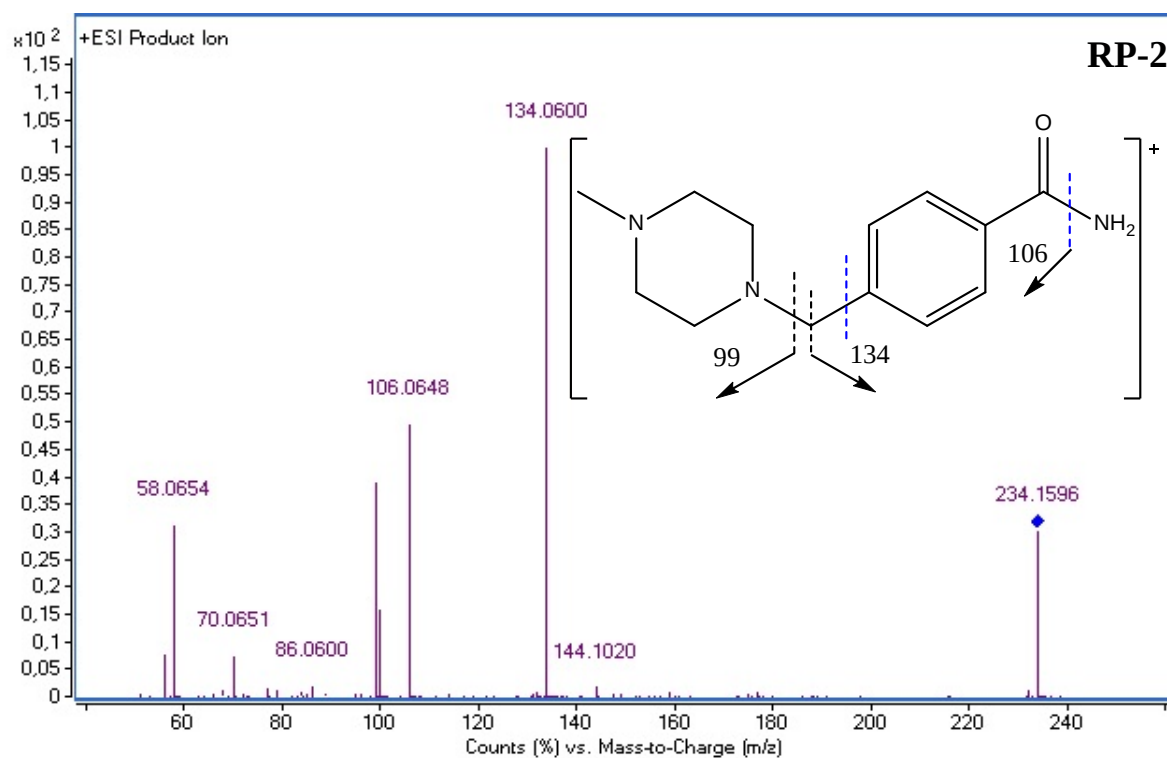


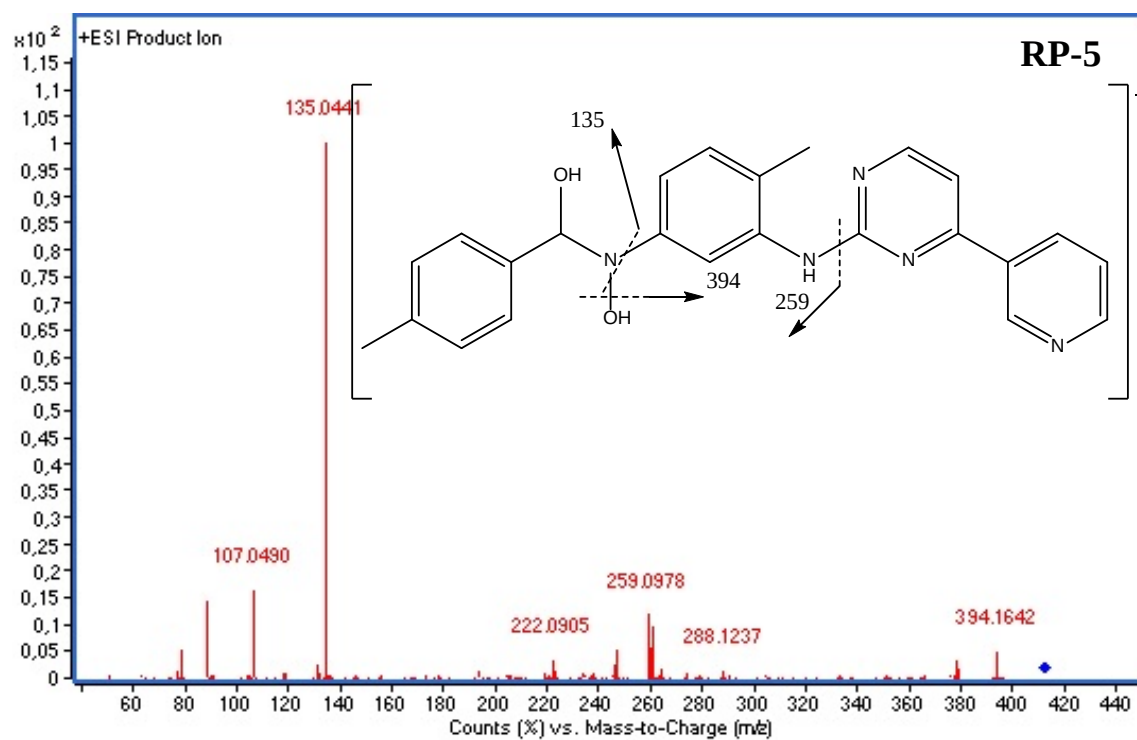
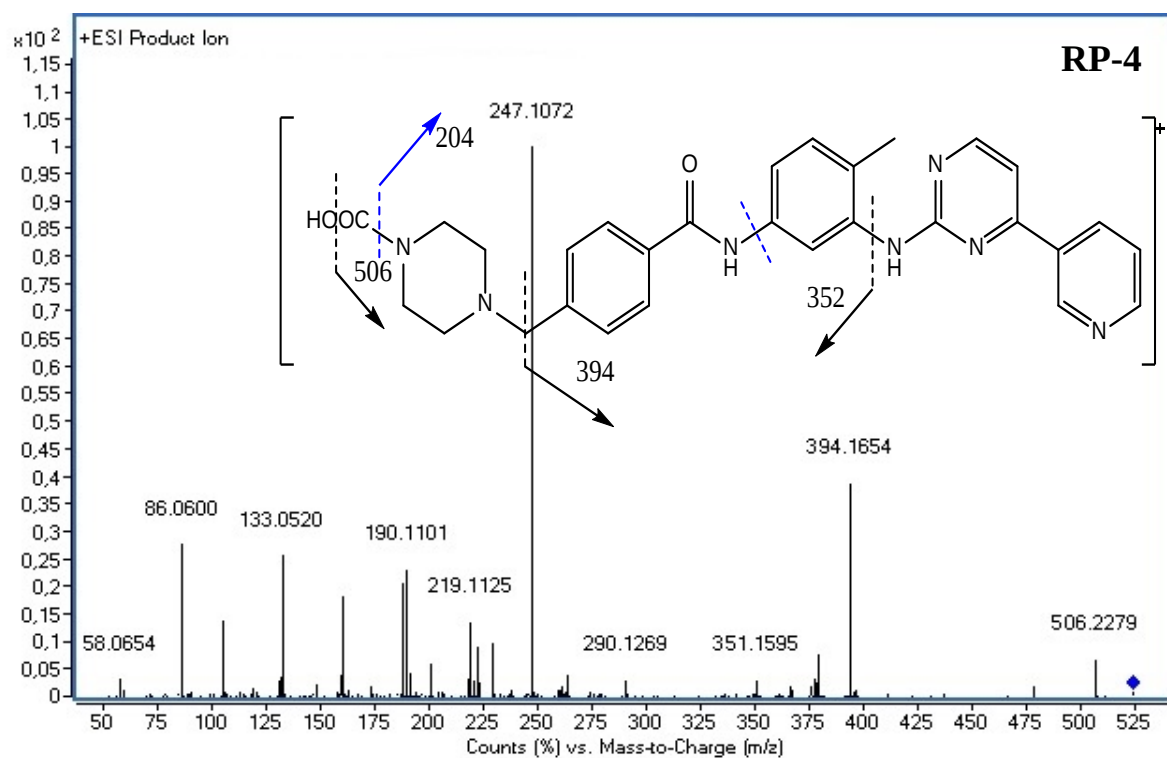
Slika P8. Utjecaj dodatka izopropanola na kinetiku fotokatalitičke razgradnje imatiniba i krizotiniba u prisutnosti huminskih kiselina

