

Ispitivanje utjecaja različitih parametara na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

Barbir, Vendi

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:149:886402>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Vendi Barbir

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Vendi Barbir

**ISPITIVANJE UTJECAJA RAZLIČITIH PARAMETARA NA
FOTOKATALITIČKU RAZGRADNJU KRIZOTINIBA**

DIPLOMSKI RAD

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

Članovi povjerenstva: prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

prof. dr. sc. Marijana Hranjec

prof. dr. sc. Ivan Brnardić

Zagreb, rujan 2021.

Prije svega, zahvaljujem se prof. dr. sc. Dragani Mutavdžić Pavlović na ukazanom povjerenju i potpori tijekom izrade ovog i svih prethodno napisanih radova pod njezinim mentorstvom. Ugodnim razgovorima i savjetima omogućila mi je da svaki posao obavim kvalitetnije i lakše.

Također se zahvaljujem asistentici Kristini Tolić mag.appl.chem. koja mi je uvijek pomagala i ohrabrivala u svakodnevnom laboratorijskom radu.

Zahvalu upućujem i prof. dr. sc Ivanu Brnardiću te Igoru Jajčinoviću, mag. ing. oecoing. s Metalurškog fakulteta u Sisku na pripremljenim staklenim mrežicama s imobiliziranim TiO₂.

Isto tako se zahvaljujem i cijelom ostalom osoblju Zavoda za Analitičku kemiju, a posebno tehničarkama Tanji Ivančić i Slavici Kos za svaku asistenciju pri izradi eksperimentalnog dijela ovog rada.

Naposljetku, velika hvala mojoj obitelji, rodbini i prijateljima koji su me podupirali tijekom svih godina provedenih na FKIT-u.

SAŽETAK

Ispitivanje utjecaja različitih parametara na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba

Fotokataliza je ekološki prihvatljiva tehnika koja spada u tzv. napredne oksidacijske procese. Ova metoda je obećavajuća alternativa za razgradnju mnogih organskih zagađivala, koja primjenjuje poluvodičke okside za pretvorbu Sunčeve energije pri pročišćavanju okoliša.

Titanijev dioksid (TiO_2) je metalni poluvodič koji je u središtu intenzivnih istraživanja za sanaciju okoliša u zagađenom zraku i otpadnim vodama. Među mnogim drugim kandidatima jedini je prikladan za industrijsku primjenu jer pokazuje dobar kompromis između učinkovite fotoaktivnosti, visoke stabilnosti i niskih troškova.

U ovom radu ispitan je utjecaj različitih parametara na fotokatalitičku razgradnju farmaceutika krizotiniba u vodenom okolišu, uz titanijev dioksid imobiliziran na mrežicu kao fotokatalizator. Kao izvor zračenja u fotoreaktoru korištena je UV-A lampa. Razgradnja krizotiniba praćena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, HPLC spojenom na detektor s nizom dioda, DAD.

Određena je kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje krizotiniba, koja se može opisati reakcijom razgradnje 1. reda. Također, odredio se utjecaj slobodnih radikala na mehanizam razgradnje te se pokazalo da među provjerenima singletni kisik ima značajnu ulogu.

Utvrđili su se optimalni uvjeti razgradnje krizotiniba pri početnoj koncentraciji od 5 mg L^{-1} i pH-vrijednosti otopine 5, koji su se prikazali grafički statističkim alatom ANOVA.

Na kraju se ispitala toksičnost krizotiniba bioanalitičkom metodom pomoću bakterijske kulture *Vibrio fischeri*, koja je pokazala da krizotinib pokazuje inhibiciju od 20 % pri većim koncentracijama od 5 mg L^{-1} . Računalnim programom TEST predvidjele su se pozitivne vrijednosti razvojne toksičnosti i mutagenosti, kao i srednja vrijednost akumulacije u okolišu, što može dovesti do ulaska krizotiniba u prehrambeni lanac.

Ključne riječi: fotokatalitička razgradnja, farmaceutici, krizotinib, titanijev dioksid (TiO_2), toksičnost

ABSTRACT

Influence investigation of different parameters on photocatalytic degradation of crizotinib

Photocatalytic degradation is an environmentally accepted technique that belongs to the Advanced Oxidation Processes. This method is a promising alternative for many organic pollutants decomposition, which applies semiconductor oxides to convert solar energy in environmental purification.

Titanium dioxide (TiO₂) is a metal semiconductor that is at the center of intensive research to rehabilitate the environment in polluted air and wastewater. Among many other candidates, it is the only one suitable for industrial application because it shows a good compromise between efficient photo-activity, high stability, and low cost.

In this paper, we investigated the influence of different parameters on the photocatalytic degradation of crizotinib in an aqueous environment, with titanium dioxide immobilized on the mesh as a photocatalyst. For the radiation source in the photoreactor was used UV lamp. Degradation of crizotinib was monitored by high-performance liquid chromatography, HPLC coupled to a diode array detector, DAD.

The kinetic of photolytic and photocatalytic degradation of crizotinib followed the first-order degradation reaction. Also, the influence of free radicals on the degradation mechanism was determined and it was shown that singlet oxygen plays a significant role.

Optimal degradation conditions for crizotinib are plotted in the ANOVA statistical tool. And they are at an initial concentration of 5 mg L⁻¹ and pH of solution 5.

Finally, a bioanalytical method using the bacterium *Vibrio fischeri* showed that this drug causes inhibition of 20% at higher concentrations than the initial 5 mg L⁻¹. Computer program TEST predicted positive values for developmental toxicity and mutagenicity, and also medium accumulation in the environment, which can lead to entry into the food chain.

Keywords: photocatalytic degradation, pharmaceuticals, crizotinib, titanium dioxide (TiO₂), toxicity

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Farmaceutici.....	4
2.1.1. Farmaceutici u okolišu	4
2.1.2. Antitumorski lijekovi u okolišu	5
2.1.3. Pirazolilpiridini	6
2.1.4. Krizotinib	6
2.1.5. Način djelovanja krizotiniba	6
2.2. Postupci obrade vode.....	8
2.2.1. Napredni oksidacijski procesi (AOP)	8
2.3. Fotokemija: Izravna fotoliza i fotokataliza	10
2.3.1. Fotoliza	10
2.3.2. Fotokataliza	12
2.3.2.1. Titanijev dioksid (TiO_2).....	13
2.3.2.2. Mehanizam fotokatalitičke primjene TiO_2	14
2.3.2.3. Fotokatalitički reaktor s TiO_2	16
2.3.2.4. Parametri koji utječu na fotokatalitičku razgradnju.....	17
2.4. Toksičnost– <i>Vibrio fischeri</i> [55]	21
3. EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1. Materijali	23
3.1.1. Kemikalije	23
3.2. Instrumenti.....	24
3.2.1. Analitička vaga.....	24
3.2.2. pH-metar	24
3.2.3. Fotokatalitički reaktor	25
3.2.4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)	26
3.2.5. Luminometar s termoblokom.....	26
3.3. Opis rada.....	27
3.3.1. Priprema standardnih otopina krizotiniba.....	27
3.3.2. Priprema standardnih otopina krizotiniba za Scavenging test	27
3.3.3. Fotoliza krizotiniba.....	28
3.3.4. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba	28
3.3.5. Analiza uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC-DAD)	29

4. REZULTATI I RASPRAVA	30
4.1. Hidroliza krizotiniba	31
4.2. Adsorpcija krizotiniba	33
4.3. Fotolitička razgradnja krizotiniba.....	35
4.4. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba	36
4.5. Optimizacija procesa	41
4.5.1. Fotokatalitička razgradnja pri optimalnim uvjetima.....	44
4.5.2. Scavenging test.....	44
4.6. Toksičnost.....	47
5. ZAKLJUČAK	49
6. LITERATURA.....	52
7. PRILOZI	61
8. ŽIVOTOPIS.....	66

1. UVOD

Farmaceutski aktivni spojevi su kompleksne molekule s različitim fizikalno-kemijskim i biološkim svojstvima, koje služe u svrhu terapijskog liječenja kod ljudi i/ili životinja. Najviše ih karakterizira njihova ionska priroda, a u okolišnim uvjetima molekule mogu biti neutralne, kationske, anionske ili cviterionske.

S obzirom na to da se farmaceutici razlikuju po svojoj kemijskoj strukturi tako se razlikuje i njihova sudbina u okolišu. Prema tome, s ovim spojevima se ne može postupati kao s 'grupom' u slučaju zaštite okoliša. Uz početnu molekulu, tako i njeni razgradni produkti djeluju nepredvidivo i potencijalno opasno na ekosustave. Ova onečišćivala mogu dospjeti u vodeni ekosustav direktno iz industrijskih postrojenja, postrojenja za tretman otpadnih voda ili indirektno putem komunalnog otpada. Na taj način mogu se zagađivati izvori pitke vode toksičnim spojevima te ugroziti ljudsko zdravlje.

Svakodnevno sve više raste svijest o ovom problemu te se radi na istraživanjima i razvoju procesa koji imaju što manji utjecaj na okoliš, a pristup ide u dva smjera. Jedan pomak je prema održivoj proizvodnji, a drugi prema poboljšavanju razumijevanja utjecaja na okoliš koji bi mogli proizaći iz upotrebe novog lijeka.

Posljednjih godina sve više se koriste tzv. napredni oksidacijski procesi koji se mogu koristiti za uklanjanje takvih organskih onečišćujućih tvari u otpadnim vodama pretvarajući ih, u idealnom slučaju, u vodu i ugljikov dioksid. To su tehnologije koje obično koriste snažne oksidanse poput vodikovog peroksida (H_2O_2) ili ozona (O_3), katalizatore (ioni željeza, metalni oksidi), elektromagnetsko zračenje (UV-zračenje, Sunčevo svjetlo) i ultrazvuk, odvojeno ili u kombinaciji pod blagim uvjetima (niska temperatura i tlak).

U cilju istraživanja novih naprednih procesa za zaštitu okoliša, u ovom radu ispitan je utjecaj različitih parametara na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri korištenju titanijeva dioksida, TiO_2 kao katalizatora. Također se ispitala njegova toksičnost bioanalitičkom metodom pomoću bakterijske kulture *Vibrio fischeri*, kao i računalnim programom TEST.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Farmaceutici

Farmaceutski aktivni spojevi (API)¹ složene su molekule s različitim fizikalno-kemijskim i biološkim svojstvima te funkcionalnostima. Njihove molekulske mase obično se kreću između 200 do 1000 Daltona. Razvijeni su i korišteni zbog svoje biološke aktivnosti, a najviše ih karakterizira njihova ionska priroda [1]. Oni su organske molekule koje mogu biti jednostavne ili složenije strukture te među njihovim skupinama često nema nikakve sličnosti. Dobivaju se u više koraka sintezom, a da bi se primjenili ne smiju biti toksični. Zajedničko svojstvo svih farmaceutika je njihova upotreba kao lijekova kod životinja ili ljudi [2]. Farmaceutici su klasificirani prema namjeni (npr. antibiotici, analgetici, protuupalni sastojci, antihistamini) [1].

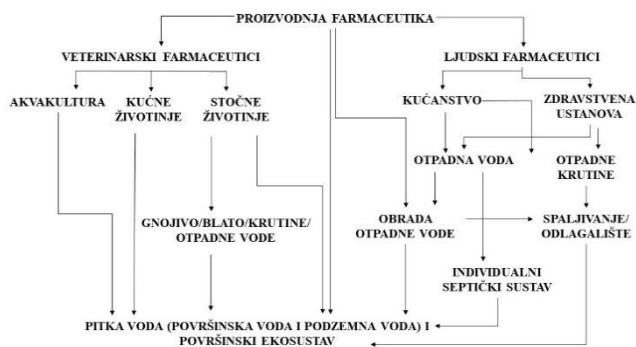
2.1.1. Farmaceutici u okolišu

Prema MOA² klasifikaciji, kemijska struktura molekula unutar iste skupine može se razlikovati, pa tako i njihova sudbina u okolišu. Prema tome, sa ovim spojevima ne može se postupati kao s grupom u slučaju zaštite okoliša. Usko povezana kemijska struktura spojeva može biti popraćena identičnim ili barem sličnim načinom djelovanja. Međutim, u usporedbi s većinom drugih kemikalija, farmaceutski aktivne tvari često su složene molekule s posebnim svojstvima, npr. ovisnost $\log K_{ow}$ o pH. API-ji su često kiseli ili alkalni. U okolišnim uvjetima molekule mogu biti neutralne, kationske, anionske ili cviterionske. To njihovo kretanje u okolišu ih čini još kompleksnijim [1]. Sve do kraja prošlog stoljeća utjecaj farmaceutске industrije i njenih proizvoda na okoliš nije se smatrao značajnim. Međutim, danas se sve više radi na istraživanjima i razvojinama procesa koji imaju što manji utjecaj. Jedan pomak je prema održivoj proizvodnji, a drugi prema poboljšavanju razumijevanja utjecaja na okoliš koji bi mogli proizaći iz upotrebe novog lijeka. Sinteza farmaceutika, kako se prethodno već spomenulo, provodi se u više koraka koji često uključuju izolaciju i pročišćavanje međuprodukata. Kao posljedica toga, učinkovitost procesa je kroz povijest bila mala, te bez obzira na to što se proizvodila mala količina produkta, omjer otpada i proizvoda bio je jako velik [2]. Posljednjih godina doznalo se da nisu važni samo API-ji, već i molekule koje iz njih proizlaze strukturnim promjenama. Ove molekule u okolišu završavaju nakon medicinske upotrebe putem kanalizacije, putem pročišćavanja otpadne vode ili s odlagališta

¹ engl. *Active Pharmaceutical Ingredients*, API

² engl. *Mode of Action*, MOA

otpada. Tako mogu završiti u površinskim vodama, podzemnim vodama ili vodi za piće [1], kako je prikazano na Slici 2.1.



Slika 2.1. Glavni putevi veterinarskih i ljudskih farmaceutika u okolišu

2.1.2. Antitumorski lijekovi u okolišu

Lijekovi protiv raka ili antitumorski lijekovi skupina su terapijskih sredstava koja se koriste za sprječavanje staničnog dijeljenja u ciljanim staničnim vrstama neoplazije³ [3, 4]. Oni imaju snažan mehanizam djelovanja i očekuje se da će se njihova potrošnja drastično povećati u budućnosti. Slijedom toga, ključno je rutinski pratiti pojavu lijekova protiv raka i razviti učinkovite mogućnosti liječenja kako bi se izbjeglo njihovo ispuštanje u okoliš [5]. Budući da lijekovi protiv raka imaju fiziološku aktivnost i vrlo su citostatski, postoji mnogo zabrinutosti zbog njihovih citostatskih učinaka na vodene ekosustave i organizme koji žive u vodenom okruženju [6]. Zbog uporabe i eventualnog ispuštanja, često su otkriveni u otpadnim vodama farmaceutskih tvornica i bolnica, otpadnim vodama iz domaćinstava kao i površinskim vodama. Međutim, pojava ovih lijekova u vodenim ekosustavima, kao i njihovi učinci na vodene organizme do sada su slabo okarakterizirani [4]. Općenito, neki od ovih spojeva mogu se otkriti u niskim rasponima koncentracije (otprilike u rasponu od ng L^{-1} do $\mu\text{g L}^{-1}$) u vodenom okolišu i mogu biti vrlo postojani [3, 6]. Procjena rizika za okoliš dostupna je za samo nekoliko lijekova protiv raka, izvedenih uglavnom iz predviđenih podataka i isključujući informacije o njihovim metabolitima i produktima transformacije. No, za ovaj rizik još uvijek ne postoji jasno definirana strategija. Zapravo, prisutnost lijekova protiv raka u bolničkim i komunalnim otpadnim vodama nije jasno povezana s genotoksičnom prirodom tih otpadnih voda [3]. Ostaci farmaceutskih proizvoda u okolišu obično se pojavljuju kao složene smjese, pa prema tome, iako koncentracije pojedinih spojeva mogu biti niske, takozvani koktel-učinak može biti od ekotoksikološkog značaja [7].

³ engl. *Neoplasia*

2.1.3. Pirazolilpiridini⁴

Kostur pirazolilpiridina sastoji se od pirazola koji je vezan (nije spojen) s piridinom [8]. Pirazolilpiridini su klasa lijekova s heterocikličkim prstenovima koji sadrže dušik i koja imaju jedinstvena farmakološka svojstva poput antidepresiva, protuupalnih, antihiperглиkemijskih, antitumorskih, antibakterijskih, anksiolitičkih sredstava, a koriste se za liječenje Alzheimerove bolesti, ovisnosti o drogama i neplodnosti [9].

2.1.4. Krizotinib⁵

Krizotinib je oralni inhibitor receptora tirozin kinaze. Molekulska formula krizotiniba je $C_{21}H_{22}Cl_2FN_5O$, a molekulska masa iznosi 450,34 Daltona. Krizotinib je kemijski opisan kao (R)-3-[1-(2,6-dikloro-3-fluorofenil)etoksi]-5-[1-(piperidin-4-il)-1H-pirazol-4-il]piridin-2-amin. To je bijelo do blijedožuti prah s dvije pK_a vrijednosti od 9,4 (piperidin kation) i 5,6 (piridin kation). Topljivost u vodenom mediju mu se smanjuje u rasponu od pH 1,6 do pH 8,2 s većih od 10 mg mL^{-1} na manje od $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$. Logaritam koeficijenta raspodjele (oktanol/voda), K_{ow} pri pH 7,4 iznosi 1,65 [10].

2.1.5. Način djelovanja krizotiniba

Rak pluća povijesno je kategoriziran u dvije glavne histološke skupine: karcinomi pluća ne-malih stanica⁶ i karcinom pluća malih stanica⁷ [11]. Najčešća vrsta karcinoma pluća je karcinom ne-malih stanica. Ovaj oblik raka pluća čini do 85 % slučajeva, a povezan je s petogodišnjom stopom preživljavanja od samo 22 % [12].

Trenutan izbor u liječenju uznapredovalog ili metastatskog NSCLC-a ovisi o osnovnim karakteristikama pacijenta, a ovisno o njima postoje različiti lijekovi. Danas se fokus pažnje u liječenju karcinoma pluća promijenio na takozvane ciljane terapije, pomoću kojih se zahvaljujući napretku u istraživanju, fokus usmjerio na molekularne promjene (mutacije, pojačanja gena) odgovorne za preživljavanje tumora i vitalne prognoze pacijenta. Ovim individualiziranim terapijama se može povećati nada za poboljšavanje preživljavanja raka u nekirurškim fazama [13].