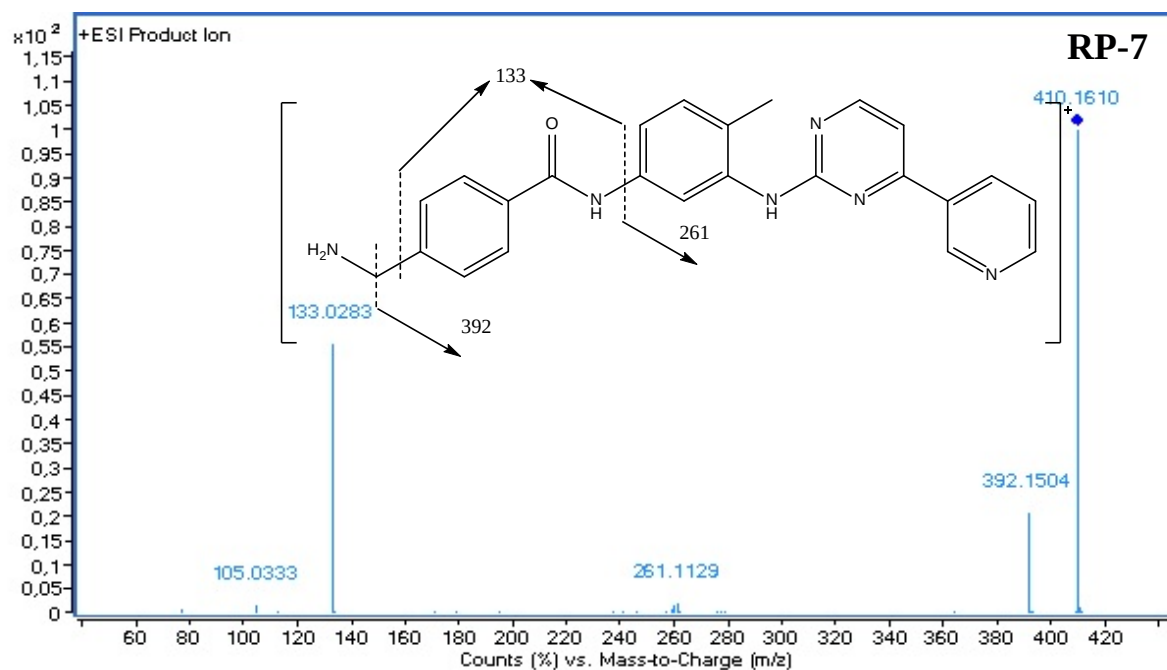
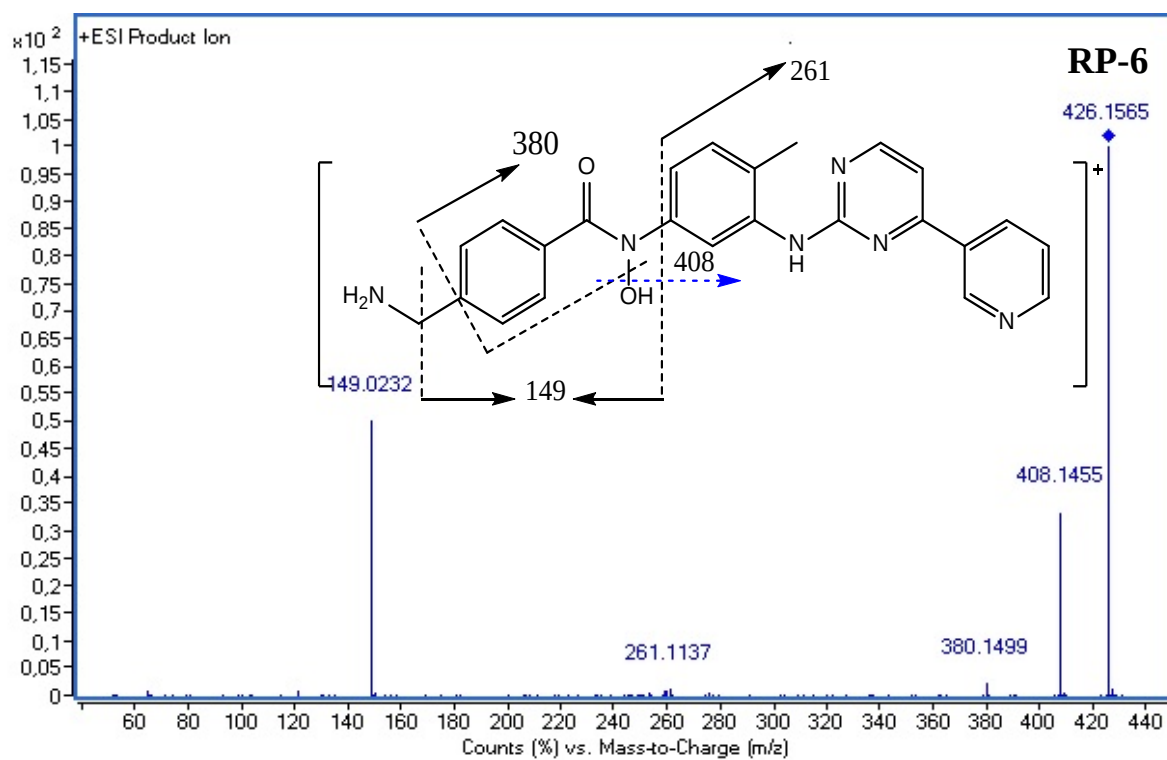


Slika P9. MS/MS spektar za molekulski ion imatiniba

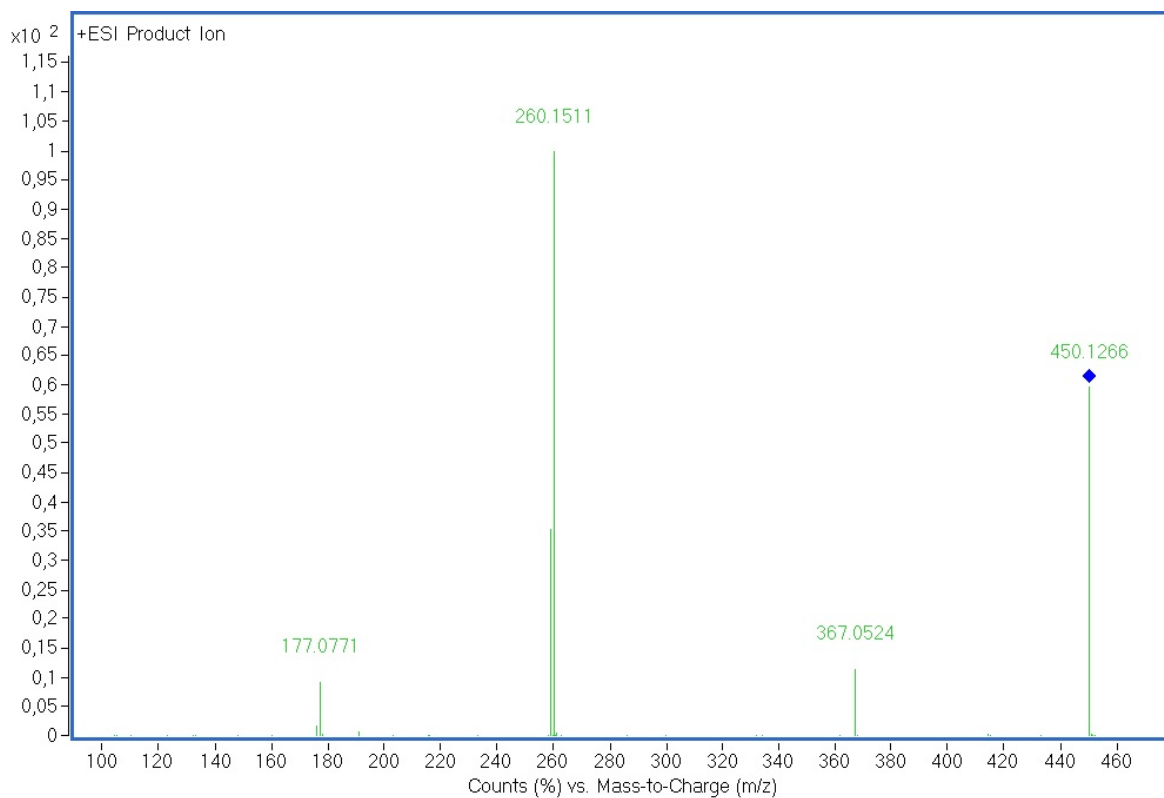




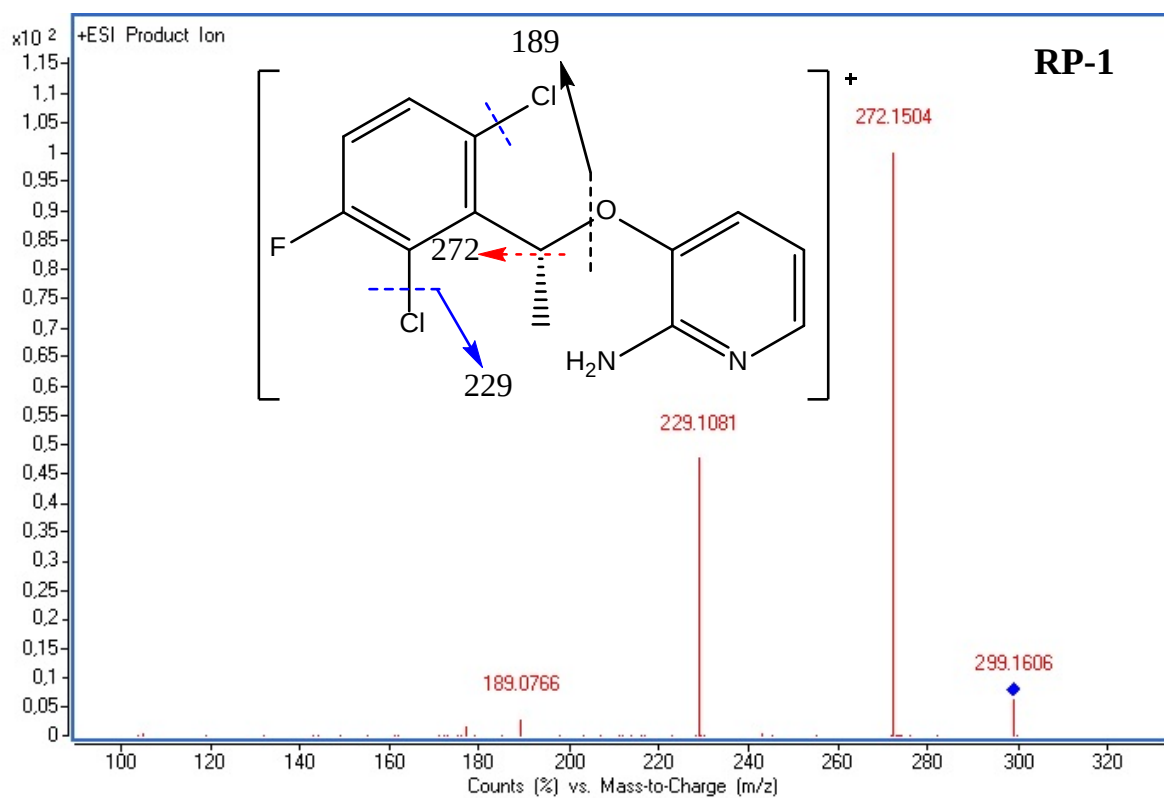


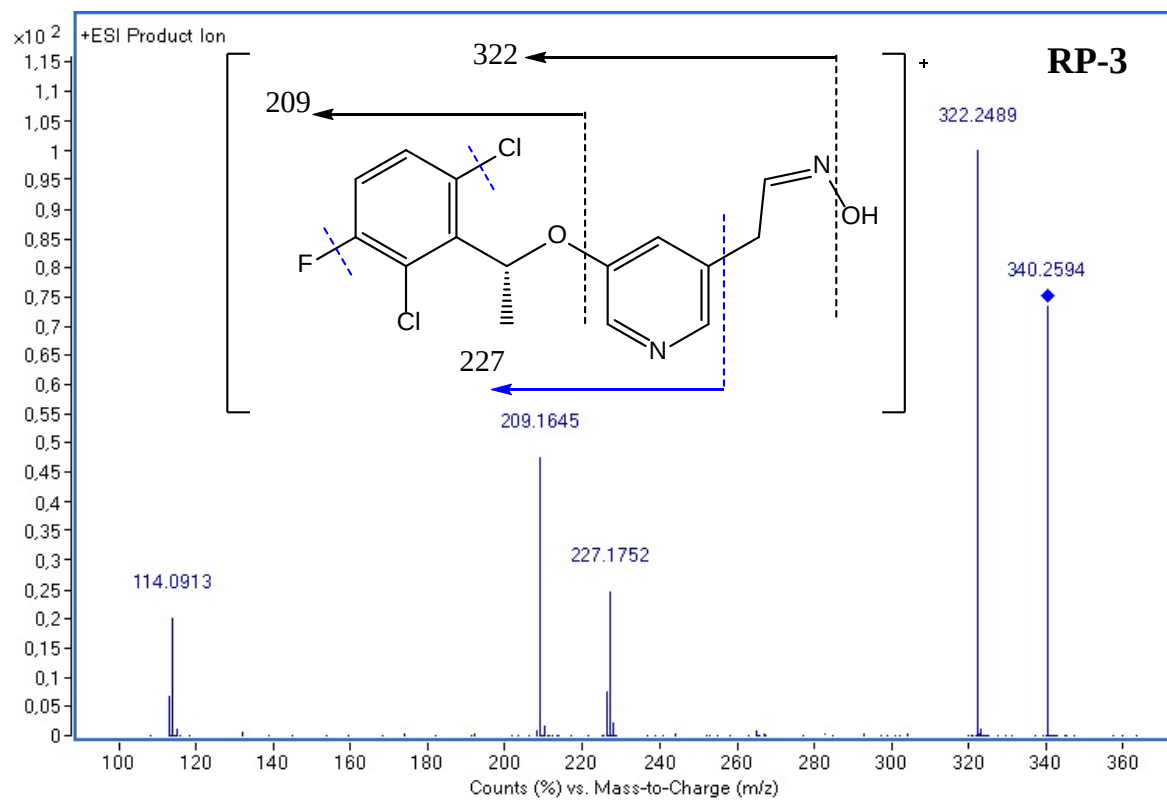
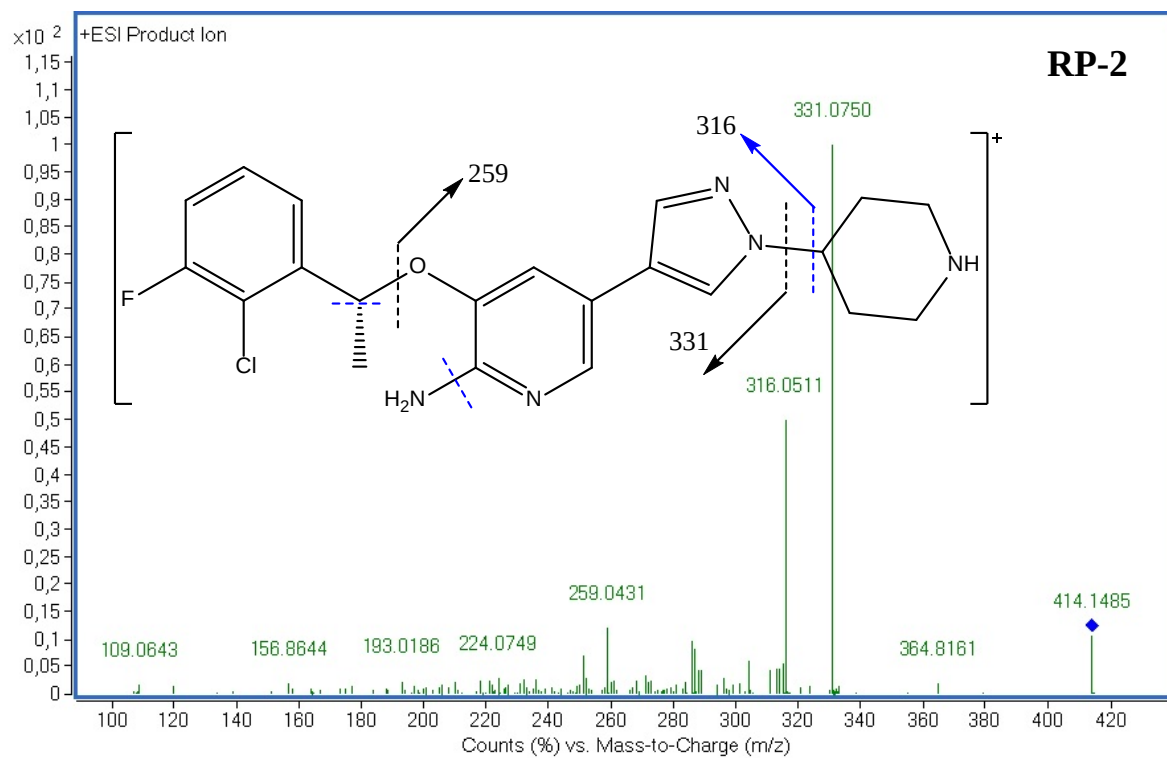