⁴ engl. *Pyrazolylpyridines*

⁵ engl. *Crizotinib*

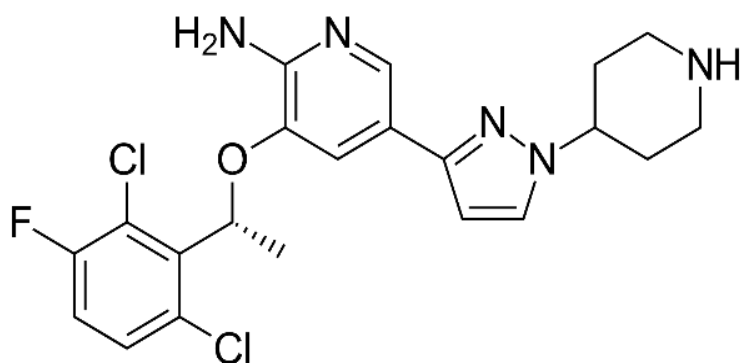
⁶ engl. *Non-small cell lung cancer, NSCLC*

⁷ engl. *Small cell lung cancer, SCLC*

Krizotinib je inhibitor receptorskih tirozin kinaza, uključujući anaplastičnu limfom kinazu (ALK)⁸, receptor faktora rasta hepatocita⁹ i receptor d'Origine Nantais¹⁰. Translokacije mogu utjecati na gen ALK što rezultira ekspresijom onkogenih fuzijskih proteina. Stvaranje fuzijskih proteina ALK rezultira aktivacijom i poremećajem regulacije ekspresije i signalizacije gena, što može pridonijeti povećanoj proliferaciji stanica i preživljavanju u tumorima koji eksprimiraju te proteine. Krizotinib pokazuje o koncentraciji ovisnu inhibiciju fosforilacije ALK i c-Met u testovima na stanicama pomoću tumorskih staničnih linija, a također pokazuje antitumorsko djelovanje kod miševa koji nose ksenografe tumora koji izražavaju fuzijske proteine EML4- ili NPM-ALK ili c-Met [14].

Faze ispitivanja I i II krizotiniba kod ALK pozitivnog karcinoma pluća pokazale su značajnu aktivnost i impresivnu kliničku dobrobit, što je dovelo do njegovog ranog odobrenja od strane US FDA¹¹ 2011. godine [10]. U kolovozu 2012. krizotinib je pod nazivom Xalkori odobren kao ciljana terapija, koju je razvio Pfizer [13].

Krizotinib ima prihvatljiv sigurnosni profil i rezultira poboljšanom kvalitetom života. On je sada prvi standard skrbi za pacijente s naprednim anaplastičnim limfomom kinaza pozitivnim NSCLC [12]. Najčešće nuspojave povezane s krizotinibom su poremećaj vida, dijareja i edema, dok su toksičnije nuspojave rijetke [15]. Rijetke, ali ozbiljne toksičnosti uključuju hepatotoksičnost, intersticijsku bolest pluća/pneumonitis i bradikardiju [16].



Slika 2.2. Struktura molekule krizotiniba [17]

⁸ engl. *Anaplastic lymphoma kinase*, ALK

⁹ engl. *Hepatocyte Growth Factor Receptor*, HGFR, c-Met

¹⁰ engl. *Recepteur d'Origine Nantais*, RON

¹¹ engl. *United States Food and Drug Administration*, USFDA

2.2. Postupci obrade vode

Konvencionalna postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda u potpunosti ne uklanjaju lijekove iz otpadnih voda. Nadalje, veterinarski lijekovi koji se koriste u poljoprivredi i akvakulturi mogu ući u vodeni ekosustav izravno ili putem površinskog otjecanja (difuzno onečišćenje) [18]. U Europskoj Uniji koristi se oko 3000 različitih farmaceutskih proizvoda u humanoj medicini koji pripadaju različitim ljekovitim klasama. Njihov glavni put u vodeni okoliš je izlučivanjem i odlaganjem otpadnih voda. Drugi putovi izloženosti okoliša su iz proizvodnje, hospitalizirane primjene, primjene na zemlji (npr. biokrutine i ponovna upotreba vode), hrana za životinje i izravno odlaganje/uvođenje u okoliš [19]. Prema rezultatima istraživanja [20], gdje se pratila pojava i sudbina 43 farmaceutska spoja iz ukupno analiziranih 72 uzorka otpadne vode i otpadne vode s dotokom, mulja iz tri konvencionalna postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda (WWTPs)¹² pokazala se prisutnost ukupno 32 ciljane spoja u dotoku otpadne vode i 29 u otpadnim vodama. Koncentracije su bile u rasponu od niskih ng L^{-1} do nekoliko $\mu\text{g L}^{-1}$. Analiza uzoraka mulja pokazala je da se 21 lijek akumulirao u kanalizacijskom mulju iz sva tri postrojenja u koncentracijama do 100 ng g^{-1} . To ukazuje na to da čak i dobre stope uklanjanja dobivene u vodenoj fazi (tj. iz usporedbe koncentracija tekuće i otpadne vode) ne podrazumijevaju degradaciju u istoj mjeri. Razlog takva zaključka je u tome što je ukupno uklanjanje procijenjeno kao zbroj svih gubitaka matičnog spoja različitim mehanizmima kemijske i fizikalne transformacije, biorazgradnje i sorpcije u čvrstu tvar. Jasno je da je uklanjanje većine tvari nepotpuno te da su potrebna poboljšanja pročišćavanja otpadnih voda i naknadne obrade proizvedenog mulja kako bi se spriječilo unošenje ovih mikro-onečišćujućih tvari u okoliš.

2.2.1. Napredni oksidacijski procesi (AOP)¹³

Napredni oksidacijski procesi mogu se koristiti za uklanjanje otrovnih organskih onečišćujućih tvari u otpadnim vodama pretvarajući ih, u idealnom slučaju, u vodu (H_2O) i ugljikov dioksid (CO_2) [21]. Njih se koristi u posljednjih nekoliko desetljeća za uklanjanje boja i razgradnju drugih onečišćujućih tvari iz otpadnih voda. To su tehnologije koje obično koriste snažne oksidanse poput vodikovog peroksida (H_2O_2) ili ozona (O_3), katalizatore (ioni željeza, metalni oksidi), elektromagnetsko zračenje (UV svjetlo, Sunčevo svjetlo), kao i ultrazvuk, odvojeno ili u kombinaciji pod blagim uvjetima (niska temperatura i tlak) [22, 23].

¹² engl. *Wastewater Treatment Plants*, WWTPs

¹³ engl. *Advanced Oxidation Processes*, AOP

To su visoko učinkovite nove metode koje ubrzavaju proces oksidacije. AOP se može kombinirati s ozonom (O_3), katalizatorom ili ultraljubičastim zračenjem (UV) kako bi ponudio snažan tretman otpadnih voda. Također, nekoliko postupaka koristi različite procese poput elektrokemijske obrade, upotrebe elektronskih zraka, plazme, mikrovalnih i ultrazvučnih procesa [24]. Procesi koji koriste snažne hidroksilne ($OH\cdot$) ili sulfatne radikale ($SO_4^{2-\cdot}$) kao glavno oksidacijsko sredstvo prvi su put predloženi 1980-ih za obradu pitke vode. Kasnije su se široko primjenjivali za pročišćavanje različitih vrsta otpadnih voda jer jaki oksidansi mogu lako razgraditi organska zagađivala i ukloniti određena anorganska zagađivala u otpadnim vodama [25].

Fentonova oksidacija klasičan je primjer homogenog AOP-a u kojem ioni Fe^{2+} služe kao katalizator s H_2O_2 kao oksidansom. Nedavni napredak otkriva da su Fentonovi i fotokatalitički procesi (koristeći heterogene katalizatore) među najučinkovitijim AOP-ima za razgradnju organskih zagađivala u tokovima otpadnih voda [26].

Sljedeća Tablica 1. prikazuje neke od naprednih oksidacijskih procesa.

Tablica 1. Primjer naprednih oksidacijskih procesa (prilagođeno) [22]

Procesi u mraku	Procesi pod zračenjem
Ozon (O_3)	Fotoliza ¹⁴ (UV + H_2O_2)
Fenton ($Fe^{2+} + H_2O_2$)	Fotokataliza (svjetlost + katalizator)
Elektroliza (elektrode + izvor)	Foto-Fenton (Sunčeva svjetlost + Fenton)
Sonoliza ¹⁵ (ultrazvuk)	

¹⁴ engl. *Photolysis*

¹⁵ engl. *Sonolysis*

2.3. Fotokemija: Izravna fotoliza i fotokataliza

Fotokemija je grana kemije koja proučava kemijske reakcije molekula u elektronskim pobuđenim stanjima nastalim apsorpcijom infracrvenog (700–1000 nm), vidljivog (400–700 nm), ultraljubičastog (200–400 nm) ili vakuumskog ultraljubičastog (100–200 nm) zračenja. Stvaranje veza i prekid veze, kao i prijenos elektrona i ionizacija, često se opažaju u organskim i anorganskim spojevima kao posljedica takvog pobuđenja [27].

Najčešći oblik UV-zračenja je Sunčeva svjetlost koja proizvodi tri glavne vrste UV zraka [28, 29]:

- i) UV-A zrake imaju najduže valne duljine ($\lambda = 315\text{--}400\text{ nm}$)
- ii) UV-B zrake srednjih valnih duljina ($\lambda = 280\text{--}315\text{ nm}$)
- iii) UV-C zrake koje imaju najkraće valne duljine ($\lambda = 100\text{--}280\text{ nm}$)

Dok se UV-A i UV-B zrake prenose kroz atmosferu, sve UV-C i neke UV-B zrake apsorbira ozonski omotač Zemlje. Dakle, jedini način na koji ljudi mogu biti izloženi UV-C zračenju je iz umjetnog izvora poput svjetiljke ili lasera [29]. Također ne postoji jasan konsenzus oko toga koji je UV spektar najprikladniji za razgraditi lijekove protiv raka fotokatalizom u vodenom mediju [30].

Organski i anorganski spojevi mogu se transformirati sljedeći dvije vrste fotokemijskih procesa. Prvi proces je izravna posljedica apsorpcije Sunčevog zračenja (fotoliza), a drugi proces je posljedica nastalih fotokemijskih vrsta poput tripletnih stanja¹⁶ i radikala¹⁷ koji posreduju pri oksidaciji organskih i anorganskih spojeva (fotosenzibilizirane reakcije¹⁸) [31].

2.3.1. Fotoliza

Fotoliza je kemijski proces kojim se kemijske veze prekidaju kao rezultat prijenosa svjetlosne energije¹⁹ (izravna fotoliza) ili energije zračenja²⁰ (neizravna fotoliza) u te veze [32]. Izravna fotoliza u prirodnim vodama uključuje transformaciju kemijskog spoja kao rezultat apsorpcije Sunčevog fotona. Dakle, izravna fotoliza može biti važno sredstvo raspada za one prisutne kemijske onečišćujuće tvari koje apsorbiraju UV-Vis iznad valnih duljina 290 nm. Izravna transformacija kemikalija u prirodnim vodama složen je proces koji ovisi o velikom

¹⁶ engl. *Triplet states*

¹⁷ engl. *Radicals*

¹⁸ engl. *Photosensitized Reactions*

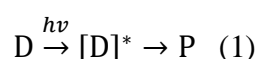
¹⁹ engl. *Light energy*

²⁰ engl. *Radiant energy*

broju čimbenika kao što su: kemijska struktura i spektar apsorpcije kemikalije, kvantni prinos fotokemijske reakcije, Sunčevo fotonsko zračenje kojem je kemikalija izložena, sezonsko razdoblje, kemijski sastav vodene matrice [33].

U tom je procesu fotokemijski mehanizam fotolize podijeljen u tri faze: (1) apsorpcija svjetlosti koja pobuđuje elektrone u molekuli, (2) primarni fotokemijski procesi koji transformiraju ili gase pobuđenu molekulu i (3) sekundarne („tamne“) toplinske reakcije koje transformiraju međuprodukte proizvedene u prethodnom koraku [32].

Fotorazgradnja započinje apsorpcijom fotona infracrvene, vidljive i ultraljubičaste svjetlosti, kao i drugih oblika elektromagnetskog zračenja. Molekula farmaceutske tvari, D prelazi u takozvano pobuđeno stanje, D* apsorpcijom fotona svjetlosti:



gdje je h Planckova konstanta²¹, ν je frekvencija svjetlosti, proizvod ($h\nu$) je energija fotona, a P produkt razgradnje. Ponekad pomoćna tvar (ili druga komponenta sustava) može apsorbirati fotone, a zatim prenijeti energiju na aktivni sastojak da bi nastala [D]* [34].

Općenito, proces nestajanja spoja fotolizom opisan je kinetikom 1. reda prema izrazu:

$$\frac{dc}{dt} = -k_d \cdot c \quad (2)$$

$$c = c_0 \cdot e^{-k_d \cdot t} \quad (3)$$

gdje je koncentracija, c kemijskog spoja od interesa u određenom trenutku izražena u (mol dm^{-3}), početna koncentracija spoja, c_0 u vremenu nula, t_0 također izražena u (mol dm^{-3}), konstanta prvog reda, k_d (s^{-1}) i vrijeme t (s) [33].

Slijedom toga, farmaceutski proizvodi općenito su osjetljiviji na plavo i ultraljubičasto svjetlo, nego na crveno. Međutim, oni posjeduju različite apsorpcijske spektre i, prema tome, brzina fotorazgradnje ovisi o preklapanju apsorpcijskog spektra određenog farmaceutika sa spektralnom raspodjelom upadne svjetlosti. Također, dostupnost kisika može utjecati na njegovu oksidaciju i često je razgradnja farmaceutika proporcionalna koncentraciji kisika prema formuli [34]:

²¹ engl. *Planck's constant*, $h = 6.62607015 \times 10^{-34} \text{ J Hz}^{-1}$

$$-\frac{d[D]}{dt} = k \cdot [D] \cdot [O_2] = k_{\text{obs}} \cdot [D] \quad (4)$$

U prikazanoj formuli promatrana konstanta k_{obs} ²² produkt je konstante reakcije k i koncentracije kisika.

2.3.2. Fotokataliza

Otkrivanje farmaceutskih i drugih opasnih organskih spojeva u tragovima u vodi za piće i okolnom okolišu dovelo je do sve veće zabrinutosti i rasprave o njihovom dugoročnom utjecaju na okoliš i zdravlje ljudi. Kao posljedica toga pažnja istraživanja usmjerena je na poboljšanje postojećih tehnologija obrade vode i razvoj novih naprednih oksidacijskih tehnologija [35]. Fotokataliza je jedan od tih procesa i pokazala je potencijal razgradnje i mineraliziranja raznih organskih i anorganskih zagađivala [36].

Fotokataliza je vrsta katalize koja rezultira modifikacijom brzine fotoreakcije, odnosno kemijske reakcije koja uključuje apsorpciju svjetlosti od strane jedne ili više vrsta koje reagiraju uz dodavanje tvari (katalizatora) koji sudjeluju u kemijskoj reakciji, a da se ne potroše [37]. Stoga je fotokatalizator definiran kao tvar koja se aktivira apsorpcijom fotona i koja je sposobna ubrzati reakciju bez da se potroši. Te su tvari gotovo uvijek poluvodiči [36].

Fotokatalizatori poluvodičkih oksida primjenjuju se za pretvorbu Sunčeve energije pri pročišćavanju okoliša u tzv. poluvodičkoj heterogenoj fotokatalizi koja ima ogroman potencijal za uklanjanje organskih onečišćivala u vodi i zraku. Ovaj postupak, kako je prethodno rečeno, poznat je kao napredni postupak oksidacije i pogodan je za oksidaciju širokog spektra organskih spojeva [36].

Fotokatalizatori apsorbiraju fotone prikladne valne duljine i pobuđuju se stvarajući par elektronskih rupa na površini katalizatora. Najčešće korišteni fotokatalizatori su TiO_2 i ZnO . Poželjne karakteristike fotokatalizatora su, između ostalog, velika površina, prihvatljiv raspon energije zabranjene zone²³, otpornost na koroziju, toplinska stabilnost, mehanička čvrstoća. Morfologija i struktura katalizatora također imaju glavnu ulogu u fotokatalizi. Osim TiO_2 i ZnO , u nedavnoj prošlosti ispitivani su i razni drugi fotokatalizatori poput oksida na bazi CeO_2 , bizmuta i volframa radi razgradnje organskih spojeva [38].

²² engl. *Observed Rate Constant*, k_{obs}

²³ engl. *Narrow bandgap energy* - energy range or band gap is an energy range between the valence band and the conduction band where electron states are forbidden

Novi fotokatalizatori dizajnirani su da [38]:

- (i) poboljšaju apsorpciju u vidljivom dijelu spektra
- (ii) spriječe rekombinaciju para elektrona u rupama
- (iii) budu fotokorozivno otporniji

Znači idealni fotokatalizator mora zadovoljiti sljedeća svojstva:

- (i) fotoaktivnost
- (ii) biti biološki i kemijski inertan
- (iii) stabilnost protiv fotokemijske korozije
- (iv) koristiti Vis ili UV svjetlost
- (v) niska cijena
- (vi) sigurnost

Među spomenutim poluvodičima, onaj koji se najbolje prilagođava karakteristikama i, prema tome, najčešće korišten je TiO_2 . Ovaj poluvodič je od posebnog interesa jer dopušta upotrebu prirodne Sunčeve svjetlosti jer se energetska razmaka, odnosno zabranjena zona, može premašiti udjelom energije solarnog fotona ($390 > \lambda > 300 \text{ nm}$) [33].

Upravo iz tog razloga u nastavku ovog rada detaljnije će se govoriti o ovom fotokatalizatoru.

2.3.2.1. Titanijev dioksid (TiO_2)

Titanijev dioksid (TiO_2) je u središtu intenzivnih istraživanja posvećenih razvoju učinkovitih fotokatalizatora. Među mnogim kandidatima za fotokatalitičku primjenu, TiO_2 je gotovo jedini materijal pogodan za industrijsku upotrebu. To je zato što titanijev dioksid pokazuje dobar kompromis između učinkovite fotoaktivnosti, visoke stabilnosti i niskih troškova. Glavne se primjene bave njegovom upotrebom kao fotokatalizatora za sanaciju okoliša u zagađenom zraku i obradi otpadnih voda, te kao materijal u solarnim ćelijama [39].

Otkako se za fotokatalizu upotrebljavao TiO_2 pri uklanjanju cijanida krajem 1970-ih, porastao je sve veći interes i za njegovom upotrebom za oksidaciju i razgradnju drugih zagađivala [35]. Za čisti TiO_2 potrebno je koristiti UV-A (ili UV-B/UV-C) zračenje za aktivaciju fotokatalitičkog procesa. Vidljivo zračenje, kao zračenje manje energije, ne može se koristiti. Ali, na sreću, neki dodatni tretman fotokatalitičkog dopinga s različitim elementima/spojevima može dovesti do učinkovite uporabe dijela vidljivog spektra [40].

Mnogi su istraživači zaključili da je upravo postupak UV/TiO₂ obećavajuća tehnologija za razgradnju i mineralizaciju organskih supstrata do bezopasnih konačnih proizvoda u zraku i vodi [41]. Heterogena fotokataliza pomoću UV/TiO₂ jedan je od najčešćih fotokatalitičkih procesa, a temelji se na apsorpciji fotona s energijom većom od 3,2 eV (valne duljine niže od ~390 nm) što rezultira iniciranjem pobude povezane s događajem razdvajanja naboja (kemijska veza) [36]. Također fotokatalizatori na bazi TiO₂ pokazuju izvrsno adsorpcijsko ponašanje prema organskim spojevima u otpadnim vodama, a upotrebljavaju se i zbog njihovih izvanrednih svojstava uključujući netoksičnost, visoku sposobnost fotokatalitičke razgradnje i izvrsnu toplinsku i kemijsku stabilnost. Međutim, postoji nekoliko izazova u pogledu njihove primjene za organske otpadne vode kao što su agregacija čestica, ograničenje prijenosa mase, velika energija veze, uvjeti raspršivanja i poteškoće oporavka. Stoga je potrebno provesti više ispitivanja dizajna i optimizacije za uvjete obrade kako bi se postigla veća učinkovitost uklanjanja uz niže troškove. Potrebno je proučiti razne parametre ovih fotokatalizatora: podloga, intenzitet svjetlosti, dodatak-nečistoća, veličina čestica, struktura [42].

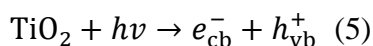
2.3.2.2. Mehanizam fotokatalitičke primjene TiO₂

Općenito, heterogena fotokataliza ne zahtijeva nikakve dodatne reagense osim fotokatalizatora, a može se definirati kao „katalitička reakcija koja uključuje aktiviranje katalizatora apsorpcijom svjetlosti“. Također, da bi ona bila ostvariva fotokatalizator mora imati relativni položaj između popunjene valentne vrpce²⁴ (vb) i prazne vodljive vrpce²⁵ (cb), te prethodno spomenute tzv. zabranjene zone u kojoj se nalaze za elektrone nedopušteni energetske nivoi. Aktivacija poluvodičkog fotokatalizatora posebno se postiže apsorpcijom fotona energije jednake ili veće od energije zabranjene zone, što rezultira promicanjem elektrona (e^-) iz vb u cb i istodobnim generiranjem pozitivne rupe (h^+) u vb. Taj se fenomen općenito naziva „odvajanje naboja“ i znači stvaranje e^- i h^+ parova. Ti se parovi mogu rekombinirati, oslobađajući toplinu ili su u stanju potaknuti reakcije redukcije i oksidacije s vrstama adsorbiranim na površini fotokatalizatora [43, 44].

Čestice TiO₂ pobuđuju se kako bi stvorile pozitivne šupljine u valentnom pojasu (h_{vb}^+) s oksidacijskim kapacitetom, te negativni elektroni u vodljivom pojasu (e_{cb}^-) s reduktivnim kapacitetom, kako slijedi [25]:

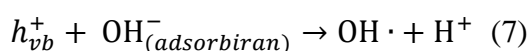
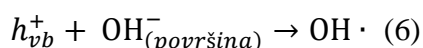
²⁴ engl. *valence band*, vb

²⁵ engl. *conduction band*, cb

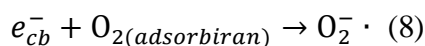


Elektroni na površini mogu reducirati elektron-akceptore (npr. kisik ili voda), dok s druge strane pozitivne šupljine mogu primiti elektrone od elektron-donora koji se oksidira (npr. voda) [44].

Također, reakcijama na površini TiO_2 ove nastale šupljine i elektroni mogu dalje tvoriti hidroksilne radikale na dva načina. Prvi način je preko hidroksilnog iona na površini katalizatora, a drugi je reakcijom šupljine s adsorbiranom molekulom vode [25, 44].



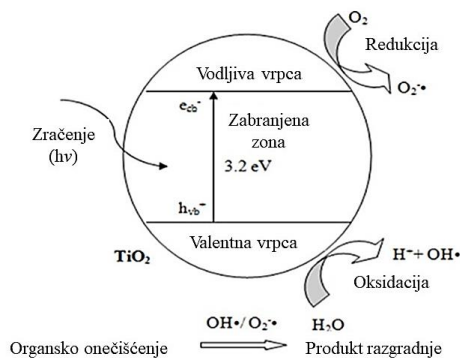
S druge strane, elektroni na površini mogu reducirati molekularni kisik koji ima ulogu elektron-akceptora pri čemu nastaje super oksid [25, 44].



No, molekularni kisik se može pojaviti u još jednom obliku, a to je pobuđeno singlet stanje, $^1\text{O}_2$, koji nastaje fotokemijskom, toplinskom, kemijskom ili enzimskom aktivacijom O_2 . Singletni kisik nije radikal i predstavlja pobuđeno stanje O_2 u kojem se spin jednog od nesparenih elektrona mijenja kako bi se dobila dva elektrona sa suprotnim spinovima. Novospareni elektroni mogu postojati u odvojenim protuveznim orbitalama ili u istoj orbitali [45, 46].

Glavni čimbenici koji utječu na TiO_2/UV svjetlosni proces su početna količina organskog onečišćavala, količina katalizatora, dizajn reaktora, temperatura, pH otopine, vrijeme izloženosti UV zračenju, intenzitet svijetla i prisutnost ionskih vrsta [47].

Međutim, kako je već prethodno rečeno, TiO_2 ima energiju zabranjene zone, odnosno za elektrone nedopuštene energetske nivoe, u rasponu 3,0–3,2 eV, što znači da je samo manje od 5 % cjelokupnog Sunčevog spektra korisno za aktivaciju ovog poluvodiča. Stoga, da bi se koristio cjelokupni spektar Sunčeve svjetlosti i maksimalno povećala apsorpcija vidljive svjetlosti, TiO_2 je potrebno modificirati, te na taj način omogućiti da se pod zračenjem stvori dovoljno fotopobuđenih e^- i h^+ [43].



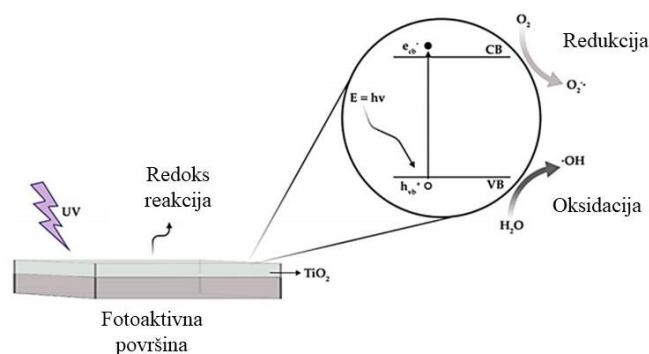
Slika 2.3. Fotokatalitički mehanizam na TiO_2 (preuzeto i prilagođeno) [47]

2.3.2.3. Fotokatalitički reaktor s TiO_2

Fotokatalitička razgradnja onečišćujućih tvari u otopini složen je postupak koji uključuje neutralne i radikalne molekule, kako u otopini tako i adsorbirane na površini poluvodiča [33].

U fotokatalitičkim reaktorima na bazi TiO_2 nanočestice titanijevog dioksida raspršene u kapljevitoj fazi (tj. reaktori sa suspenzijom) jedan su od uobičajenih pristupa. Međutim, u ovom slučaju, katalizator treba ukloniti iz vode nakon reakcije za ponovnu upotrebu, npr. filtriranjem. Ovaj dodatni korak dodaje složenost i cijenu cjelokupnom postupku. Imobilizacijom katalizatora kao obloge može se izbjeći dodatno odvajanje katalizatora. Titanijev dioksid je presvučen na različitim podlogama, uključujući staklene površine, nanovlakna, polimerne i keramičke membrane, i koristi se za dekontaminaciju vode u šaržnim, ili reaktorima s kontinuiranim protokom. Međutim, postoje tri očita ograničenja reaktora s kontinuiranim protokom i imobiliziranim fotokatalizatorima [48]:

- 1) vanjski prijenos mase može ograničiti cjelokupnu kinetiku reakcije, posebno u uvjetima laminarnog protoka pri maloj brzini protoka fluida, budući da difuzija reaktanta iz rasute kapljevine u sloj katalizatora možda neće biti dovoljno brza
- 2) unutarnji otpor prijenosa mase unutar sloja katalizatora ovisi o debljini sloja i također može biti značajan
- 3) prijenos fotona također ovisi o debljini sloja i može se dramatično smanjiti zbog npr. difrakcije u poroznom sloju, što može ugroziti učinkovitost iskorištavanja svjetlosti



Slika 2.4. Shematski prikaz fotoaktivirane površine i mehanizam fotokatalize poluvodiča (preuzeto i prilagođeno) [28]

Tipovi reaktora razlikuju se i po položaju i vrsti lampe. Na primjer mogu se upotrebljavati tzv. klasične ili cijevne halogene lampe ili one kompleksnijih oblika, kao npr. U-profila. Sami položaj lampe bitan je jer s obzirom na njega ovisi i ukupna osvjetljenost površine katalizatora. Da bi se postigla bolja i homogenija osvjetljenost površine katalizatora, ponekad se upotrebljava nekoliko paralelno smještenih lampi i/ili koncentratore zračenja u obliku paraboličkih zrcala [44].

2.3.2.4. Parametri koji utječu na fotokatalitičku razgradnju

Na brzinu fotokatalitičke kemijske reakcije utječu različiti parametri, a neki od njih su: svojstva reaktanta i njegova početna koncentracija, relativna vlažnost, koncentracija kisika, katalizator, temperatura, intenzitet i vrsta zračenja te pH-vrijednost.

A) Svojstva reaktanta i njegova početna koncentracija [44]

Do sada je provedeno više istraživanja fotokatalitičke oksidacije organskih tvari u kapljevitoj, nego plinskoj fazi. Također, evidentirano je da taj razgradnji na TiO_2 doprinose molekularni kisik i/ili voda. Uz to, ovakvom vrstom razgradnje često nastaju i različiti međuprodukti koji mogu biti štetniji od početne molekule. No, svakako da bi ovakva vrsta razgradnje bila moguća potrebno je da se organski spoj adsorbira na površinu fotokatalizatora, a to postiže veliki broj organskih tvari, te je upravo iz tog razloga ova vrsta razgradnje privukla pozornost u zaštiti okoliša. Pri fotokatalitičkoj razgradnji molekula koje sadrže aromatske prstene veliki utjecaj na razgradnju imaju supstitucijske skupine vezane na prsten. Istraživanja su pokazala kako molekule koje imaju elektron-odvlačeće skupine, odnosno skupine koje odvlače elektrone aromatskom prstenu, pokazuju veću sklonost adsorbiranja na površinama fotokatalizatora od onih s elektro-donorskim skupinama. No, manje reaktivne molekule koje se brže adsorbiraju na katalizator mogu dovesti do njegove deaktivacije. Uz to, veća početna

koncentracija reaktanta dovodi do njegove sporije razgradnje na površini fotokatalizatora. Razlozi tomu su sljedeći:

- i) na površini katalizatora nalazi se ograničen broj aktivnih centara, a veća koncentracija reaktanta dovodi do brže zasićenosti površine katalizatora
- ii) dolazi do uspostavljanja ravnoteže između nastajanja parova elektron-šupljina te njihove reakcije s organskom molekulom, a svaki od stupnjeva može biti ograničavajući (najsporiji korak). Pri malim koncentracijama brzina reakcije je najsporiji stupanj, a pri velikim koncentracijama dominira nastanak i migracija parova elektron-šupljina
- iii) pri procesu razgradnje mogu nastati razgradni međuprodukti koji se adsorbiraju na površini katalizatora, te time zauzimaju aktivne centre na koje se ne mogu vezati molekule reaktanta

B) Relativna vlažnost [44]

Pri fotokatalitičkom procesu molekule vode sudjeluju kao kompetitivni adsorbensi, izvori hidroksilnih radikala ili kao produkti reakcije. Upravo iz tog razloga relativna vlažnost može utjecati na učinkovitost ovoga procesa, a u nekim slučajevima i na sami mehanizam razgradnje. Pri reakcijama fotokatalitičke razgradnje u plinovitoj fazi na samu kinetiku reakcije može se utjecati koncentracijom vodene pare. S obzirom na to da se ona koristi za obnavljanje hidroksilnih radikala koji se u procesu razgradnje troše, bitno je da se njena koncentracija kontrolira jer može dovesti do kompetitivne adsorpcije molekula vode na aktivne centre i na taj način se smanjiti učinkovitost razgradnje organske molekule (reaktanta).

C) Koncentracija kisika [44]

Kisik je jak elektrofil koji sprječava rekombinaciju, međutim pri jako velikim koncentracijama uzrokuje zauzimanje površine katalizatora s hidroksilnim radikalima te na taj način sprječava vezanje reaktanta na aktivne centre. Obično se njegova koncentracija održava stalnom jer se radi pri standardnim uvjetima.

D) Katalizator [44]

Na brzinu fotorazgradnje utječe i količina te izvedba katalizatora. Primjenom veće količine katalizatora povećava se brzina fotorazgradnje, zbog sve veće aktivne površine na koju se reaktant može adsorbirati. Ako se katalizator koristi kao imobilizirani sloj na čvrstoj podlozi,

također se mora voditi računa o debljini sloja, s obzirom na to da se u debljim slojevima javlja veći otpor prijenosu tvari kroz sloj katalizatora. Upravo povećanje tog otpora može dovesti i do pojave rekombinacije. Također jedna od danas korištenih vrsta nanošenja fotolitičkog katalizatora na porozni ili vlaknasti supstrat zove se impregnacija. Na taj način nanosi se vrlo tanak sloj katalizatora, no sklon oštećenjima i slabom prijanjanju.

E) Temperatura [44]

U usporedbi s uobičajenim kemijskim reakcijama fotokatalitička reakcija ima malu energiju aktivacije (nekoliko kJ mol^{-1}) te temperatura nema značajan utjecaj na njenu brzinu. Ona s druge strane pak ima utjecaj na prijenos elektrona i na brzine desorpcije međuprodukata i supstrata, koje su manje pri nižim temperaturama.

F) Vrsta i intenzitet zračenja [44]

Vrsta i intenzitet korištenog zračenja najvažniji je parametar u fotokatalitičkoj razgradnji tvari. Za obradu onečišćenog zraka u zatvorenim prostorima uglavnom se koristi umjetna, a na otvorenom Sunčeva svjetlost. Uspješnost razgradnje uvelike ovisi o apsorpciji zračenja na površini katalizatora. Sama brzina razgradnje povećava se s povećanjem intenziteta zračenja, ali važno je napomenuti kako priroda i vrsta zračenja ne utječu na reakcijski mehanizam. Za aktivaciju je dovoljno da je valna duljina upadnog zračenja dovoljna za svjetlosnu pobudu. Od cijelog prirodnog Sunčevog zračenja samo 5 % ima dovoljnu energiju za fotoindukciju.

G) pH-vrijednost

Općenito, pH otopine je ključni faktor koji izravno utječe na efikasnost fotokatalizatora. To je zbog činjenice da pH-vrijednost upravlja površinskim karakteristikama fotokatalizatora, zajedno s nabojem organskih molekula, te konačno upravlja kapacitetom adsorpcije molekula na površini i koncentracijom hidroksilnih radikala. Mnoga istraživanja bila su posvećena boljem iskorištavanju svojstava površinskog naboja kako bi se postigla vrhunska fotoreaktivnost, kao što su površinsko dopiranje i modifikacije [49]. U procesu fotokatalitičke oksidacije, kako je prethodno i spomenuto, organska onečišćivala uništavaju se u prisutnosti zraka ili kisika, izvora svjetla te poluvodičkih fotokatalizatora čija reaktivnost ovisi o pH-vrijednosti medija. Kao važan parametar u fotokatalitičkim reakcijama pH otopine određuje svojstva površinskog naboja fotokatalizatora i veličinu agregata koje tvori. Dakle, pH-vrijednost utječe na mehanizam razgradnje jer može pridonijeti nastanku hidroksilnih

radikala, izravnoj oksidaciji pozitivnih rupa ili izravnoj redukciji te smanjenju elektrona u vodljivoj vrpci [50].

2.3.2.5. Kinetika fotokatalize [51, 52]

Kinetika fotokatalitičke razgradnje mnogih organskih spojeva uz korištenje katalizatora TiO₂ pod osvjetljenjem modelirani su pomoću jednadžbe Langmuir-Hinshelwood (L-H) prikazanom u nastavku (9). Ovaj model smatra da je brzina reakcije proporcionalna udjelu površine fotokatalizatora imobiliziranog na podlogu, θ .

Izraz se može prikazati:

$$r = -\frac{dc}{dt} = k \cdot \theta \quad (9)$$

$$\theta = \frac{K \cdot C}{(K \cdot C + 1)} \quad (10)$$

gdje je k kinetička konstanta brzine fotokemijske reakcije, a K ravnotežna konstanta adsorpcije reaktanta na česticama TiO₂. Jednadžba (9) je nultog reda kada je koncentracija visoka ($C > 5 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹). Kad se otopina razrijedi ($C < 10^{-3}$ mol L⁻¹), reakcija se može opisati jednadžbom za 1. red.

$$r = -\frac{dc}{dt} = k \cdot K \cdot C = k_d \cdot C \quad (11)$$

gdje je k_d prividna kinetička konstanta reakcije pseudoprvog reda.

Logaritmiranjem izraza (11) dobiva se :

$$\ln \frac{c_0}{c} = k_d \cdot t \quad (12)$$

Grafički se može prikazati ovisnosti $\ln \frac{c_0}{c}$ o vremenu, t te se iz nagiba može dobiti vrijednost konstantne, k_d . Iz navedene korelacije se može primijetiti da se rastom vrijednosti konstante koncentracija farmaceutika smanjuje.

Iz vrijednosti konstante reakcije prvog reda može se dobiti i vrijeme poluraspada molekule, odnosno vrijeme potrebno da se molekula razgradi 50 % [53, 54]. Izraz je prikazan u nastavku.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (13)$$

2.4. Toksičnost–*Vibrio fischeri* [55]

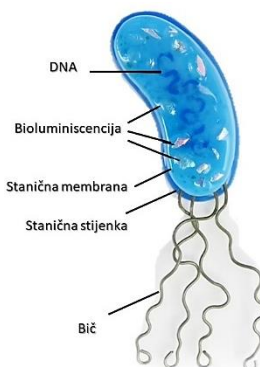
Ispitivanje toksičnosti temelji se na praćenju promjene u prirodnoj emisiji svjetlosti luminiscentne bakterije, pod nazivom *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*). Metoda koja se slijedi je test bioluminiscencije ISO 11348-2:2007.