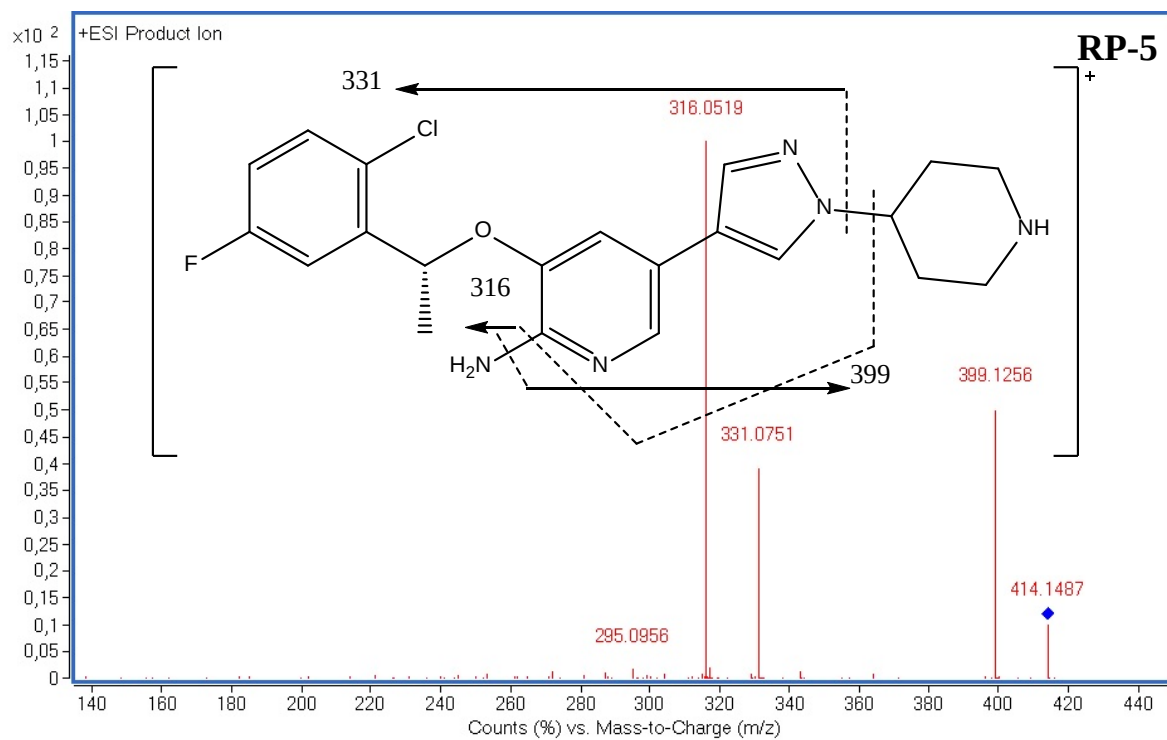
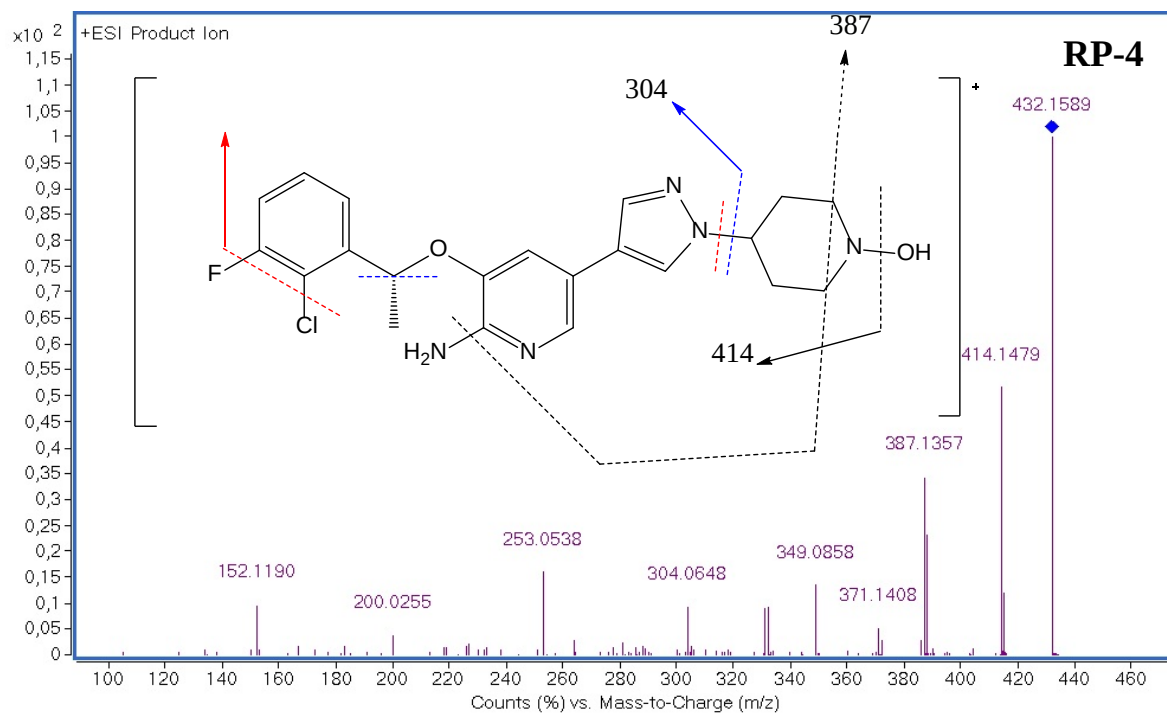
Slika P10. MS/MS spektri razgradnih produkata imatiniba s predloženom fragmentacijom