Bakterija *Vibrio fischeri* je Gram-negativna bakterija, fakultativno anaerobna, koja može živjeti u prisutnosti ili u odsutnosti kisika. Za vizualizaciju je ružičasta. Pripada obitelji *Vibrionaceae* čija je najreprezentativnija karakteristika bioluminiscencija (stvaranje svjetlosti od strane određenih živih organizama). Važno je istaknuti njihovu stabilnost na svjetlost, kao i veliku osjetljivost na širok spektar otrovnih tvari.

Reakcija bakterijske bioluminiscencije povezana je sa sustavom prijenosa elektrona u staničnom disanju i ukazuje na metaboličko stanje stanice, tako da smanjenje bioluminiscencije ukazuje na smanjenje staničnog disanja. Fizikalne, kemijske i biološke onečišćujuće tvari utječu na stanično disanje mijenjajući postotak sinteze proteina i lipida i stoga modificirajući razinu emisije luminiscencije.

U prisutnosti zagađivala, prirodna bioluminiscencija *Vibrio fischeri* se smanjuje.

Test bioluminiscencije sastoji se od mjerenja svjetlosti koju emitiraju bakterije *Vibrio fischeri* prije i nakon doticaja s uzorkom, nakon vremena inkubacije. Stupanj gubitka svjetlosti ukazuje na stupanj toksičnosti uzorka.



Slika 2.5. Bakterija *Vibrio fischeri* (preuzeto i prilagođeno) [56]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Kemikalije

U eksperimentalnom dijelu rada koristile su se kemikalije navedene u Tablici 3.1.

Tablica 3.1. Korištene kemikalije

IME	FORMULA	PROIZVOĐAČ	STUPANJ ČISTOĆE
Krizotinib	$C_{21}H_{22}Cl_2FN_5O$	Cayman Chemical (Michigan, USA).	$\geq 98 \%$
Acetonitril, ACN	CH_3CN	Fisher Chemical	HPLC
Ultra čista voda, MiliQ	H_2O	Millipore Simplicity UV	HPLC
Izopropanol	$CH_3CH_2CH_2OH$	Fisher Chemical	HPLC
Natrijev azid	NaN_3	Kemika, Zageb, Hrvatska	p.a.
Mravlja kiselina	$HCOOH$	T. T. T. doo, Sveta Nedjelja, Hrvatska	98 %-100 % (p.a)

3.2. Instrumenti

3.2.1. Analitička vaga

Za pripravu temeljne standardne otopine (TSO) krizotiniba bilo je potrebno vrlo precizno vaganje uzorka reda veličine u miligramima. Stoga se vaganje farmaceutika krizotiniba provodilo na analitičkoj vazi Mettler Toledo XA105DU koja posjeduje mogućnost očitavanja od 0,01 mg. Vaga je prikazana na Slici 3.1.



Slika 3.1. Analitička vaga Mettler Toledo XA105DU

3.2.2. pH-metar

Prije provođenja procesa fotokatalize u reaktoru bilo je potrebno namjestiti pH-vrijednost otopine krizotiniba. Za to se koristio pH-metar Mettler Toledo. Pod pojmom regulacije pH podrazumijeva se postizanje ili zadržavanje određene vrijednosti pH.



Slika 3.2. pH-metar Mettler Toledo

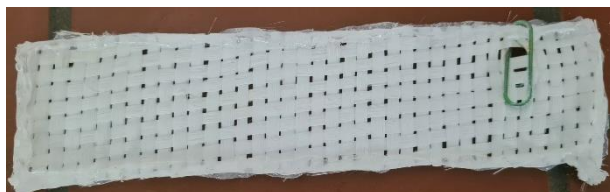
3.2.3. Fotokatalitički reaktor

Nakon namještanja potrebnih pH-vrijednosti otopina se dalje ulijevala u protočni reaktor pravokutnog oblika prikazanog na Slici 3.3. koji se sastojao iz više dijelova.



Slika 3.3. Protočni reaktor

U prikazanom reaktoru provedeni su svi fotolitički i fotokatalitički eksperimenti, kao i Scavenging test. Ukupni radni volumen reaktora iznosi 100 cm^3 . Ispod dna reaktora nalazi se kutija u koju se stavlja led za održavanje temperature stalnom tijekom trajanja eksperimenta. Pri svim eksperimentima protok se namještao na prikazanoj pumpi. Tijekom provođenja fotokatalitičkih eksperimenata kao katalizator korištena je mrežica titanijeva dioksida (TiO_2) prikazana na Slici 3.4. koja je pripremljena na Metalurškom fakultetu u Sisku.



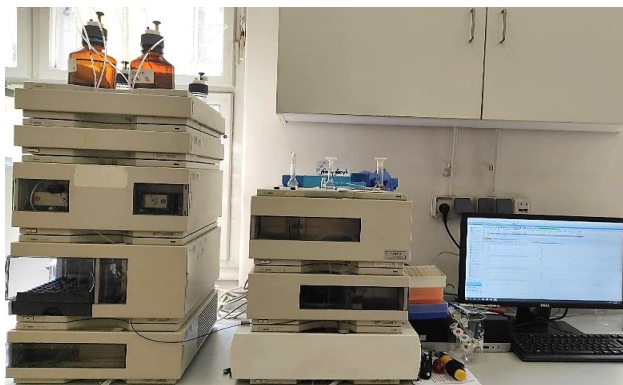
Slika 3.4. Mrežica imobilizirana titanijevim dioksidom (TiO_2)

Mrežica, površine sloja $0,0037 \text{ g cm}^{-2}$, namještala se tako da bi prekrivala cijelo dno reaktora. Iznad reaktora na udaljenosti od 2 cm namještale su se lampe koje su osvjetljavale otopinu UV-A zračenjem. Dodatno se cijeli sustav prekrivao aluminijskom folijom kako bi se osiguralo ravnomjerno osvjetljenje otopine u reaktorskom prostoru. Površina fotokatalizatora osvjetljavala se s dvije cijevne UV-lampe snage 6 W. Mjerenje zračenja žarulje najučinkovitiji je način praćenja vijeka trajanja bilo kojeg izvora UV-svjetla [56]. Za mjerenje intenziteta zračenja lampi, prije te nakon provedenih eksperimenata, koristio se UVX Radiometer UVP. Mjerio se intenzitet na samoj površni lampi, te na udaljenosti od 2

cm. Izmjereni intenzitet zračenja na površini iznosi $\sim 6,52 \text{ mW cm}^{-2}$, a na mjerenoj udaljenosti $\sim 4,20 \text{ mW cm}^{-2}$.

3.2.4. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)

Nakon razgradnje analiza uzoraka provedena je na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti, Agilent 1100 HPLC²⁶ uređaju. HPLC sustav sastoji se od vakuumnog degazera za uklanjanje mjehurića, automatskog dodavača uzoraka, termostata za održavanje temperature i binarne pumpe za pokretnu fazu. Uređaj je dalje spojen na detektor s nizom dioda, DAD²⁷. Korištena je kolona X-Bridge punjena s C18 sorbansom. Dimenzije kolone su 150 x 4,6 mm s promjerom čestica punjenja 3,5 μm .



Slika 3.5. Agilent 1100 HPLC uređaj povezan na DAD

3.2.5. Luminometar s termoblokom

LUMIStox 300 je luminometar koji se koristi za test luminiscentnih bakterija. U kombinaciji s inkubacijskim blokom LUMIStherm, udovoljava tehničkim zahtjevima ISO 11348. Ova ISO norma opisuje određivanje inhibicijskog učinka uzoraka na emisiju svjetlosti bakterije *Vibrio fischeri*. LUMIStox 300 ima ugrađenu funkciju fotometra i automatsku rutinu mjerenja i procjene, što mu omogućuje prepoznavanje učinaka obojenja u testu luminiscentnih bakterija i njihovo uzimanje u obzir u rezultatima ispitivanja [57].

²⁶ engl. *High pressure liquid chromatography*, HPLC

²⁷ engl. *Diode Array Detection*, DAD



Slika 3.6. Dr. Lange LUMISTox 300 Luminometar

3.3. Opis rada

3.3.1. Priprema standardnih otopina krizotiniba

Standardne otopine koncentracije 1000 mg L^{-1} pripremale su se otapanjem određene odvage krizotiniba u acetonitrilu (ACN). Za razrjeđenje otopine korištena je redestilirana voda, MiliQ nadopunjavanjem tikvice do ukupnog volumena od 100 mL. Primjerice, ako je odvagano 5 mg krizotiniba, odvaga je kvantitativno prenesena u tikvicu i otopljena u 5 mL acetonitrila. Prilikom pripreme otopine koristila se ultrazvučna vodena kupelj za bolje i brže otapanje, u kojoj su se uzorci otapali oko 15 minuta. Zatim je određeni volumen otopine prenesen pipetom u tikvicu od 100 mL, gdje se tikvica nadopunjava redestiliranom vodom do oznake.

3.3.2. Priprema standardnih otopina krizotiniba za Scavenging test

Standardne otopine koncentracije 1000 mg L^{-1} pripremale su se otapanjem točno određenih odvaga mase krizotiniba u određenim volumenima acetonitrila, ACN. Prilikom pripreme otopine koristila se ultrazvučna vodena kupelj za bolje i brže otapanje, u kojoj su se uzorci otapali oko 15 minuta. Zatim se u otopinu dodavao određen volumen jedne od tri korištene kemikalije potrebne za provedbu Scavenging testa.

Cilj ovog testa bio je da se ispita dominantni mehanizam fotokatalitičke razgradnje krizotiniba. Za potrebe testa koristili su se redom tri „hvatača elektrona“, odnosno radikala: natrijev azid (NaN_3), mravlja kiselina (HCOOH), te izopropanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$).

3.3.3. Fotoliza krizotiniba

Fotolitička razgradnja krizotiniba provedena je zračenjem 100 mL otopine krizotiniba UV-lampom kroz 6 sati, kako bi se pratila koncentracija razgradnih produkata fotolize krizotiniba te utvrdilo vrijeme poluraspada ovog farmaceutika. Za potrebe praćenja raspada ovog farmaceutika izloženog UV-lampi uzimali su se uzorci u određenim vremenskim intervalima te na samom početku eksperimenta prije izlaganja UV-lampi, vrijeme t_0 . Uzorci alikvota od 500 μL uzimali su se direktno iz reaktora automatskom pipetom i stavljali u vijale za analizu. S ciljem potvrde raspada krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenja proveo se paralelno isti eksperiment u mraku (bez izloženosti ultraljubičastom zračenju) te su se uzimali uzorci u istim vremenskim intervalima. Nakon provedenih eksperimenata svi iz reaktora uzeti uzorci uz slijepu probu (redestilirana voda) analizirali su se tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti vezanom na detektor s nizom dioda (HPLC-DAD). Pritom su se svi uzorci snimali tri puta.

3.3.4. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba

Praćenje fotokatalitičke razgradnje krizotiniba u fotokatalitičkom reaktoru provedeno je u prisutnosti ultraljubičastog zračenja UV-lampe istog intenziteta kao u prethodnom eksperimentu, te uz dodatak katalizatora titanijeva dioksida (TiO_2). Spomenuti katalizator TiO_2 imobiliziran je na nosaču (mrežici). Mrežica se nanosi na dno reaktora prije provođenja eksperimenta. Zatim se reaktor ispuni sa 100 mL pripremljene standardne otopine krizotiniba, namjesti se protok pumpe, a UV-lampa se uključi tek nakon trideset minuta i uzorkovanja prvog alikvota 500 μL automatskom pipetom u vremenu t_0 . Tih trideset minuta je potrebno da se uspostavi sorpcijska ravnoteža između radne otopine krizotiniba i mrežice s katalizatorom. Nakon uključivanja UV-lampe počinje fotokatalitička razgradnja krizotiniba u reaktoru. Ostali se alikvoti uzorkuju u određenim vremenskim intervalima. Svi su uzorci, zajedno sa slijepom probom analizirani pomoću HPLC-DAD. Svi uzorci su snimljeni tri puta.

3.3.5. Analiza uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC-DAD)

Tijekom provedbe procesa razgradnje 500 μL uzoraka uzima se iz reaktora u vijalice koje se dalje stavljaju na analizu u Agilent 1100 HPLC uređaju. Korištena pokretna faza sastojala se **A**-0,1 % mravlja kiselina u vodi i **B**-0,1 % mravlja kiselina u acetonitrilu.

Gradijent pokretne faze prikazan je u Tablici 3.2.

Tablica 3.2. Sastav pokretne faze korišten za separaciju tekućinskom kromatografijom

Vrijeme, min	Koncentracija B, %
0	20
6	80
7	80
7,01	20
10	20

Prije početka same analize, kromatografska kolona je kondicionirana. Za to je bilo potrebno oko 30 minuta. Nakon stabilizacije tlaka u koloni analiza je mogla početi. Također se prije početka analize uključio termostat i UV-lampa, s obzirom na to da je odziv krizotiniba u UV-spektru.

U kolonu je injektirano 25 μL uzorka. Protok je tijekom analize iznosio 0,5 mL min^{-1} . Budući da se radi o gradijentu pokretne faze, prije svakog injektiranja uzoraka potrebno je kolonu prethodno uravnotežiti (vrijeme od 1 minute). Vrijeme trajanja jedne analize bilo je 10 minuta. Pratila se pojava krizotiniba pri apsorpcijskom maksimumu valne duljine od 270 nm i vremenu zadržavanja od 6,7 minuta.

Kvantitativna analiza provodila se integriranjem kromatograma, odnosno očitavanjem površine ispod odgovarajuće kromatografske krivulje krizotiniba. Nakon očitavanja površina ispod krivulja uspoređivale su se vrijednosti površina uzoraka prije i nakon razgradnje.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj rada bio je ispitati mogućnosti razgradnje farmaceutika krizotiniba u različitim uvjetima te na taj način predvidjeti njegovu sudbinu u vodenom okolišu. Krizotinib je antitumorski lijek koji se koristi za liječenje raka pluća te u vodenom ekosustavu može dospjeti različitim putevima poput otpadnih voda ili kanalizacije. S obzirom na to da svakodnevno sve više raste svijest o zaštiti okoliša, tako raste i potreba za novim i djelotvornijim načinima obrade otpadnih voda.

Upravo iz tog razloga u ovom radu ispitana je fotolitička i fotokatalitička razgradnja ovog farmaceutika. Odredili su se optimalni uvjeti, mehanizam, kao i kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba na mrežici imobiliziranoj s fotokatalizatorom TiO_2 . Također, procijenila se njegova ekotoksičnost pomoću bioanalitičke metode koja koristi bakterijsku kulturu *Vibrio fischeri*, kao i računalnim programom TEST.

4.1. Hidroliza krizotiniba

Preliminarno ispitivanje hidrolize farmaceutika krizotiniba provelo se prema smjernici OECD-a [58] koja opisuje laboratorijsku metodu ispitivanja za procjenu abiotičkih hidrolitičkih transformacija kemikalija u vodenim sustavima pri vrijednostima (pH 4-9) koje se normalno nalaze u okolišu. Ovakva vrsta ispitivanja važna je za kemikalije koje se izravno primjenjuju u vodenom okolišu ili mogu u njega dospjeti različitim putevima. Cilj provedenog pokusa bilo je utvrđivanje brzine hidrolize ispitivane tvari kao funkcije pH-vrijednosti i određivanje brzine stvaranja produkata hidrolize, kojem se mogu izložiti živi organizmi.

Prema navedenoj smjernici test hidrolize proveo se pri tri različite pH-vrijednosti 4, 7 i 9 te pri dvije konstantne temperature 4 °C i 50 °C.

Čistoća ispitivane tvari treba biti najmanje 95 %.

Usporedbom površina ispod kromatografskih krivulja odredilo se smanjenje koncentracije krizotiniba, te izračunao postotak hidrolize.

Početna koncentracija krizotiniba iznosila je 10 mg L⁻¹.

Vrijednosti dobivenih površina ispod kromatografskih krivulja i izračunate vrijednosti smanjenja koncentracije krizotiniba prikazane su u Tablici 4.1.

Tablica 4.1. Prikaz snimljenih površina i izračunatih vrijednosti koncentracije krizotiniba

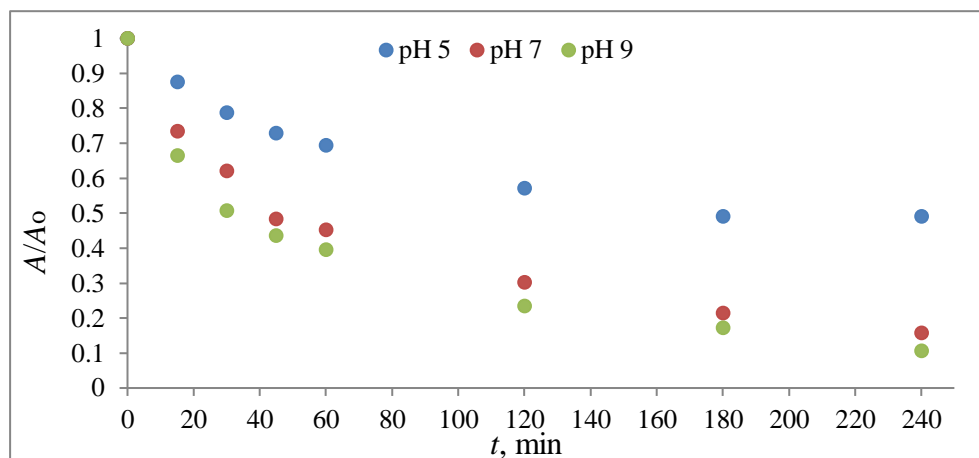
pH	T, °C	1. mjerenje	2. mjerenje	3. mjerenje	Prosjek, %
4	4	1668,70	1671,20	1661,90	1667,27
4	50	1639,40	1645,50	1642,70	1642,53
Smanjenje koncentracije, %		1,76	1,54	1,16	1,48
7	4	1640,50	1634,20	1637,20	1637,30
7	50	1502,70	1552,00	1577,65	1544,12
Smanjenje koncentracije, %		8,40	5,03	3,64	5,69
9	4	1594,10	1667,30	1682,90	1648,10
9	50	1578,83	1582,30	1542,70	1567,94
Smanjenje koncentracije, %		0,96	5,10	8,33	4,80

Prema Tablici 4.1. može se vidjeti da prosječna vrijednost smanjenja koncentracije krizotiniba pri pH-vrijednosti 4 iznosi 1,48 %, pri pH-vrijednosti 7 prosječna vrijednost smanjenja koncentracije iznosi 5,69 %, te pri pH-vrijednosti 9 iznosi 4,80 %.

S obzirom na to da su sve prosječne vrijednosti smanjenja koncentracije u tablici manje od 10 %, može se zaključiti da je krizotinib hidrolitički stabilan. Taj podatak je bitan jer potvrđuje kako će pri svim eksperimentima u nastavku rada smanjenje koncentracije krizotiniba biti povezano isključivo s razgradnjom pod UV-A zračenjem.

4.2. Adsorpcija krizotiniba

Na samom početku eksperimentalnog dijela ovog rada ispitala se adsorpcija farmaceutika krizotiniba na mrežicu imobiliziranu s titanijevim (IV) oksidom. Rezultati ispitivanja prikazani su na Slici 4.1.



Slika 4.1. Adsorpcija krizotiniba na imobiliziranu mrežicu TiO_2 pri tri različite pH-vrijednosti 5, 7 i 9

Da bi se ispitaio učinak adsorpcije na uklanjanje krizotiniba iz otopine proveo se eksperiment u mraku pri istim vremenima kao i eksperiment fotokatalize, čiji će se rezultati prikazati u nastavku ovog rada.

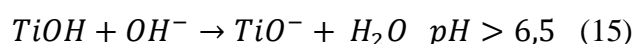
Također se ispitaio utjecaj pH-vrijednosti otopine na adsorpciju krizotiniba, te se eksperiment proveo pri tri različite vrijednosti pH 5, 7 i 9.

Već u teorijskom dijelu ovog rada spomenuto je kako krizotinib ima dvije pK_a vrijednosti, a to su 9,4 (piperidin kation) i 5,6 (piridin kation). Kako vidimo na Slici 4.1. pri svim vrijednostima pH slijedi se isti trend smanjenja početne koncentracije krizotiniba u vremenu. Uz to vidimo kako je pad koncentracije, odnosno brzina adsorpcije veća na početku i da se s vremenom smanjuje, dok se ne postigne ravnotežno stanje.

Vrijednost pH je parametar koji određuje površinska svojstva krutina i stanje onečišćujuće tvari u ovisnosti o njezinoj pK_k vrijednosti. Općenito, kada je spoj djelomično ioniziran ili ima naboj, potrebno je razmotriti elektrostatske interakcije koje se javljaju s TiO_2 . Zapravo, prema točki nultog naboja²⁸, naboj površine krutine ovisi o pH-vrijednosti. Dakle, za TiO_2 površina je pozitivno nabijena ispod pH_{pzc} (= 6,5), a negativno nabijena iznad pH_{pzc} .

²⁸ engl. *Point of Zero Charge*, pH_{pzc}

Rekacije su sljedeće:



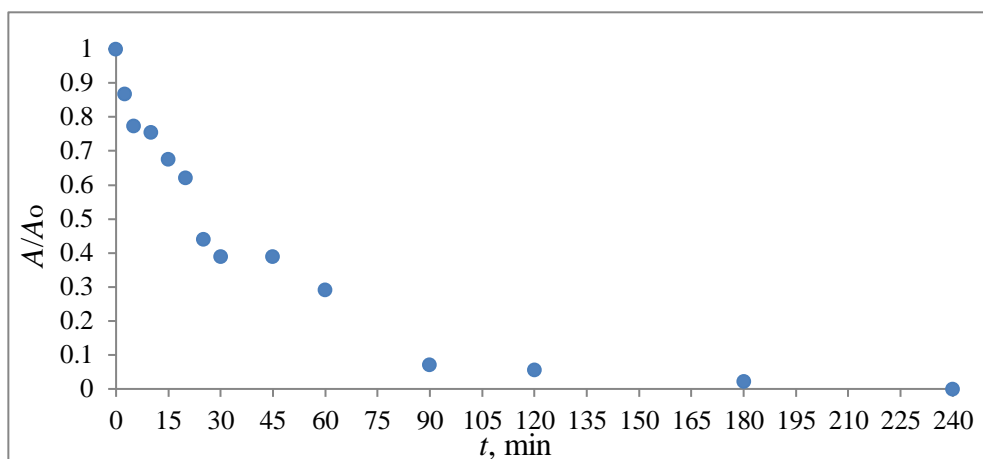
Površina TiO_2 pozitivno je nabijena u kiseljoj otopini koja je povezana s fiksacijom protona, a negativno nabijena u bazičnom mediju. Površinski naboj utječe na adsorpciju i, prema tome, može ju pospješiti ili ograničiti [59, 60]. Vrijednosti točke nultog naboja za TiO_2 u literaturi su različite, ali uvijek u rasponu 6,3-6,8.

pH-vrijednost važan je čimbenik za svako ispitivanje adsorpcije. Može uvjetovati površinski naboj adsorbensa i strukturu adsorbata. U našem eksperimentu pratili smo utjecaj vrijednosti pH na adsorpciju krizotiniba na površinu adsorbensa TiO_2 . Krivulje na Slici 4.1. pokazuju da dolazi do povećanja količine adsorbiranog farmaceutika na površini mrežice u lužnatom mediju. Ovo povećanje se može objasniti kemijskim stanjem površine TiO_2 u lužnatom mediju, kao i stanjem organske molekule koja se ne ionizira pri višim pH-vrijednostima. S druge strane, vidimo kako se ravnotežno stanje brže postiglo pri najnižoj ispitivanoj vrijednosti pH= 5 pri kojoj je krizotinib u kationskom obliku i površina titanijeva dioksida poprima pozitivan naboj, stoga se krizotinib na njoj manje zadržava, zbog nastalih odbojnih sila.

Prema tome, možemo zaključiti, da pri pH-vrijednosti 5 dolazi do smanjenja utjecaja adsorpcije, te da se smanjenje koncentracije krizotiniba u otopini može direktno pripisati razgradnji.

4.3. Fotolitička razgradnja krizotiniba

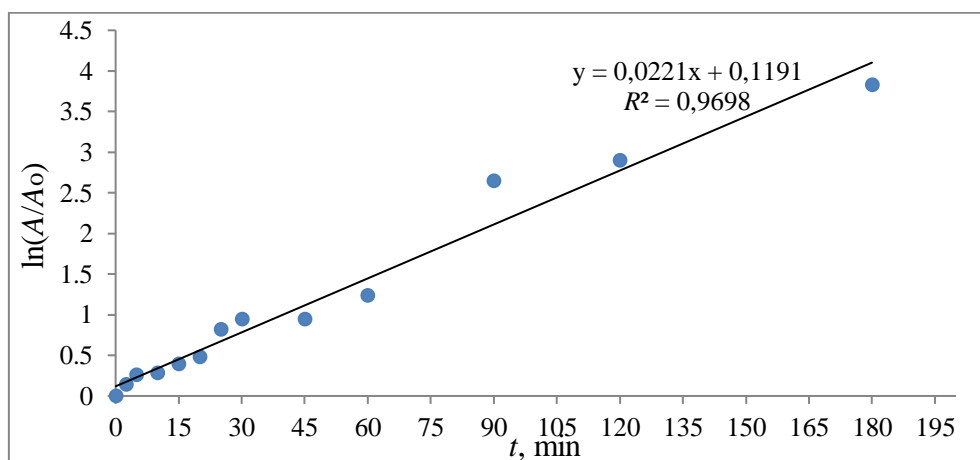
Na Slici 4.2. prikazan je rezultat fotolitičke razgradnje otopine krizotiniba početne koncentracije 10 mg L^{-1} i izmjerene pH-vrijednosti 7,14 koja se izlagala UV-A zračenju kroz 300 minuta.



Slika 4.2. Fotolitička razgradnja otopine krizotiniba pri UV-A zračenju

Slika 4.2. prikazuje omjer vrijednosti površina ispod kromatografske krivulje na početku eksperimenta, odnosno prije izlaganja otopine krizotiniba UV-A zračenju A_0 , te površina ispod kromatografskih krivulja u određenim vremenima kroz 300 minuta, A . Te vrijednosti A označavaju preostalu koncentraciju farmaceutika krizotiniba u otopini nakon izlaganja UV-A zračenju. Na prikazanom grafu može se vidjeti kako se cijela količina krizotiniba razgradila već pri 240 minuta eksperimenta.

Dobiveni rezultati fotolitičke razgradnje otopine krizotiniba pod utjecajem zračenja UV-A integrirali su se u svrhu provedbe kinetičke analize te je dobiven graf na Slici 4.3.



Slika 4.3. Kinetika fotolitičke razgradnje krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenja

Dobivene integrirane vrijednosti opisane su kinetičkim modelom razgradnje 1. reda. Iz vrijednosti koeficijenta korelacije, $R^2 = 0,9698$ možemo zaključiti kako odabrani kinetički model dobro opisuje eksperimentalne podatke.

Također, iz dobivene jednadžbe pravca $y = 0,0221x + 0,1191$ može se očitati vrijednost konstante brzine razgradnje, $k = 0,0221 \text{ min}^{-1}$.

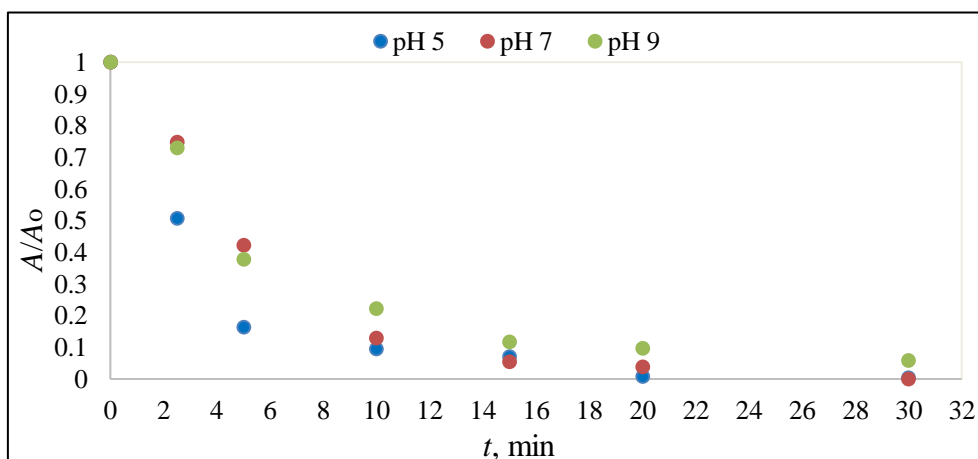
Preko dobivene vrijednosti konstante brzine razgradnje odredilo se i vrijeme poluraspada krizotiniba prema formuli (13) i iznosi 31,36 min.

4.4. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba

U svrhu poboljšanja razgradnje krizotiniba u vodenoj otopini proveden je eksperiment izlaganja otopine UV-A zračenju, ali ovaj put uz dodatak katalizatora. Za provedbu fotokatalitičke razgradnje krizotiniba korišten je fotokatalizator, na mrežici imobilizirani titanijev dioksid, TiO_2 .

Da bi se utvrdili optimalni uvjeti razgradnje krizotiniba eksperiment se proveo kombinacijom 3 različite pH-vrijednosti (5, 7 i 9) te 3 različite početne koncentracije krizotiniba (5, 10 i 15 mg L^{-1}). Ukupno se provelo 9 eksperimenata, ali zbog jednostavnosti u nastavku su prikazani jedino rezultati utjecaja pH-vrijednosti pri jednog odabranoj početnoj koncentraciji krizotiniba, te zatim utjecaj tri različite početne koncentracije krizotiniba pri istoj pH-vrijednosti otopine. Rezultati preostalih kombinacija početnih uvjeta prikazani su u Prilogu.

Za lakšu grafičku usporedbu utjecaja pH-vrijednosti na razgradnju, prikazani su trendovi za istu početnu masenu koncentraciju krizotiniba u otopini, 5 mg L^{-1} . Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 4.4.

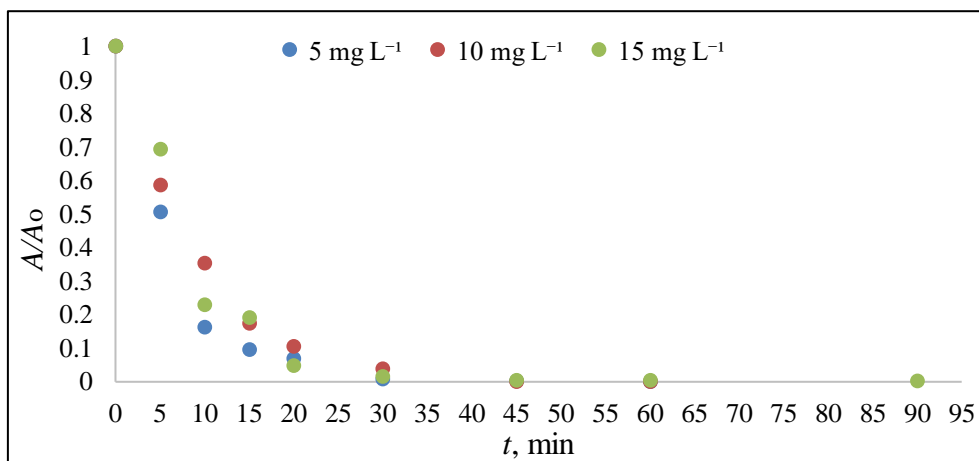


Slika 4.4. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba uz UV-A zračenje pri tri pH-vrijednosti

Uspoređujući Sliku 4.4. s prethodnim prikazom na Slici 4.2. vidimo da se proces razgradnje pod UV-A zračenjem ubrzao u prisustvu fotokatalizatora TiO_2 .

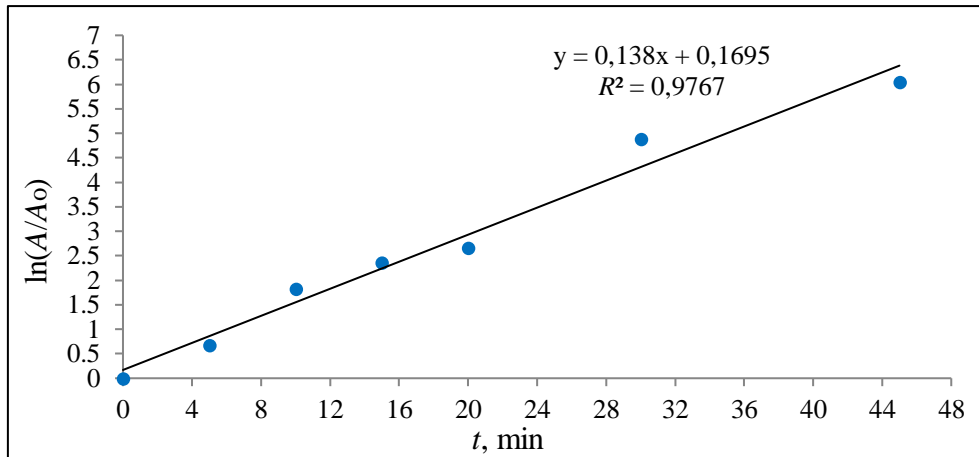
Na Slici 4.4. vidimo da se krizotinib fotokatalitički najbrže razgradio pri pH-vrijednosti 5. Takav rezultat može se povezati s prethodno objašnjenim površinskim fenomenom adsorpcije, gdje smo vidjeli kako upravo pri pH-vrijednosti 5 dolazi do smanjenja utjecaja adsorpcije na uklanjanje krizotiniba iz otopine, te njegova koncentracija ide u smjeru smanjenja, zbog porasta utjecaja razgradnje.

Da bi se ispitaio utjecaj početne koncentracije krizotiniba na njegovu fotokatalitičku razgradnju, na Slici 4.5. usporedno su se prikazali trendovi razgradnje pri trima početnim koncentracijama 5, 10 i 15 mg L^{-1} , a istoj vrijednosti pH 5.

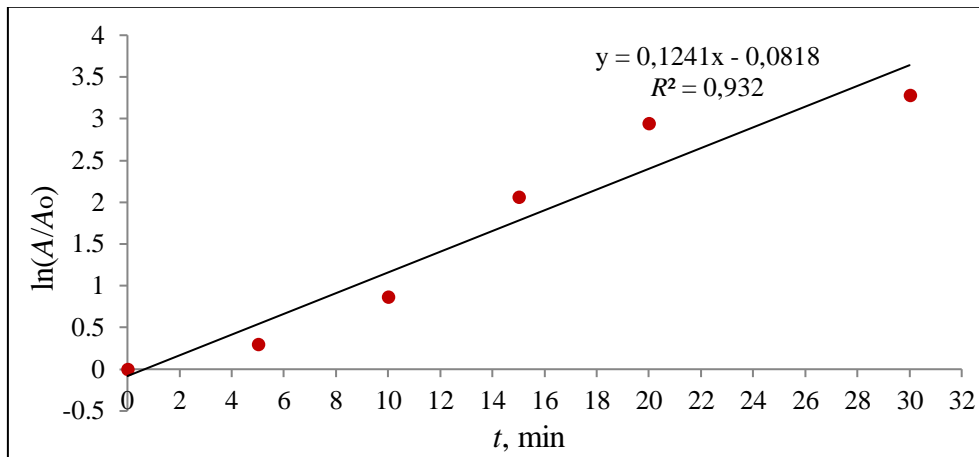


Slika 4.5. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba uz UV-A zračenje pri tri početne koncentracije

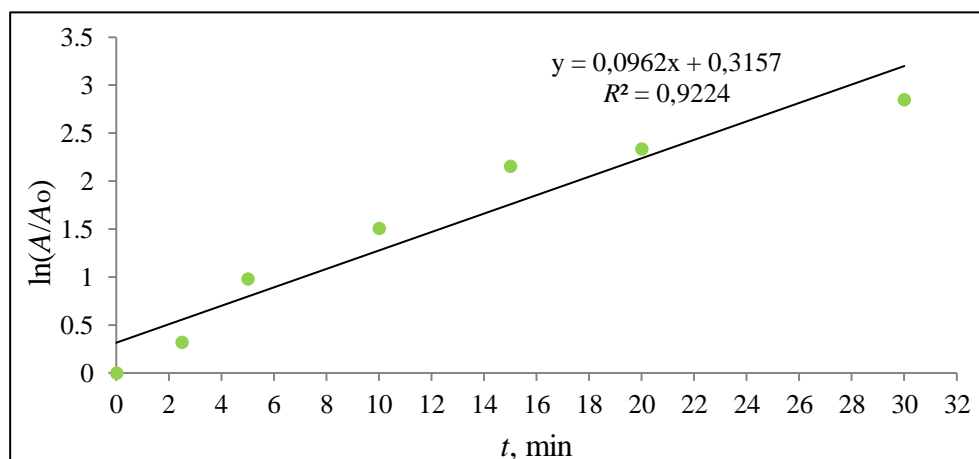
Da bi se odredila kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba, na mrežici imobiliziranoj s titanijevim dioksidom, dobiveni eksperimentalni podaci su se integrirali. Grafovi za sustave s početnom masenom koncentracijom krizotiniba 5 mg L^{-1} i pri 3 različite pH-vrijednosti prikazane su u nastavku, dok su rezultati svih ostalih eksperimentalnih sustava dani u Prilogu ovog rada.