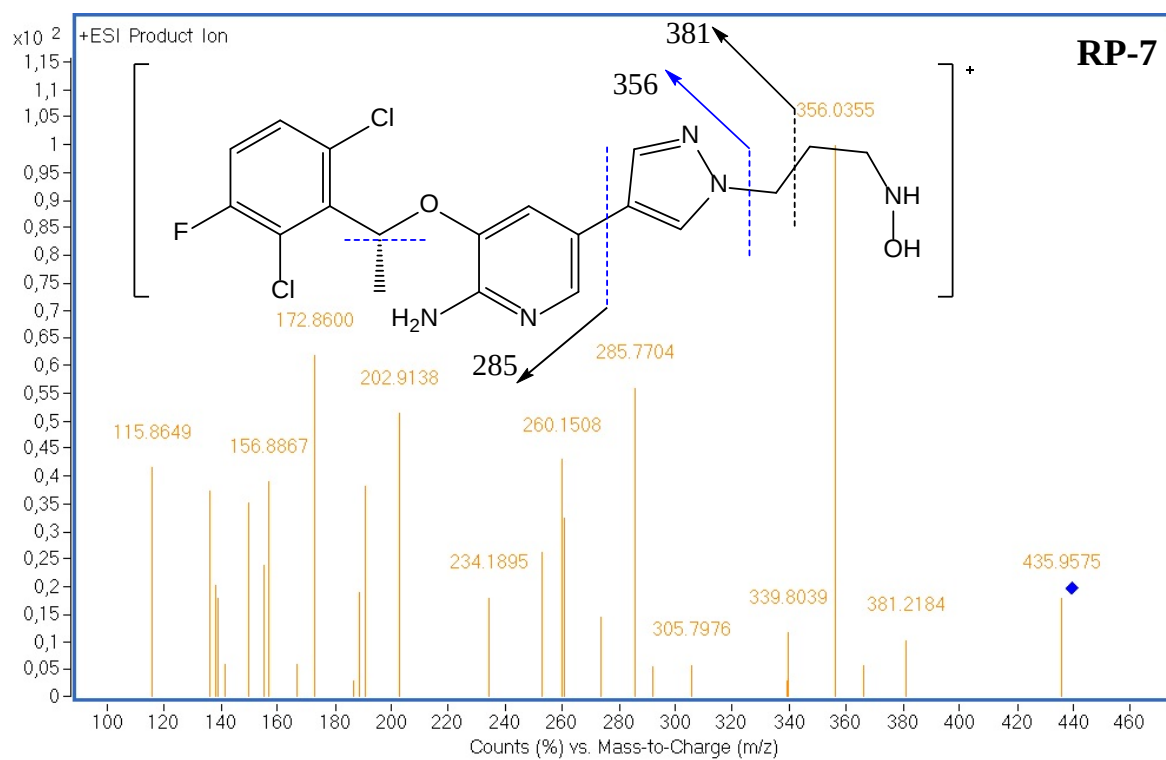
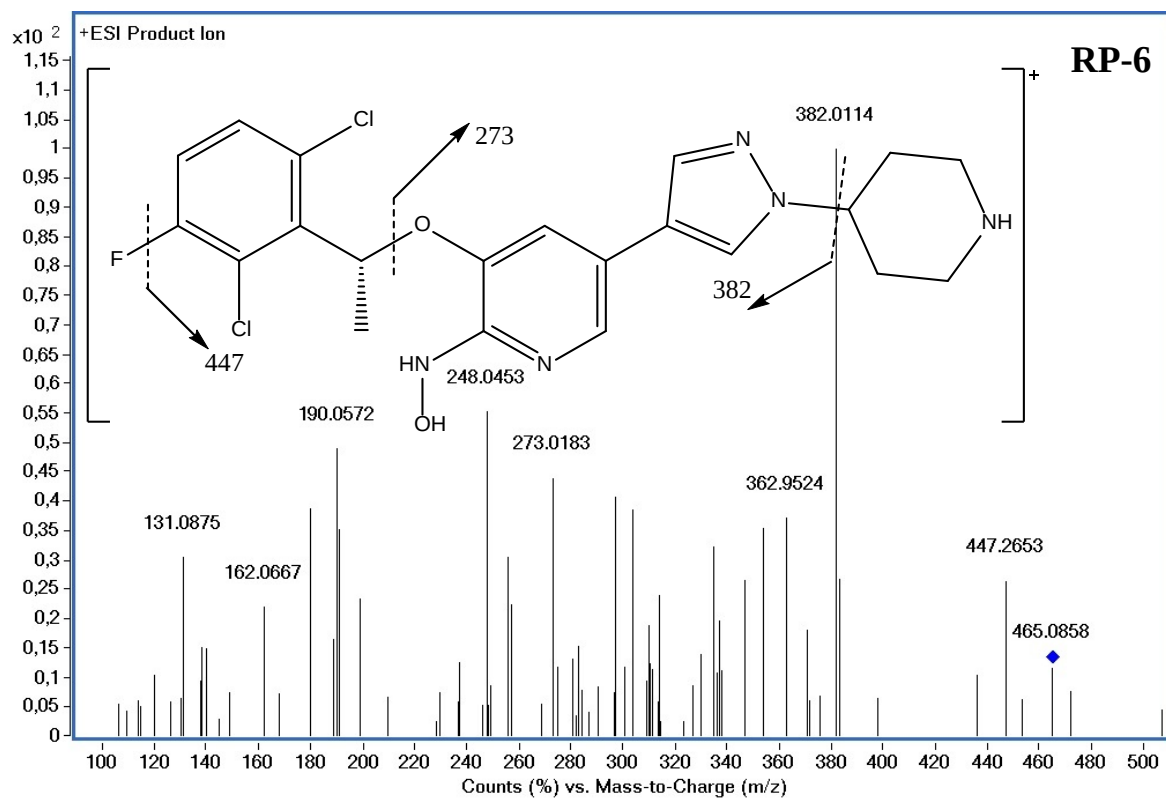


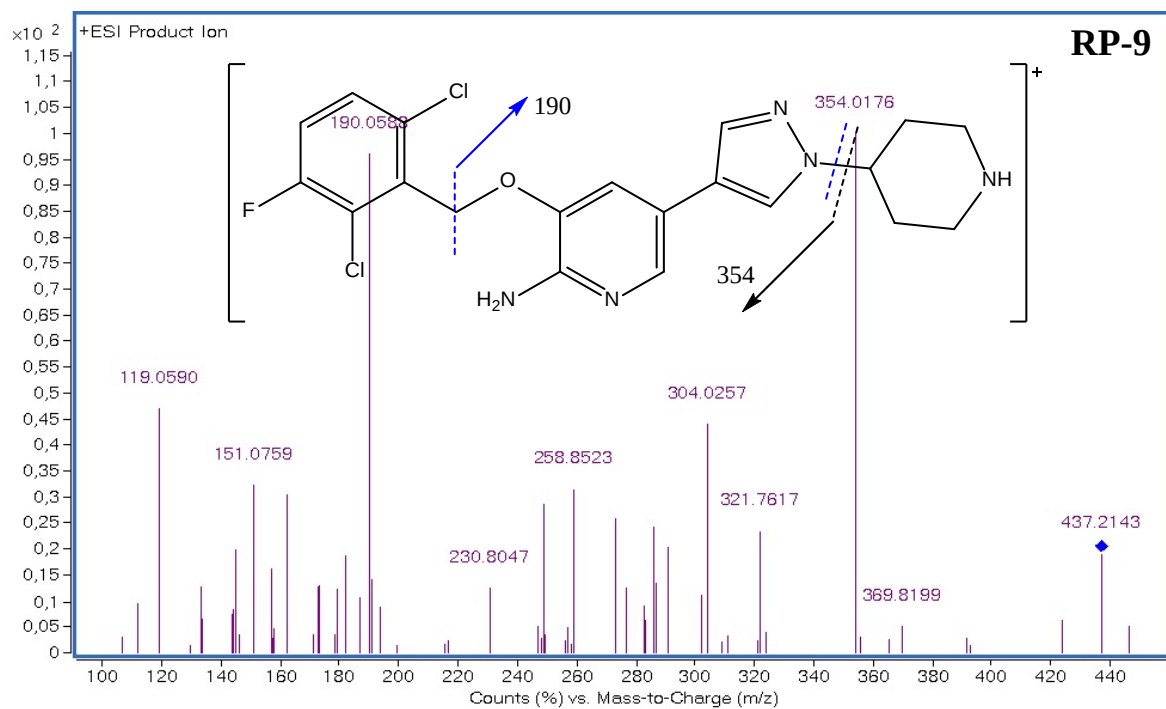
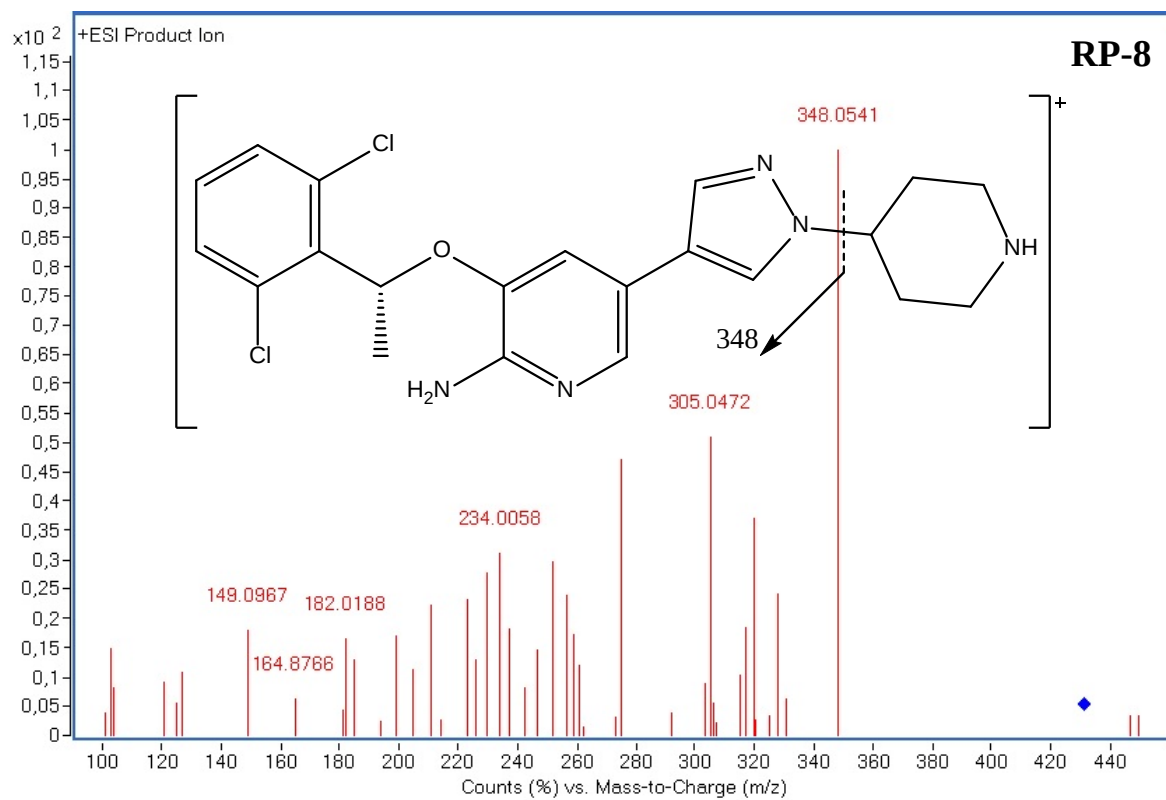
Slika P11. MS/MS spektar molekulskog iona krizotiniba