Slika 4.6. Kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenja i pH-vrijednosti 5



Slika 4.7. Kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenja i pH-vrijednosti 7



Slika 4.8. Kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenja i pH-vrijednosti 9

Kao što se može vidjeti iz prikazanih grafova, Slika 4.6.-4.8. fotokatalitička razgradnja krizotiniba može se opisati jednadžbama kinetike 1. reda. Valjanost modela očituje se u velikim vrijednostima koeficijenta determinacije $R^2 > 0,9$.

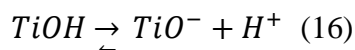
Iz dobivenih kinetičkih jednadžbi očitale su se konstante brzine razgradnje i izračunala vremena poluraspada krizotiniba prema formuli (13). Vrijednosti su prikazane u Tablici 4.2.

Tablica 4.2. Izračunate vrijednosti kinetičkih parametara za UV-A/TiO₂ sustave pri svim kombiniranim uvjetima dobivene prema modelu kinetike razgradnje 1. reda

Uvjeti			Izračunate vrijednosti prema kinetici reakcije razgradnje 1. reda	
Eksperiment	pH-vrijednost	koncentracija, c , mg L ⁻¹	Konstanta brzine razgradnje, k , min ⁻¹	Vrijeme poluraspada, $t_{1/2}$, min
1	5	5	0,1397	4,96
2	7	5	0,1234	5,62
3	9	5	0,0962	7,21
4	5	10	0,0718	9,65
5	7	10	0,0690	10,05
6	9	10	0,0421	16,46
7	5	15	0,1041	6,66
8	7	15	0,0815	8,50
9	9	15	0,0533	13,00

Na temelju izračunatih vrijednosti konstanti brzine razgradnje krizotiniba i vremena poluraspada, prikazanih u Tablici 4.2., može se zaključiti kako je u sustavu pri pH-vrijednosti 5 i početnoj koncentraciji krizotiniba 5 mg L⁻¹ vrijeme poluraspada najmanje i ono iznosi 4,96 min, a konstanta brzine razgradnje najveća i iznosi 0,1397 min⁻¹. Također, uspoređujući vrijednosti vremena poluraspada i konstanti brzine razgradnje za istu početnu koncentraciju krizotiniba, npr. 5 mg L⁻¹, vidimo kako se povećanjem pH-vrijednosti otopine $t_{1/2}$ također povećava s 4,96 min do 7,21 min, a k smanjuje s 0,1397 min⁻¹ do 0,0962 min⁻¹. Taj isti trend produljenja vremena poluraspada s povećanjem pH-vrijednosti otopine ponavlja se pri svim ostalim početnim koncentracijama, stoga pH-vrijednosti imaju kritičnu ulogu u brzini razgradnje krizotiniba u vodenom ekosustavu jer se brzina razgradnje smanjuje s porastom pH-vrijednosti.

Trend smanjenja razgradnje molekule s povećanjem pH-vrijednosti otopine na aktivnoj površini katalizatora TiO₂, već je zapaženo u nekim prethodno objavljenim istraživanjima. Ono, kao i u radu već spomenuti fenomen adsorpcije, može se objasniti s površinskim svojstvima fotokatalizatora na temelju točke nultog naboja. Amorfno ponašanje poluvodiča važan je parametar u reakcijama koje se odvijaju na česticama njegove površine [61]. Prema točki nultog naboja (~6,5) površina TiO₂ pozitivno je nabijena u kiselim medijima, a negativna u alkalnim, dok krizotinib prelazi u kationsko stanje pri dvije p*K*_a vrijednosti 5,6 i 9,4. Ove vrijednosti pokazuju da će se pri pH 5 površina titanijeva dioksida biti pozitivnog naboja, a molekula krizotiniba u kationskom obliku. Među njima se pojavljuju odbojne sile koje dovode do smanjenja adsorpcije krizotiniba na površini fotokatalizatora, a dominantan fenomen je fotokatalitička razgradnja. Nasuprot tomu, povećanje pH-vrijednosti na 9 mijenja naboj površine titanijeva dioksida na negativno, a molekula krizotiniba postaje neutralna, što dovodi do povećanja njene adsorpcije na površini katalizatora, te smanjene razgradnje. Ponašanje površine poluvodiča ovisno o pH-vrijednosti može se objasniti učinkom pH na potencijalima poluvodičkog pojasa i na površinsku disocijaciju hidratiziranog TiO₂. Povećanje pH-vrijednosti otopine čini pomak Nernstovih potencijala prema negativnijim vrijednostima, te smanjenja oksidacijskog potencijala h_{vb}^+ . Promjena fotokatalitičke aktivnosti također može biti posljedica sljedećeg mehanizma disocijacije na površini TiO₂. Površina kristala TiO₂ prekrivena je s TiOH u vodi [62]:



Budući da se disocijacija ne odvija u kiselim otopinama, fotokatalitički učinak pojačan je pri nižem pH [62].

Prema rezultatima može se zaključiti kako je razgradnja krizotiniba složen proces, te da se ona odvija na samoj, kao i neposrednoj blizini površine fotokatalizatora.

Uz to, možemo primijetiti kako se pri svim ispitivanim pH-vrijednostima najmanje vrijeme poluraspada dobilo za najmanju početnu koncentraciju krizotiniba od 5 mg L⁻¹. To ne iznenađuje jer se u svim eksperimentima heterogene fotokatalize koristila ista mrežica imobilizirana titanijevim dioksidom. Na površini mrežice nalazi se ograničen broj aktivnih mjesta; stoga velike koncentracije reaktanata brzo popunjavaju slobodna mjesta na površini i daljnje povećanje koncentracije ne utječe na konverziju. Uz to, povećanje koncentracije krizotiniba može smanjiti prodiranje UV-A zračenja u otopini, a time i stupanj razgradnje. S

obzirom na to, može se zaključiti da povećanjem početne koncentracije krizotiniba dolazi do porasta vremena poluraspada, te da i ovaj parametar ima značaj utjecaj na proces razgradnje.

4.5. Optimizacija procesa

Kako bi se procijenio utjecaj ključnih radnih parametara (pH-vrijednost i početna koncentracija, c) na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pod UV-A zračenjem primijenjen je statistički pristup. Za procjenu se koristio model izrađen preko Analize varijance²⁹.

Analiza varijance je alat koji se koristi u statistici i dijeli skup podataka na dva dijela: zavisne varijable i nezavisne varijable. Nezavisne varijable imaju statistički utjecaj na zadani skup podataka, dok zavisne varijable nemaju [63]. Ova analiza koristi tzv. F -test koji na temelju usporedbe aritmetičkih sredina više uzoraka donosi zaključak o nepostojanju/postojanju značajnih razlika između sredina više populacija [64].

Za određivanje bitnosti modela u ANOVA programu dizajnirala se eksperimentalna matrica unutar koje su se promatrali simultani utjecaji odabranih parametara procesa. Za nezavisne varijable odabrani su pH-vrijednosti i početna koncentracija, c (nezavisna varijabla, X_1 odnosno X_2). Prikazan je njihov simultani utjecaj na kinetiku razgradnje krizotiniba, odnosno prividnu konstantu brzine razgradnje, k (zavisna varijabla, Y) pomoću RSM (kvadratni model) pristupa. Birale su se tri razine pH-vrijednosti 5-7-9 i tri razine početne koncentracije 5-10-15, te su se u Design Expert³⁰-u isprobali eksperimenti pri svim kombinacijama, a odziv predstavlja maksimalna k -vrijednost jer je konačni cilj dobiti što veću brzinu razgradnje. Konstante su izračunate preko prikladnog kinetičkog modela 1. reda, a sve korištene vrijednosti prikazane su prethodno u Tablici 4.2.

Međuzavisnost je opisana kvadratnom polinomnom jednadžbom, prema formuli (17), gdje je β_0 presjek, β_1 , β_2 su linearni koeficijenti, β_{11} , β_{22} kvadratni koeficijenti i β_{12} koeficijent interakcije [65]:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_2 X_2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (17)$$

Ova analiza je način da se utvrdi jesu li rezultati eksperimenta značajni. Drugim riječima, pomažu nam da se otkrije treba li se odbaciti nulta i prihvatiti zamjenska hipoteza [66].

²⁹ engl. *Analysis of variance*, ANOVA

³⁰ engl. *Design-Expert* is a software for design of experiments, DOE. It provides statistical tools, such as "three-level factorial screening designs", which can identify the vital factors that affect your process or product so that you can make necessary improvements

Nultom se hipotezom pretpostavlja da X ne utječe na Y, dok alternativna hipoteza pretpostavlja da određeni faktor statistički značajno djeluje na promatranu slučajnu varijablu [64].

Na FFD matricu³¹ načinjenu prema Tablici 4.2. i konstante brzine razgradnje primijenjena je analiza višestruke regresije, te se odnos parametara izrazio polinomnom jednadžbom (tj. RMS modelom). Točnost i značaj izvedenog RSM modela proučeni su preko standardnih statističkih parametara dobivenih kroz ANOVA alat (F , p , R^2 , R_{adj}^2 i R_{pre}^2) i alata za zaostalu dijagnostiku³² uključujući test normalne vjerojatnosti, Leveneov test i test konstantne varijance. Takve dobivene vrijednosti i provedena ispitivanja mogu izravno osigurati prikladnost RSM modela za postavljene zadatke, odnosno za prikaz utjecaja parametara procesa na odabrani odziv sustava. Rezultati dobiveni kroz ANOVA alat (F , p , R^2 , R_{adj}^2 i R_{pre}^2) prikazani su u Tablici 4.3.

Tablica 4.3. Jednadžba i statistički podaci za RSM model razvijen za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pod UV-A zračenjem

Proces	Jednadžba modela				
UV-A/TiO ₂	$k = 0,065 - 0,021A - 0,020B - 1,825 \cdot 10^{-3}AB - 6,767 \cdot 10^{-3}A^2 + 0,039B^2$				
Statistički parametri	$R^2 = 0,9840$	$R_{adj}^2 = 0,9572$	$R_{pre}^2 = 0,8206$	$F = 36,81$	$p = 0,0068$

F -vrijednost modela iznosi 36,81 što znači da je model značajan. Također, prema p vrijednosti, postoji samo 0,68 % šanse da se ovako velika F -vrijednost modela procijeni zbog šuma.

Vrijednost R^2 veća je od 0,8 te potvrđuje da je dani model prihvatljiv za ispitivani proces. Adekvatna preciznost mjeri omjer signala i šuma, a poželjno je da ona iznosi preko 4, što upućuje na odgovarajući signal te da se model može koristiti za navedeni proces. Za naš model procijenjena je na 18,168.

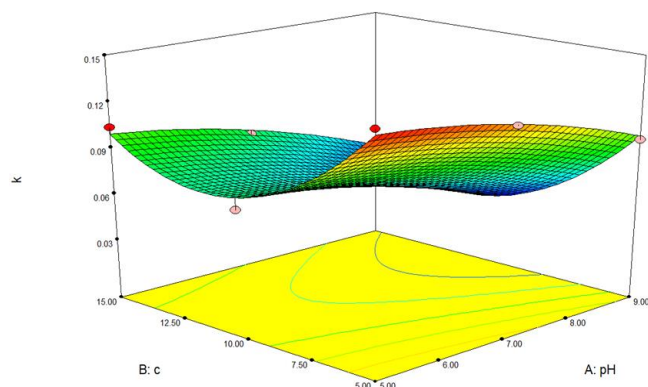
³¹ engl. *Full factorial design matrix*, FFD matrix

³² engl. *Residual diagnostic*, RD

Prikazana p -vrijednost predočava empirijsku razinu značajnosti testa. Vrijednosti p manje od 0,0500 ukazuju na to da su varijable, A i B te B^2 značajne za navedeni model s vrijednostima: 0,0047; 0,0051; 0,0037.

Design-Expert® Software

k
0.1397
0.0421
X1 = A: pH
X2 = B: c

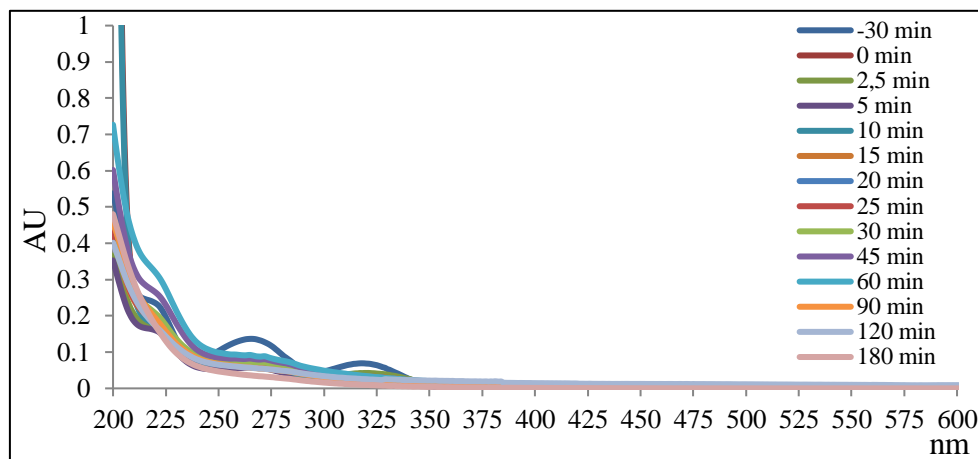


Slika 4.9. 3D prikaz utjecaja međusobne interakcije pH-vrijednosti i početne koncentracije, c na konstantu brzine razgradnje, k

Da bi se vizualno analizirao interaktivni odnos između zavisnih varijabli i nezavisne varijable podaci su se prikazali grafički pomoću 3D površine u ANOVA programu. Vizualni prikaz odziva na 3D površini plohe pomogao je istražiti i optimizirati proces razgradnje krizotiniba određivanjem maksimalnog područja intenziteta na zakrivljenosti površine. Identificirano je točno mjesto i optimalna točka za razgradnju farmaceutika krizotiniba. Slika 4.9. prikazuje područje maksimalne fotolitičke/fotokatalitičke razgradnje krizotiniba pri pH-vrijednosti 5 i početnoj koncentraciji od 5 mg L^{-1} . Na prikazanoj slici to područje je obojeno crvenom bojom i pri tim uvjetima se dobivaju najveće vrijednosti konstante brzine razgradnje kinetike 1. reda. Nakon što su se prema modelu odredili optimalni uvjeti za razgradnju krizotiniba, početna koncentracija 5 mg L^{-1} i pH-vrijednost 5, ponovio se eksperiment fotokatalize za određivanje mehanizma razgradnje, a zatim provjerila i toksičnost farmaceutika bioanalitičkom metodom koja koristi bakterijsku kulturu *Vibrio fischeri*, kako je prikazano u nastavku rada.

4.5.1. Fotokatalitička razgradnja pri optimalnim uvjetima

Na Slici 4.10. prikazani su snimljeni apsorpcijski spektri tijekom 180 minuta eksperimenta fotokatalize proveden pri optimalnim uvjetima.



Slika 4.10. Apсорpcijski spektar krizotininiba tijekom fotokatalitičke razgradnje pri optimalnim uvjetima početne koncentracije 5 mg L^{-1} i pH-vrijednosti 5

Mjerenjem apsorpcijskog spektra krizotininiba prije početka fotokatalize utvrđeno je da se maksimum apsorpcije postiže pri valnoj duljini od 270 nm. Slika 4.10. prikazuje smanjenje apsorpcijskog maksimuma s vremenom. Apсорpcijski maksimum se pri 180 minuta ne pojavljuje, što ukazuje na to da se krizotininib pri optimalnim uvjetima u potpunosti fotokatalitički razgradio.

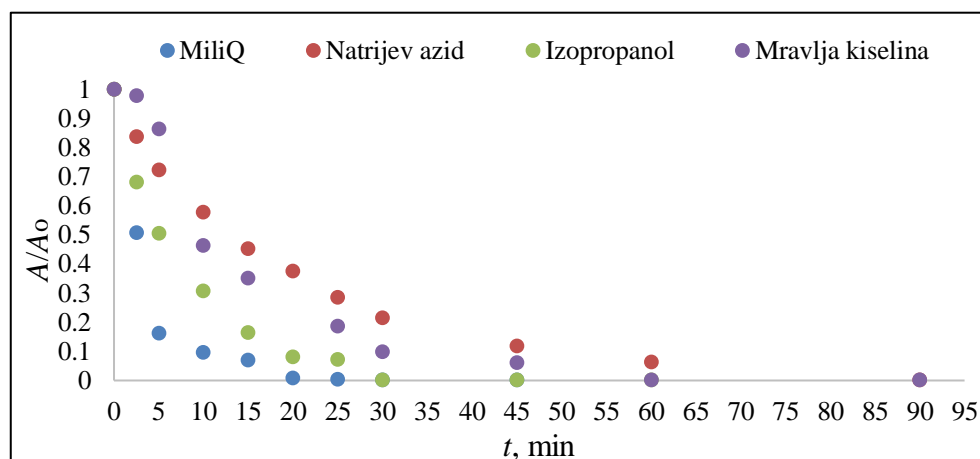
4.5.2. Scavenging test

Da bi se odredio dominantni mehanizam fotokatalitičke razgradnje krizotininiba na fotokatalizatoru titanijeva dioksida pri izloženosti UV-A zračenju proveo se Scavenging test. Mehanizam pobude fotokatalizatora titanijeva dioksida, odnosno nastanak radikala, opisan je detaljnije u teorijskom dijelu ovog rada. Nastali radikali jaki su agensi koji mogu razbiti mnoge organske kovalentne veze, poput C-C, C-H, C-N, C-O i H-O prisutnih u biomolekulama kao što su ugljikohidrati, nukleinska kiselina, proteini, aminokiseline, pa čak i DNA [67].