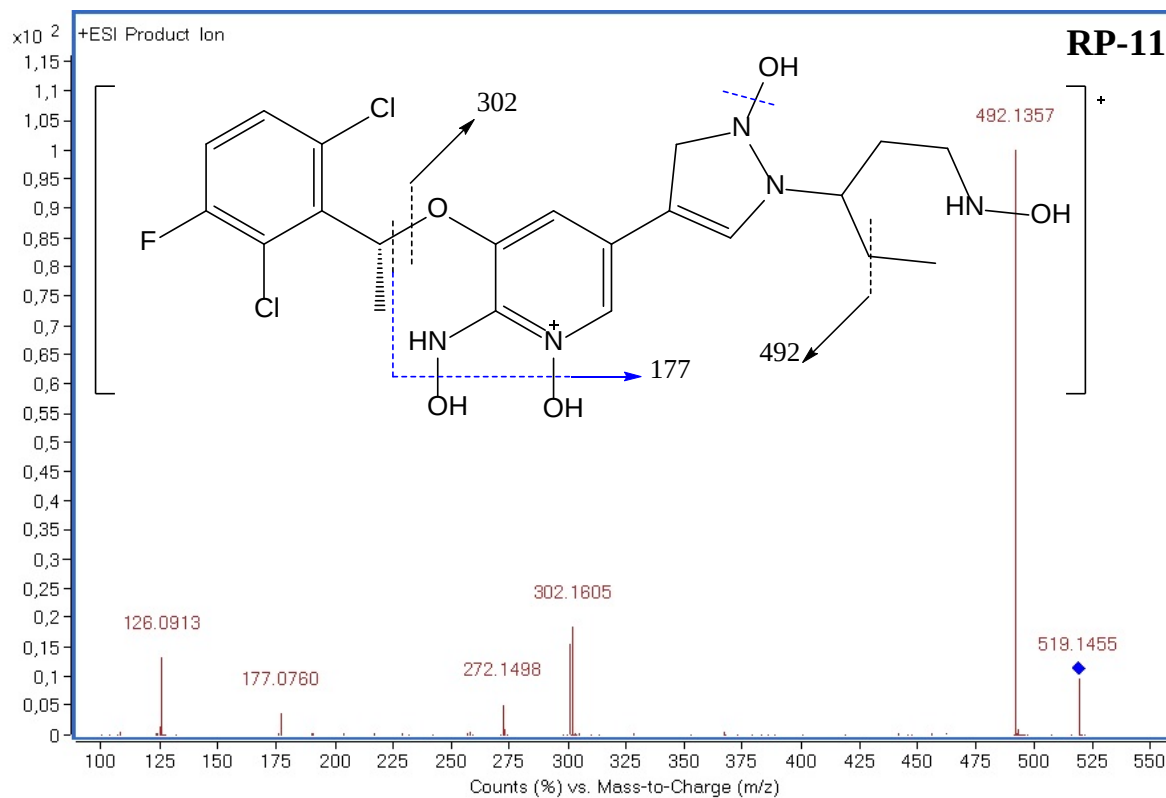
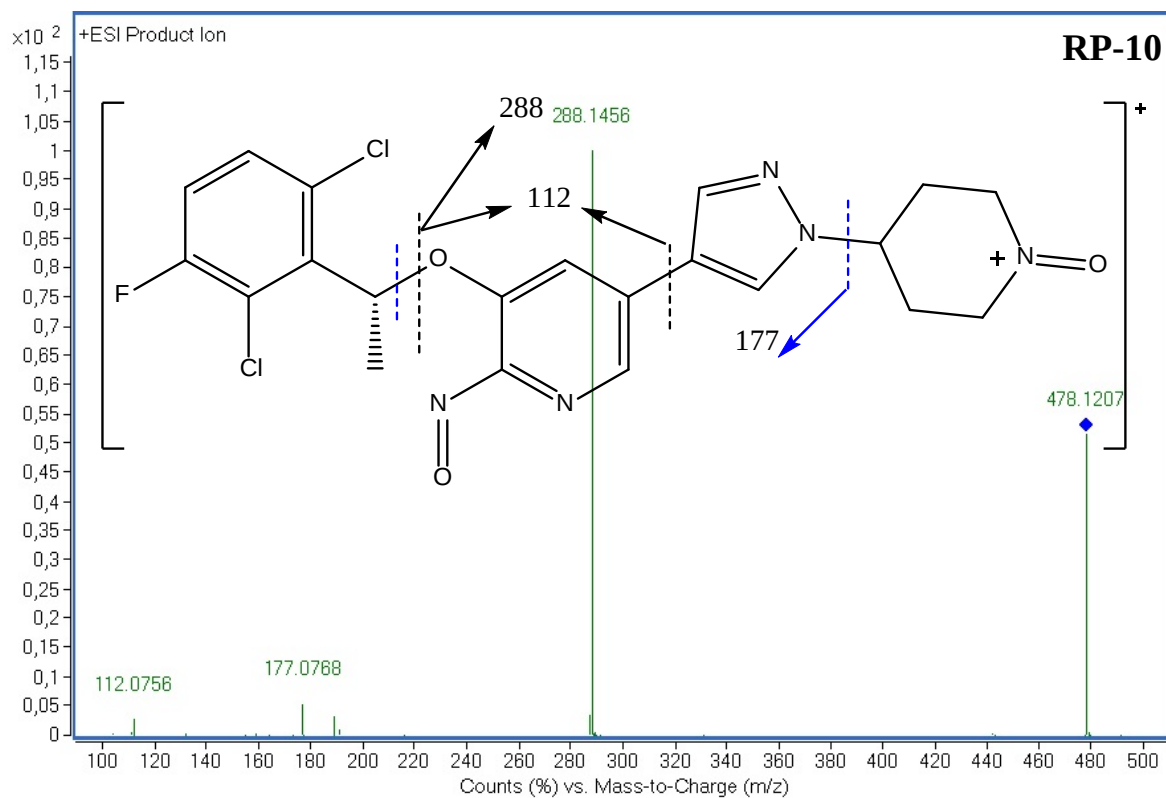


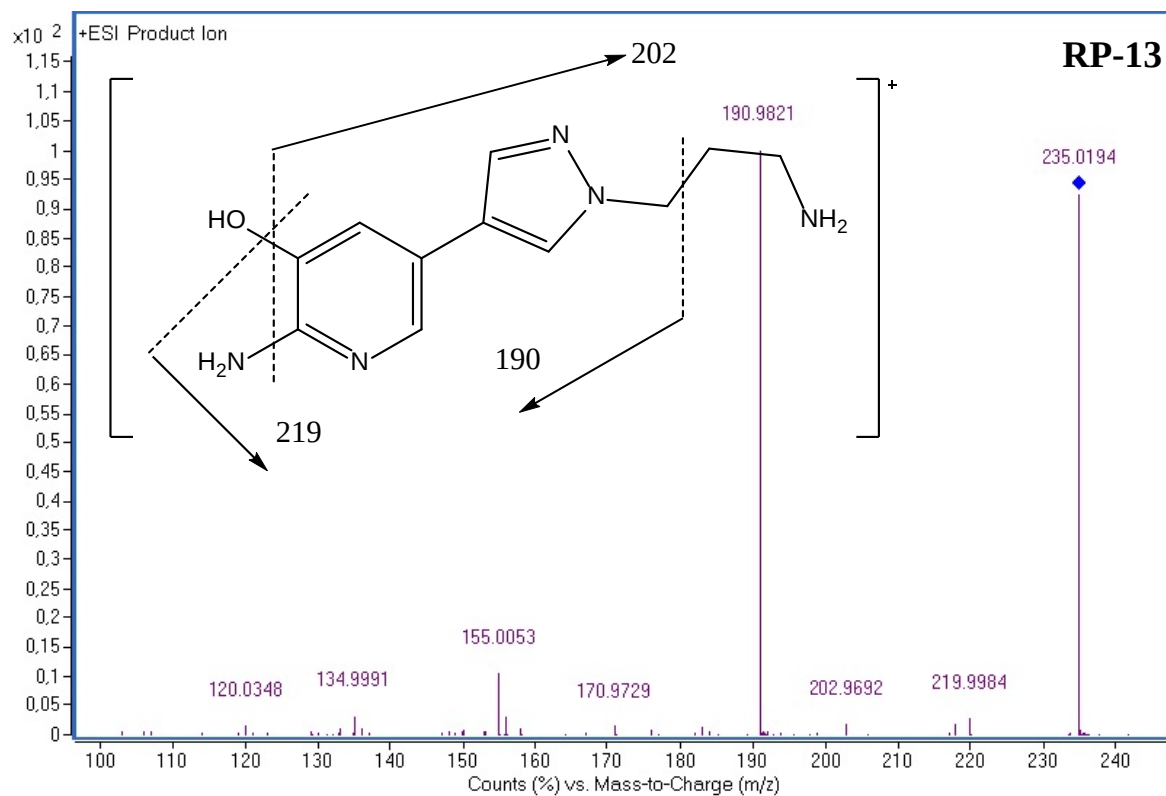
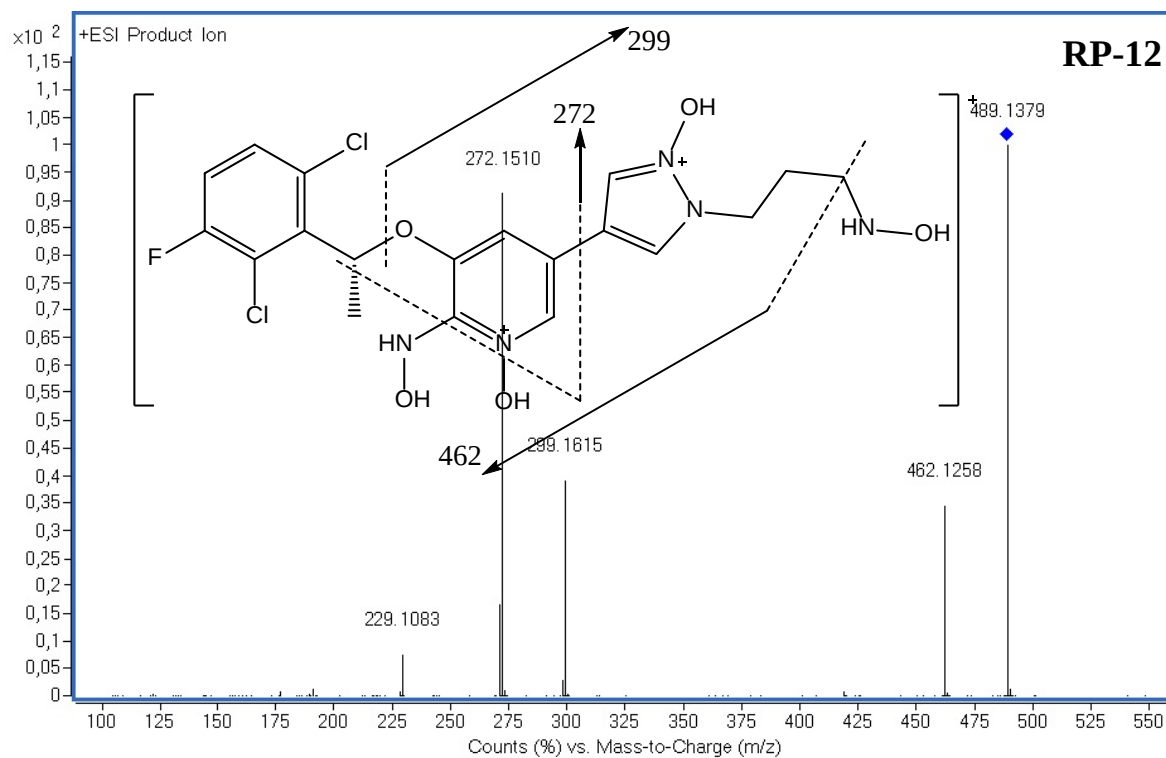


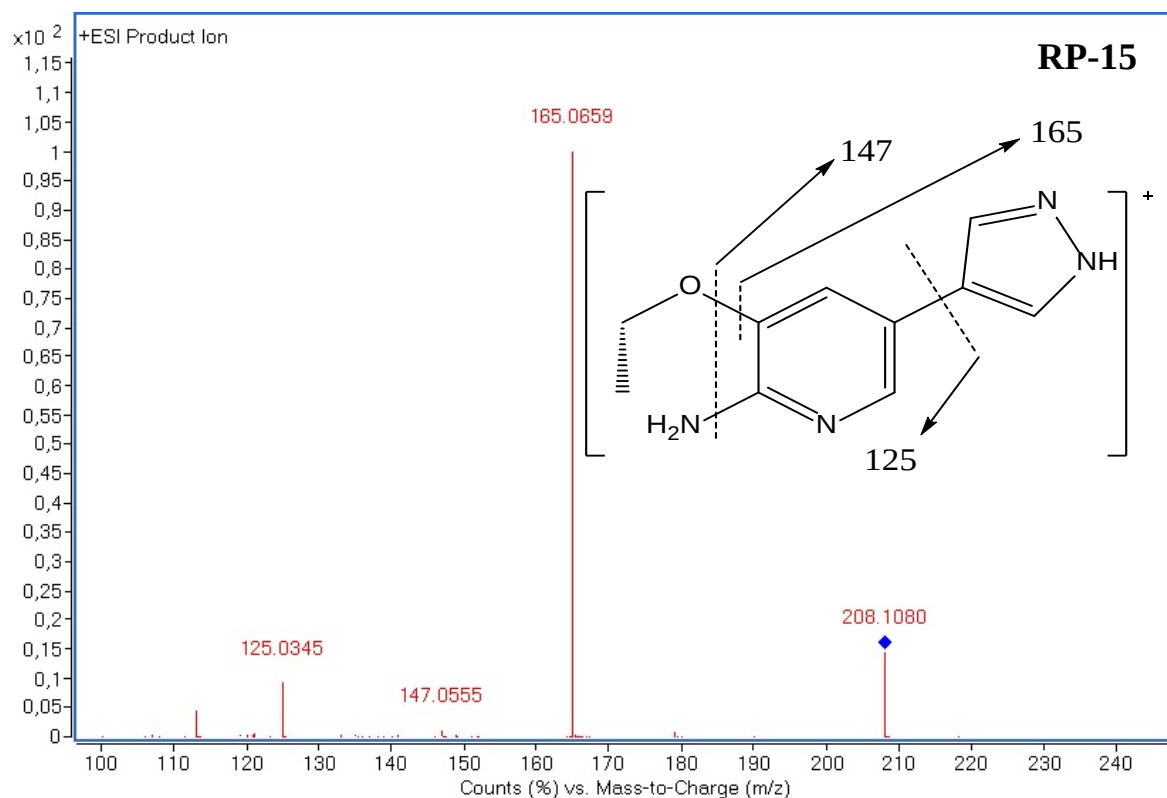
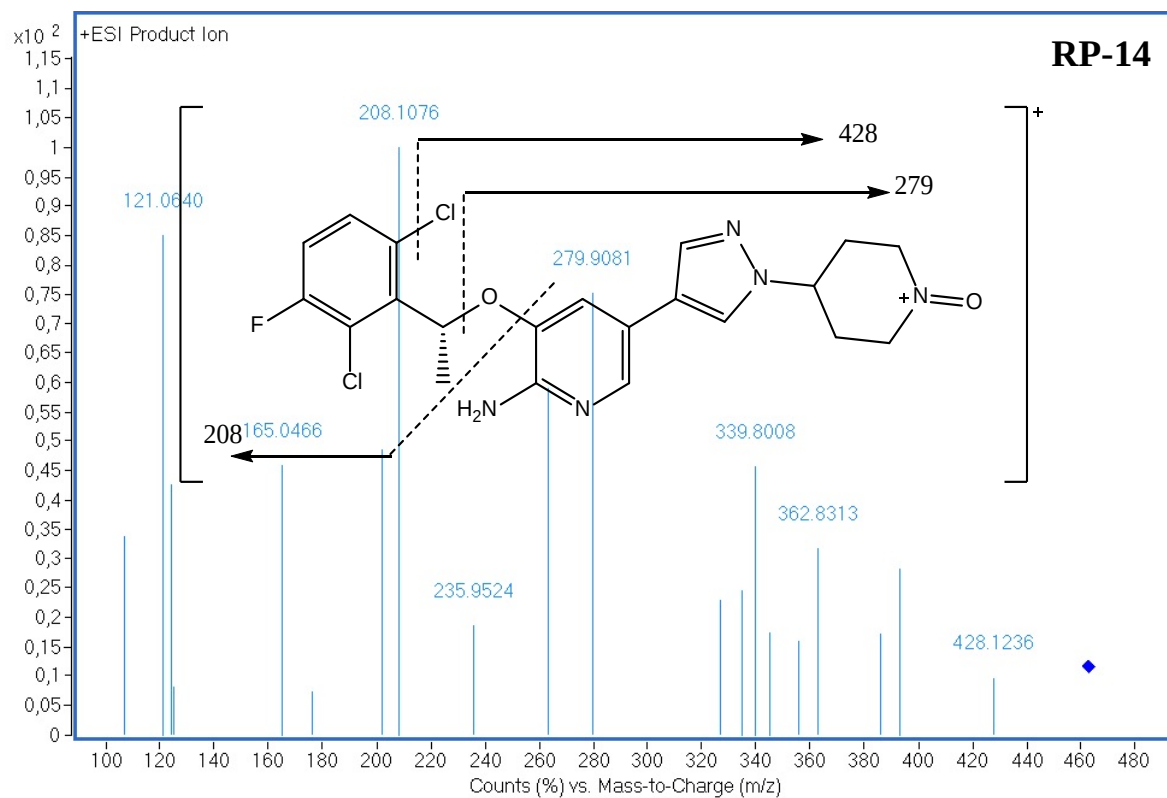