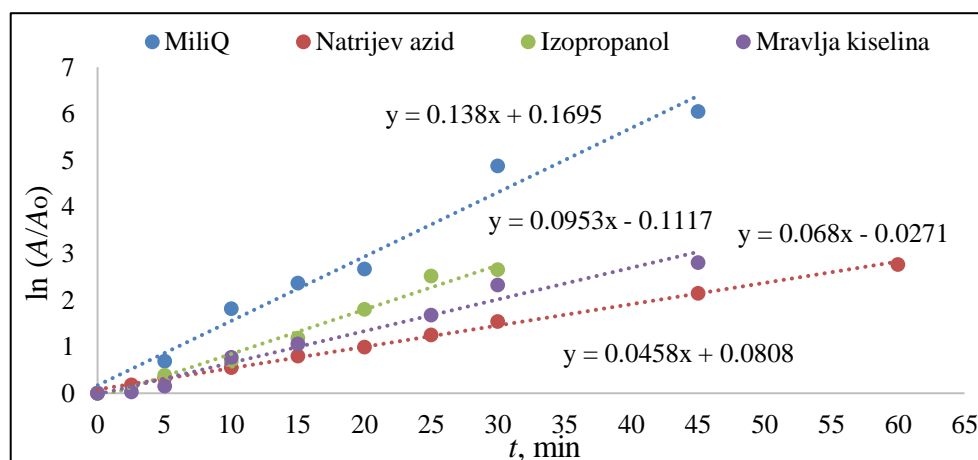
U ovom radu ispitan je utjecaj najznačajnijih radikala/aktivnih oblika koji potječu od kisika, a to su hidroksilni radikal ($\text{OH}\cdot$), singletni kisik ($^1\text{O}_2$) i superoksid radikal ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Među njima je hidroksilni radikal, $\text{OH}\cdot$ najtoksičniji reducirani oblik kisika i zbog svoje velike reaktivnosti brzo nestaje, stoga ga je vrlo teško dokazati.

Za ispitivanje mehanizma fotokatalitičke reakcije, izopropanol (5 mM^{33}), natrijev azid (5 mM) i mravlja kiselina (20 mM) upotrebljeni su za selektivno uklanjanje hidroksilnih radikala ($\text{OH}\cdot$), singletnog kisika ($^1\text{O}_2$), odnosno superoksid radikala ($\text{O}_2^{\cdot-}$).

Rezultati eksperimenta prikazali su se grafički na slikama u nastavku.



Slika 4.11. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba s i bez NaN_3 , HCOOH i $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ uz UV-A zračenje



Slika 4.12. Kinetika fotokatalitičke razgradnje krizotiniba s i bez NaN_3 , HCOOH i $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ uz UV-A zračenje

Iz grafičkih prikaza vidi se kako od tri ispitana reagensa najviše na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba izloženog UV-A zračenju utječe natrijev azid (NaN_3). To se očituje po smanjenju omjera površina A i A_0 prikazanih na Slici 4.11. te na Slici 4.12. u smanjenju nagiba linearne funkcije kinetike prvog reda.

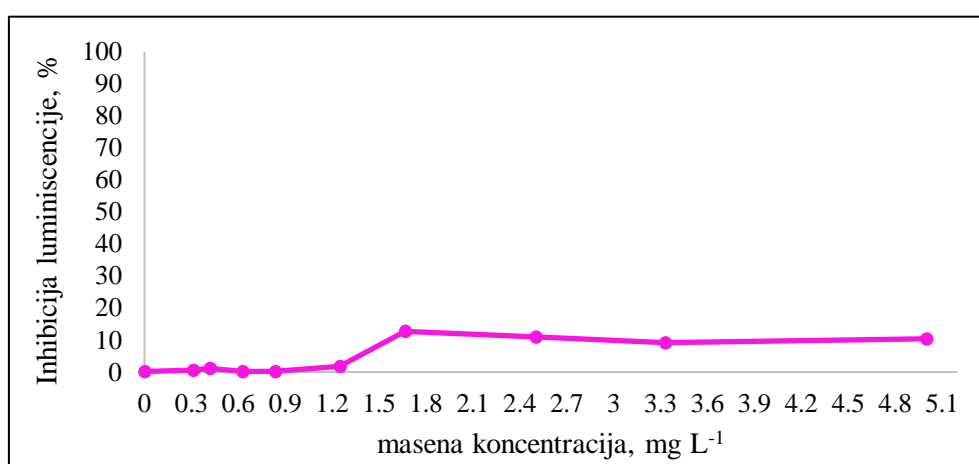
³³ engl. millimolar, $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

Također su se iz jednadžbi kinetike 1. reda izračunala vremena poluraspada farmaceutika krizotiniba. Vrijeme poluraspada, $t_{1/2}$ za početni sustav u kojem je samo MiliQ iznosi 4,96 minute, dok su sva ostala vremena veća, što dokazuje da je došlo do „hvatanja“ slobodnih radikala u sustavu. Najveće vrijeme poluraspada od 15,13 min dobilo se za sustav s natrijevim azidom (NaN_3). S druge strane, vidi se da su mravlja kiselina (HCOOH) i izopropanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) također usporile proces razgradnje, ali nešto manje od prethodno spomenutog natrijevog azida. Vrijeme poluraspada za sustav uz dodanu mravlju kiselinu iznosilo je 10,19 min, dok je najmanji utjecaj na sustav imao izopropanol pri kojem je vrijeme poluraspada krizotiniba iznosilo 7,27 min.

4.6. Toksičnost

Toksičnost krizotiniba ispitala se bioanalitičkom metodom kojom je moguće odrediti akutnu ekotoksičnost određenog farmaceutika. Metoda se zasniva na upotrebi bakterije *Vibrio fischeri* te inhibiciji njenog rasta u prisustvu organskog zagađivala. Inhibicija se detektira smanjenjem luminiscencije prema DIN 38 412-L34 standardu. Vrijeme trajanja testa je 30 minuta te spada u tzv. testove kratkog trajanja [68]. Eksperiment se proveo pri prethodno određenim optimalnim uvjetima: pH-vrijednost 5 i početna koncentracija 5 mg L⁻¹. Da bi se pokazala razgradnja krizotiniba, nakon eksperimenta snimili su se apsorpcijski spektri.

Dobiveni rezultati, izraženi u apsolutnoj vrijednosti, prikazani su grafički na Slici 4.13.



Slika 4.13. Grafički prikaz ovisnosti inhibicije luminiscencije o masenoj koncentraciji farmaceutika krizotiniba

Dobiveni rezultati procjene toksičnosti ispitivanog farmaceutika krizotiniba prikazani su grafički. Graf prikazuje da se tijekom 30 minuta testa inhibiralo 10,33 % na temelju čega se može zaključiti da bi za 20 % inhibicije bakterijske kulture *Vibrio fischeri* trebalo ispitati veće koncentracije farmaceutika krizotiniba od 5 mg L⁻¹.

Da bi se napravila usporedba dobivenih eksperimentalnih rezultata koristio se računalni program TEST³⁴. Svrha softvera TEST je procijeniti vrijednosti toksičnosti i fizikalna svojstva kemikalija iz njihove strukture. Program koristi QSAR metodologiju te omogućuje korisnicima da procijene toksičnost kemikalije bez potrebe za vanjskim programima [69].

Dobivene vrijednosti prikazane su u Tablici 4.4.

³⁴ engl. *Toxicity Estimation Software Tool*

Tablica 4.4. Vrijednosti razvojne toksičnosti, bioakumulacijskog faktora i mutagenosti za krizotinib dobivene TEST programom

Razvojna toksičnost	Bioakumulacijski faktor	Mutagenost
+(0,24)	92,35	+(0,47)

Razvojna toksičnost može utjecati na fetus kod trudnica i/ili na reproduktivni sustav kod muškaraca, te se njeno ispitivanje svrstava u sastavni dio prekliničkih ispitivanja regulatornih agencija diljem svijeta, uključujući Američku Agenciju za hranu i lijekove [70].

Unutar programa za procjenu mutagenosti korišten je Amesov test. Amesov test široko je korištena metoda, koja koristi bakterije za procjenu mutagenosti i kancerogenosti [71].

Za proračun je korištena konsenzusna metoda³⁵.

TEST-om su se za krizotinib procijenile male, premda pozitivne vrijednosti razvojne toksičnosti i mutagenosti.

S druge strane, vrijednost bioakumulacijskog faktora iznosi 92,35 te se nalazi u intervalu 30-100, što znači da krizotinib pokazuje umjerenu sklonost bioakumulaciji [72]. Vrijednost bioakumulacijskog faktora važna je jer predviđa ulazak zagađivala u prehrambeni lanac, koji tako može uzrokovati akumulaciju zagađenja u biološkim tkivima vodenih organizama, vodi, hrani kao i suspendiranju u sedimentima [73].

³⁵ engl. *Consensus method*

5. ZAKLJUČAK

Ispitivanje razgradnje farmaceutski aktivne tvari krizotiniba pomoću UV-A zračenja s i bez prisustva katalizatora u protočnom reaktoru važno je da bismo mogli predvidjeti njegovo ponašanje i utjecaj u okolišu, mogućnost akumuliranja u kopnu te u nadzemnim ili podzemnim vodama. U tu svrhu provedeno je ispitivanje utjecaja različitih parametara koji mogu utjecati na fotokatalitičku razgradnju krizotiniba. Također su se utvrdili optimalni uvjeti razgradnje krizotiniba pod utjecajem UV-A zračenjem. Provjerila se kinetika te se utvrdio mehanizam razgradnje. Na kraju se provjerila toksičnost početnog spoja pomoću bakterijske kulture *Vibrio fischeri* bioanalitičkom metodom bioluminiscencije, kao i računalnim programom TEST.

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti:

- Hidroliza krizotiniba pri svim ispitanim pH-vrijednostima iznosi ispod 10 %, što ukazuje da je spoj hidrolitički stabilan
- Učinak adsorpcije krizotiniba najmanji je pri pH-vrijednosti 5 jer je krizotinib u kationskom stanju i površina TiO_2 je pozitivnog naboja
- Krizotinib se razgrađuje pod utjecajem UV-A zračenja
- Fotolitička i fotokatalitička razgradnja krizotiniba može se opisati kinetikom 1. reda
- Najbrža fotokatalitička razgradnja postigla se za najmanju početnu koncentraciju krizotiniba, zbog ograničenog broja aktivnih centara na površini titanijeva dioksida
- Pri istoj pH-vrijednosti, povećanjem početne koncentracije krizotiniba dolazi do produljenja vremena poluraspada
- Pri istoj početnoj koncentraciji krizotiniba, povećanjem pH-vrijednosti otopine dolazi do produljenja vremena poluraspada
- Najmanje vrijeme poluraspada, $t_{1/2}$ krizotiniba kod fotokatalitičke razgradnje dobiveno je pri masenoj koncentraciji 5 mg L^{-1} i pH-vrijednosti 5 te iznosi 4,96 min
- Optimalni uvjeti za fotolitičku/fotokatalitičku razgradnju krizotiniba odredili su se programom ANOVA. Rezultati su se prikazali grafički gdje se jasno vidjelo da se pri početnoj koncentraciji od 5 mg L^{-1} i pH-vrijednosti 5 dobivaju najveće vrijednosti konstante brzine razgradnje, k
- U prisustvu fotokatalizatora titanijeva dioksida (TiO_2) razgradnja krizotiniba se ubrzala
- Pri optimalnim uvjetima došlo je do potpune fotokatalitičke razgradnje krizotiniba pod UV-A svjetlom tijekom 180 minuta eksperimenta

- Ispitivanjem mehanizma fotokatalitičke razgradnje krizotiniba utvrđeno je kako hidroksilni radikal, singletni kisik i superoksidni radikal imaju značajnu ulogu u razgradnji ovog farmaceutika
- Pri Scavenging testu najveće vrijeme poluraspada, $t_{1/2}$ od 15,13 minuta dobilo se za fotokatalitički sustav uz dodatak natrijeva azida (NaN_3). Prema tome može se zaključiti kako najveću ulogu u fotokatalitičkoj razgradnji krizotiniba ima upravo singletni kisik
- Toksičnost krizotiniba ispitala se bioanalitičkom metodom upotrebom bakterijske kulture *Vibrio fischeri* pri čemu je došlo do inhibicije luminiscencije za 10,33 %. To je pokazatelj da je potrebna veća koncentracija od 5 mg L^{-1} krizotiniba da bi se postigla inhibicija od 20 %
- TEST programom se preko strukture krizotiniba procijenilo izazivanje razvojne toksičnosti i mutagenosti, te bioakumulacijski faktor. Za razvojnu toksičnost i mutagenost procijenjene su pozitivne vrijednosti, a bioakumulacijski faktor iznosi 92,35 što krizotinib svrstava u umjereno akumulirajuće spojeve

6. LITERATURA

- [1] K. Kümmerer, *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*, Springer, Third Edition, Berlin, Heidelberg 2008., str. 4, 11.
doi:10.1007/978-3-540-74664-5.
- [2] R. E. Hester, R. M. Harrison, *Pharmaceuticals in the Environment (Issues in Environmental Science and Technology, Volume 41)*, Royal Society of Chemistry, First Edition, Cambridge 2016., str. 5-16. doi: 10.1039/1465-1874.
- [3] A. P. Toolaram, K. Kümmerer, M. Schneider, Research Environmental risk assessment of anti-cancer drugs and their transformation products: A focus on their genotoxicity characterization-state of knowledge and short comings, *Reviews in Mutation Research*, **14** (1383-5742) (2014) str. 18-35. doi:10.1016/j.mrrev.2014.02.001.
- [4] D. Li, H. Chen, H. Liu, D. Schlenk, J. Mu, S. Lacorte, G. Yinga, L. Xie, Anticancer drugs in the aquatic ecosystem: Environmental occurrence, ecotoxicological effect and risk assessment, *Environment International*, **153** (106543) (2021) str. 1-12.
doi:10.1016/j.envint.2021.106543.
- [5] M. B. Cristóvão, R. Janssens, A. Yadav, S. Pandey, P. Luis, B. Van der Bruggen, K. K. Dubey, M. K. Manda, J. G. Crespo, V. J. Pereira, Predicted concentrations of anticancer drugs in the aquatic environment: What should we monitor and where should we treat?, *Journal of Hazardous Materials*, **392** (122330) (2020) str. 1-26.
doi:10.1016/j.jhazmat.2020.122330.
- [6] T. Azuma, Distribution of Anticancer Drugs in River Waters and Sediments of the Yodo River Basin, Japan, *Applied Sciences*, **8** (11) (2018) str. 1-19.
doi:10.3390/app8112043.
- [7] E. Heath, M. Filipič, T. Kosjek, M. Isidori, »Fate and effects of the residues of anticancer drugs in the environment, *Environmental Science and Pollution Research*, **23** (15) (2016) str. 14687–14691. doi:10.1007/s11356-016-7069-3.
- [8] Pyrazolylpyridines,
http://classyfire.wishartlab.com/tax_nodes/C0002006. (pristup 02. srpnja 2021.)
- [9] A. Dasa, B. K. Banik, *Green Approaches in Medicinal Chemistry for Sustainable Drug Design*, Elsevier Inc., First Edition, Amsterdam 2020., str. 921-964.
doi:10.1016/C2018-0-01572-8.

- [10] A. Sahu, K. Prabhash, V. Noronha, A. Joshi, S. Desai, Crizotinib: A comprehensive review, *South Asian Journal of Cancer*, **2** (2) (2013) str. 91-97. doi:10.4103/2278-330X.110506.
- [11] B. Golding, A. Luu, R. Jones, A. M. Vilorio-Petit, The function and therapeutic targeting of anaplastic lymphoma kinase (ALK) in non-small cell lung cancer (NSCLC), *Molecular Cancer*, **17** (1) (2018) str. 1-15. doi:10.1186/s12943-018-0810-4.
- [12] F. Blackhall, F. Cappuzzo, Crizotinib: from discovery to accelerated development to front-line treatment, *Annals of Oncology*, **27** (3) (2016), str. iii35-iii41. doi:10.1093/annonc/mdw304.
- [13] M. García del Valle Tristán, C. Iglesias Moreno, J. Mola Hernando, Crizotinib en cancer de pulmón no microcítico: revisión bibliográfica y estudio de utilización, Universidad Complutense, Madrid 2015., str. 3-4.
- [14] A. Sahu, K. Prabhash, V. Noronha, A. Joshi, S. Desai, Crizotinib: A comprehensive review, *South Asian Journal Cancer*, **2** (2) (2013) str. 91–97. doi:10.4103/2278-330X.110506.
- [15] R. A. Gottlieb, P. K. Mehta, *Cardio-Oncology: Principles, Prevention and Management*, First Edition, Elsevier Inc., London 2017., str. 1-24.
- [16] S. L. Gerson, P. F. Caimi, B. M. William, R. J. Creger, *Hematology: Basic Principles and Practice*, 7th Edition, Elsevier Inc., Philadelphia 2018., str. 849-912.
- [17] Molekula krizotiniba, <https://www.cancerquest.org/es/node/6371>. (pristup 02. svibnja 2021.)
- [18] OECD Studies on Water, *Pharmaceutical residues in freshwater: Hazards and policy responses*, Preliminary version, OECD Publishing, Paris 2019. doi:10.1787/c936f42d-en.
- [19] M. Gros, M. Petrović, A. Ginebreda, D. Barceló, Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental riskassessment using hazard indexes, *Environment International*, **36** (1) (2010) str. 15–26. doi:10.1016/j.envint.2009.09.002
- [20] A. Jelic, M. Gros, A. Ginebreda, R. Cespedes-Sánchez, F. Ventura, M. Petrovic, D. Barcelo, Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge

during wastewater treatment, *Water Research*, **45** (3) (2011), str. 1165-1176.

doi:10.1016/j.watres.2010.11.010.

[21] S. G. Pouloupoulos, A. Yerkinova, G. Ulykbanova, V. J. Inglezakis, Photocatalytic treatment of organic pollutants in a synthetic wastewater using UV light and combinations of TiO₂, H₂O₂ and Fe(III), *PLoS ONE*, **14** (5) (2019) str. 1-20, 2019.

doi:10.1371/journal.pone.0216745

[22] Advanced Oxidation Processes, <https://sswm.info/sswm-university-course/module-6-disaster-situations-planning-and-preparedness/further-resources-0/advanced-oxidation-processes>, (pristup 15. srpnja 2021.)

[23] R. Verm, L. Mohan Kundu, L. M. Pandey, 6 - Decontamination of distillery spent wash through advanced oxidation methods; *Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants*, ur. M. P. Shah, First Edition, Elsevier Inc., Amsterdam 2021, str. 103-117. doi:10.1016/B978-0-12-821011-6.00006-2.

[24] D. Ghim, P. Ghosh, *Advanced Oxidation Processes: A Powerful Treatment Option for the Removal of Recalcitrant Organic Compounds; Advanced Oxidation Processes - Applications, Trends, and Prospects*, First Edition, IntechOpen (Open Access), London 2020. str. 1-12. doi:10.5772/intechopen.90192.