Slika P12. MS/MS spektri razgradnih produkata krizotiniba s predloženom fragmentacijom

Tablica P1. Procjena toksičnosti imatiniba i predloženih razgradnih produkata

Analit	Razvojna toksičnost	BAF Log 10	Mutagenost	Metoda
IMT	0,23	2,00	+0,53	Konsenzus
RP-1	0,51	0,66	-0,21	Konsenzus
RP-2	0,76	0,52	-0,12	Konsenzus
RP-3	0,90	0,30	+0,63	Konsenzus
RP-4	0,80	0,10	-0,32	Konsenzus
RP-5	0,64	0,77	-0,48	Konsenzus
RP-6	0,68	0,47	-0,15	Konsenzus
RP-7	0,71	0,61	+0,75	Konsenzus

Tablica P2. Procjena toksičnosti krizotiniba i predloženih razgradnih produkata

Analit	Razvojna toksičnost	BAF Log 10	Mutagenost	Metoda
CRZ	0,23	2,00	+0,53	Konsenzus
RP-1	/	2,58	+0,67	Najbliži susjed
RP-2	0,29	1,72	-0,35	Konsenzus
RP-3	0,75	1,66	-0,14	Konsenzus
RP-4	0,37	1,49	-0,45	Konsenzus
RP-5	0,19	1,86	-0,28	Konsenzus
RP-6	0,22	1,47	+0,68	Konsenzus
RP-7	0,22	1,32	-0,21	Konsenzus
RP-8	0,37	1,98	-0,31	Konsenzus
RP-9	0,42	1,72	-0,01	Konsenzus
RP-10	0,33	2,13	/	Najbliži susjed
RP-11	0,70	/	+0,66	Konsenzus
RP-12	0,60	/	-0,50	Konsenzus
RP-13	0,32	0,99	+0,73	Konsenzus
RP-14	/	/	2,13	Najbliži susjed
RP-15	0,41	0,44	-0,46	Konsenzus

ŽIVOTOPIS

Kristina Tolić Čop [REDACTED] Završila je Osnovnu školu Augusta Šenoae, a srednjoškolsko obrazovanje pohađala je u Gimnaziji Tituša Brezovačkog, Zagreb. 2012. godine upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, preddiplomski sveučilišni studij Primijenjena kemija. Diplomski studij, smjer Primijenjena organska kemija završila je 2017. godine pod mentorstvom prof. dr. sc. Dragane Mutavdžić Pavlović. Od prosinca 2017. godine zaposlena je na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije. Doktorski studij pod nazivom Kemijsko inženjerstvo i primijenjena kemija na istoimenom Fakultetu upisuje u rujnu 2018. godine. Tijekom studija sudjeluje na projektu: *Istraživanje antioksidativnog djelovanja benzazolskog skeleta u dizajnu novih antitumorskih agensa* (AntioxPot), pod vodstvom prof. dr. sc. Marijane Hranjec u razdoblju od 2018. do 2022. Rezultate do sad provedenih znanstvenih istraživanja objavila je u osam znanstvenih radova, objavljenih u časopisima citiranim u bazi *Curent Contents*. Sudjelovala je na sedam znanstvenih skupova, a s ciljem popularizacije znanosti provodila je i radionice na Danu otvorenih vrata Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, Festivalu znanosti te Europskoj noći istraživača (2019.) u Zagrebu.

POPIS ZNANSTVENIH RADOVA OBJAVLJENIH U BAZI *Current Contents*

1. **K. Tolić**, D. Mutavdžić Pavlović, D. Židanić, M. Runje, Nitrofurantoin in sediment and soils: Sorption, isotherms and kinetics, *Sci. Tot. Environ.* 681 (2019) 9-17.
2. **K. Tolić**, D. Mutavdžić Pavlović, N. Stankir, M. Runje, Biosorbents from tomato, tangerine, and maple leaves for the removal of ciprofloxacin from aqueous media, *Water Air Soil Pollut.* 232 (2021) 1-16.
3. **K. Tolić**, M. Runje, T. Gazivoda Kraljević, D. Mutavdžić Pavlović, Identification of crizotinib major degradation products obtained under stress conditions by RP-UHPLC-HRMS, *Croat. Chem. Acta* 94 (2021) 17-24.
4. D. Dabić, M. Hanževački, I. Škorić, B. Žegura, K. Ivanković, M. Biošić, **K. Tolić**, S. Babić, Photodegradation, toxicity and density functional theory study of pharmaceutical metoclopramide and its photoproducts, *Sci. Total Environ.* 807 (2022) 150694.
5. **K. Tolić Čop**, D. Mutavdžić Pavlović, K. Duić, M. Pranjić, I. Fereža, I. Jajčinović, I. Brnardić, V. Špada, Sorption potential of different forms of TiO₂ for the removal of two anticancer drugs from water, *Appl. Sci.* 12 (2022) 4113.
6. D. Mutavdžić Pavlović, **K. Tolić Čop**, V. Barbir, M. Gotovuša, I. Lukač, A. Lozančić, M. Runje, Sorption of cefdinir, memantine, praziquantel and trimethoprim in sediment and soil samples, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 29 (2022) 66841-66857.
7. **K. Tolić Čop**, D. Mutavdžić Pavlović, T. Gazivoda Kraljević, Photocatalytic activity of TiO₂ for the degradation of anticancer drugs, *Nanomaterials* 12 (2022) 3532.
8. D. Mutavdžić Pavlović, **K. Tolić Čop**, H. Prskalo, M. Runje, Influence of organic matter on the sorption of cefdinir, memantine and praziquantel on different soil and sediment samples, *Molecules* 27 (2022) 8008.

RADOVI U ZBORNICIMA SKUPOVA

1. I. Jajčinović, I. Brnardić, S. Kožuh, **K. Tolić**, The impact of multiwall carbon nanotubes on the photocatalytic properties of immobilized TiO_2 , 18th International Foundrymen Conference, Sisak, 15.–17. svibnja 2019.
2. I. Jajčinović, D. V. Lukšić, **K. Tolić**, L. Brnardić, T. Holjevac Grgurić, Influence of graphene oxide on photocatalytic properties of titan (IV) oxide, 18th International Conference Ružička Days, "Today Science - Tomorrow Industry", Vukovar, 16.–18. rujna 2020.
3. I. Jajčinović, L. Brnardić, L. Borošić, **K. Tolić**, Impact of TiO_2 drying procedure on removal of micropollutants from water, 2nd International Conference the Holistic Approach to Environment, Sisak, 28. svibnja 2021.