[25] Yang Deng, Renzun Zhao, *Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment*, *Current Pollution Reports* volume, **1** (3) (2015) str. 167–176.

doi:10.1007/s40726-015-0015-z..

[26] Swati Singh, Anurag Garg, 12-Advanced oxidation processes for industrial effluent treatment; *Advanced Oxidation Processes for Effluent Treatment Plants*, ur. M. P. Shah, First Edition, Elsevier Inc., Amsterdam 2021., str. 255-272. doi:10.1016/B978-0-12-821011-6.00012-8.

[27] Fotokemija,

<https://www.accessscience.com/content/photochemistry/509100>. (pristup 03. srpnja 2021.)

[28] N. Bono, F. Ponti, C. Punta, G. Candiani, Effect of UV Irradiation and TiO₂-Photocatalysis on Airborne Bacteria and Viruses: An Overview, *Materials*, **14** (5) (2021) str. 1-19. doi:10.3390/ma14051075.

- [29] UV-zračenje,
<https://www.fda.gov/radiation-emitting-products/tanning/ultraviolet-uv-radiation#1>.
(pristup 25. srpnja 2021.)
- [30] R. Janssens, B. M. Cristov ao, M. R. Bronze, J. G. Crespo, V. J. Pereira, P. Luis, Photocatalysis Using UV A and UV C Light Sources for Advanced Oxidation of Anti-Cancer Drugs Spiked in Laboratory-Grade Water and Synthetic Urine, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **59** (2) (2020), str. 647–653.
doi:10.1021/acs.iecr.9b04608.
- [31] A. Bianco, M. Passananti, M. Brigante, G. Maillhot , Photochemistry of the Cloud Aqueous Phase: A Review, *Molecules*, **25** (423) (2020), str.1-23.
doi:10.3390/molecules25020423.
- [32] Dr. J. G. Speight, 7-Chemical Transformations in the Environment; *Environmental Organic Chemistry for Engineers*, ur. J. Speight, First Edition, Elsevier Inc., Amsterdam 2017. str. 305-353. doi:10.1016/C2013-0-16021-7.
- [33] I. Fraga Dominguez, Reducci n de microcontaminantes org nicos persistentes en medios acuosos: fotodegradaci n directa y degradaci n fotocatalizada de propranolol en agua de mar, M ster en Qu mica Ambiental y Fundamental, Universidade da Coru a, Coru a 2011-2012., str. 22-26.
- [34] T. Loftsson, Principles of Drug Degradation; *Drug Stability for Pharmaceutical Scientists*, First Edition, Elsevier Inc., Oxford 2014., str. 5-62.
doi:10.1016/C2012-0-07703-4
- [35] D. Keane, S. Basha, K. Nolan, A. Morrissey, M. Oelgemoller, J. M. Tobin, Photodegradation of Famotidine by Integrated Photocatalytic Adsorbent (IPCA) and Kinetic Study, *Catalysis Letters*, **141** (2) (2011) str. 300-308. doi:10.1007/s10562-010-0485-y.
- [36] M. Umar, H. A. Aziz, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water; *Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment*, ur. M. N. Rashed, First Edition, IntechOpen (Open Access), London 2013. str. 195-202. doi:10.5772/53699.
- [37] Fotokataliza, <https://www.nature.com/subjects/photocatalysis>.
(pristup 03. srpnja 2021.)

- [38] S. Ramiah, S. Gautham, B. Jegadeesan, V. Ponnusami, Chapter 2 - Groundwater treatments using nanomaterials; Nanotechnology in the Beverage industry: Fundamentals and Applications, First Edition, ur. A. Amrane et al., Elsevier Inc., Amsterdam 2020. str. 25-49. doi:10.1016/C2019-0-00461-X.
- [39] V. Dal Santo, A. Naldoni, Titanium Dioxide Photocatalysis, *Catalysts*, **8** (12) (2018) str. 1-4. doi:10.3390/catal8120591.
- [40] S. Babić, L. Ćurković, D. Ljubas, M. Čizmić, TiO₂ assisted photocatalytic degradation of macrolide antibiotics, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 6 Special Issue: Photocatalysis (2017), str. 34-41. doi:10.1016/j.cogsc.2017.05.004.
- [41] D. Tseng, L. Juang, H. Huang, Effect of Oxygen and Hydrogen Peroxide on the Photocatalytic Degradation of Monochlorobenzene in Aqueous Suspension, *International Journal of Photoenergy*, 1 Special Issue (2012) str. 1-9. doi:10.1155/2012/328526.
- [42] D. Chen, Y. Cheng, N. Zhou, P. Chen, Y. Wang, K. Li, S. Huo, P. Cheng, P. Peng, R. Zhang, L. Wang, H. Liu, Y. Liu, R. Rua, Photocatalytic degradation of organic pollutants using TiO₂-based photocatalysts: A review, *Journal of Cleaner Production*, **268** (121725) (2020) str. 1-44. doi:10.1016/j.jclepro.2020.121725.
- [43] V. Vaiano, D. Sannino, O. Sacco, Chapter 10 - Heterogeneous photocatalysis: how doping with nitrogen can improve the performance of semiconductor nanoparticles under visible light irradiation; Nanomaterials for the Detection and Removal of Wastewater Pollutants, ur. B. Bonelli et al., Elsevier Inc., Amsterdam 2020., str. 285-301. doi:10.1016/C2018-0-02642-0.
- [44] F. Jović, V. Tomašić, Heterogena fotokataliza: osnove i primjena za obradu onečišćenog zraka, *Kemija u industriji*, **60** (7-8) (2011) str. 387–403. <https://hrcak.srce.hr/70031>
- [45] Y. Nosaka, A. Y. Nosaka, Comment on “Singlet Oxygen ¹O₂ in Photocatalysis on TiO₂. Where Does It Come from?”, *The Journal of Physical Chemistry*, **123** (45) (2019) str. 27993-27995. doi:10.1021/acs.jpcc.9b08464.
- [46] E. G. Hrycay, S. M. Bandiera, Chapter Two - Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer; *Advances in Pharmacology*, **74** (2015) str. 35-84. doi:10.1016/bs.apha.2015.03.003.

- [47] G. Sujatha, S. Shanthakumar, F. Chiampo, UV Light-Irradiated Photocatalytic Degradation of Coffee Processing Wastewater Using TiO₂ as a Catalyst, *Environments*, **47** (7) (2020) str. 1-13. doi:10.3390/environments7060047.
- [48] X. Zhan, C. Yan, Y. Zhang, G. Rinke, G. Rabsch, M. Klumpp, A. I. Schäfer, R. Dittmeyer, Investigation of the reaction kinetics of photocatalytic pollutant degradation under defined conditions with inkjet-printed TiO₂ films – from batch to a novel continuous-flow microreactor, *Reaction Chemistry & Engineering*, **5** (9) (2020) str. 1658-1670. doi:10.1039/D0RE00238K.
- [49] 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, *Scientific Reports*, **8** (7104) (2018) str. 1-9. doi:10.1038/s41598-018-25673-5.
- [51] A. F. Alkaim, A. M. Aljeboree, N. A. Alrazaq, S. J. Baqir, F. H. Hussein, A. J. Lilo, Effect of pH on Adsorption and Photocatalytic Degradation Efficiency of Different Catalysts on Removal of Methylene Blue, *Asian Journal of Chemistry*, **26** (24) (2014) str. 8445-8448. doi:10.14233/ajchem.2014.17908.
- [52] G.V. Morales, E. L. Sham, R. Cornejo, E. M. Farfan Torres, Kinetic studies of the Photocatalytic degradation of tartrazine, *Latin American Applied Research*, **42** (1) (2012) str. 45-49.
- [53] A. S. El-Kalliny; A. H. Rivandi, S. Uzun, J. Ruud van Ommen, H. W. Nugteren, L. C. Rietveld, P. W. Appel, Water purification in a solar reactor incorporating TiO₂ coated mesh structures *Water Supply*, **19** (6) (2019) str. 1718-1725. doi:10.2166/ws.2019.052.
- [54] V. Agrahari, S. Putty, C. Mathes, J. B. Murowchick, B. C. Youan, Evaluation of degradation kinetics and physicochemical stability of tenofovir, *Drug testing and analysis*, **7** (3) (2015) str. 207-213. doi:10.1002/dta.1656.
- [55] E. R. Lansac, Aplicación de la bacteria *Vibrio Fischeri* en la medida de la toxicidad en aguas, Universidad de Zaragoza, Zaragoza 2011. str. 9.
- [56] *Vibrio Fischeri*,
<https://www.etsy.com/listing/818590445/vibrio-fischeri-bacteria-fused-glass>.
(pristup 04. rujna 2021.)

- [57] Radiometer UVP,
<https://www.uvp.com/products/ultraviolet-products/uv-radiometers-and-meters/uvp-uvx-radiometer/>. (pristup 09. kolovoza 2021.)
- [58] Dr. Elmar Grabert, LUMIStox 300 Bench Top Luminometer ECLOX Handheld Luminometer, HACH-LANGE GmbH, Düsseldorf, Germany 2011. str. 7-9.
- [59] OECD Guidelines for Testing of Chemicals Nr. 111, Hydrolysis as a Function of pH, travanj 2004.
- [60] M. Abbas, M. Aksil, T. Trari, Removal of toxic methyl green (MG) in aqueous solutions by apricot stone activated carbon – equilibrium and isotherms modeling, *Desalination and Water Treatment*, **125** (2018) v-vi str. 93–101.
doi:10.5004/dwt.2018.23244.
- [61] M. Abbas, Experimental investigation of titanium dioxide as an adsorbent for removal of Congo red from aqueous solution, equilibrium and kinetics modeling, *Journal of Water Reuse and Desalination*, **10** (3) (2020) str. 251–266. doi: 10.2166/wrd.2020.038.
- [62] S. Sakthivel, B. Neppolian, M. V. Shankar, B. Arabindoo, M. Palanichamy, V. Murugesan, Solar photocatalytic degradation of azo dye: comparison of photocatalytic efficiency of ZnO and TiO₂, *Solar Energy Materials & Solar Cells*, **77** (1) (2003) str. 65–82. doi:10.1016/S0927-0248(02)00255-6.
- [63] S. Naskar, S. A. Pillay, M. Chanda, Photocatalytic degradation of organic dyes in aqueous solution with TiO₂ nanoparticles immobilized on foamed polyethylene sheet, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **113** (3) (1998) str. 257-264.
doi:10.1016/S1010-6030(97)00258-X.
- [64] ANOVA,
<https://www.analyticsvidhya.com/blog/2018/01/anova-analysis-of-variance/>.
(pristup 27. srpnja 2021.)
- [65] J. Arnerić , K. Protrka, Modeli analize varijance (ANOVA), *Matematičko-fizički list LXX 1*, **70** (277) 2019-2020. str. 25-32. <https://hrcak.srce.hr/239446>.
- [66] M. Markić, M. Cvetnić, Š. Ukić, H. Kušić, T. Bolanča, A. Lončarić Božić, Influence of process parameters on the effectiveness of photooxidative treatment of pharmaceuticals, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous*

Substances and Environmental Engineering, **53** (4) (2018) str. 338–351.

doi:10.1080/10934529.2017.1401394.

[67] ANOVA Test: Definition, Types, Examples,

<http://www.statisticshowto.com/probability-and-statistics/hypothesis-testing/anova/>.

(pristup 27. srpnja 2021.)

[68] C. Regmi, B. Joshi, S. K. Ray, G. Gyawali, R. P. Pandey, Understanding Mechanism of Photocatalytic Microbial Decontamination of Environmental Wastewater, *Frontiers in Chemistry*, **6** (33) (2018) str. 2296-2646. doi:10.3389/fchem.2018.00033.

[69] T. Borojević, D. Ašperger, D. Dolar, Određivanje toksičnosti ksenobiotika u vodi, *Kemija u industriji*, **67** (13) (2018) str. 135-142. doi:10.15255/KUI.2018.025.

[70] TEST (Toxicity Estimation Software Tool) Ver 4.1,

https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NRMRL&dirEntryId=243050.

(pristup 30. srpnja 2021.)

[71] R. C. Gupta, *Reproductive and Developmental Toxicology*, First Edition, Elsevier Inc., San Diego 2011. str. 207-218.

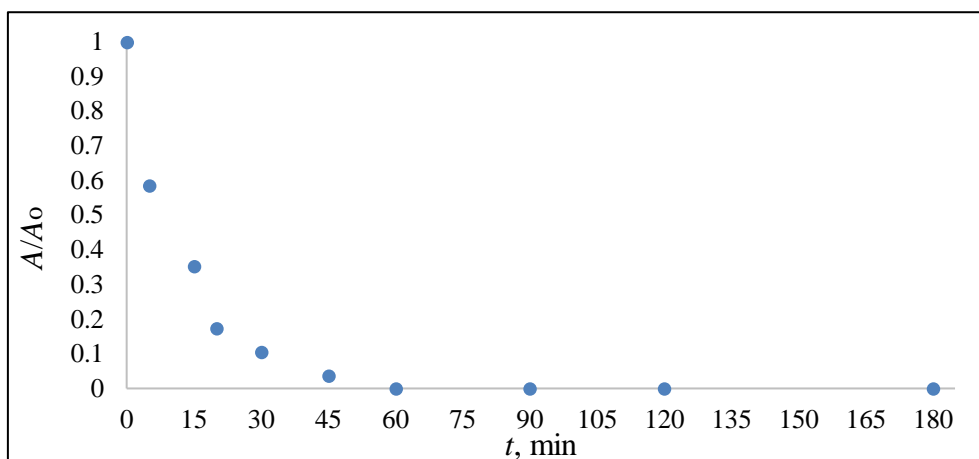
[72] Genetic Toxicology,

https://trinova.de/genetic_toxicology.php?gclid=Cj0KCQjw0pfzBRCOARIsANi0g0sNNJZMruWuN42l0V1VZ2SQfHNjh-ucWVz0RpQxo87WLqdO2pxbshwaAkj_EALw_wcB.

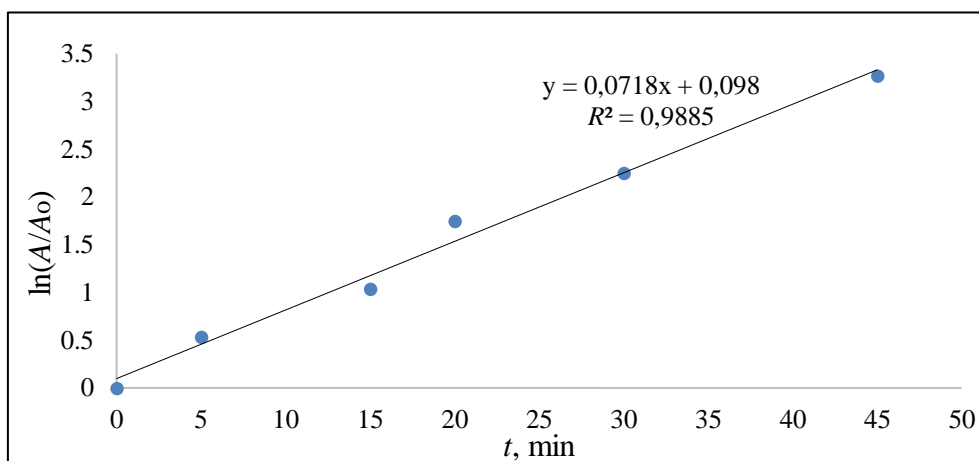
(pristup 4. kolovoza 2021.)

[73] C. Franke, G. Studinger, G. S. Berger, S. Böhling, U. Bruckmann, D. Cohors-Fresenborg, U. Jöhncke, The assessment of bioaccumulation, *Chemosphere*, **29** (7) (1994) str. 1501-1514. doi:10.1016/0045-6535(94)90281-X.

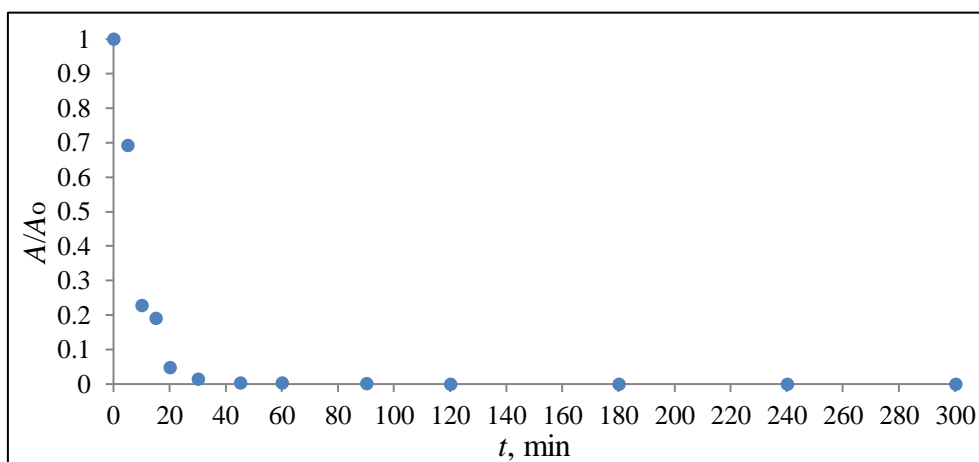
7. PRILOZI



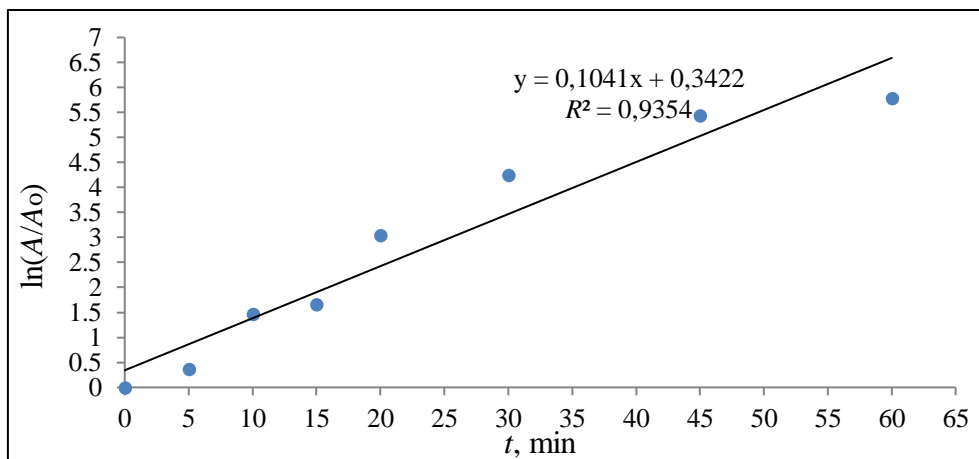
Slika 1. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 5



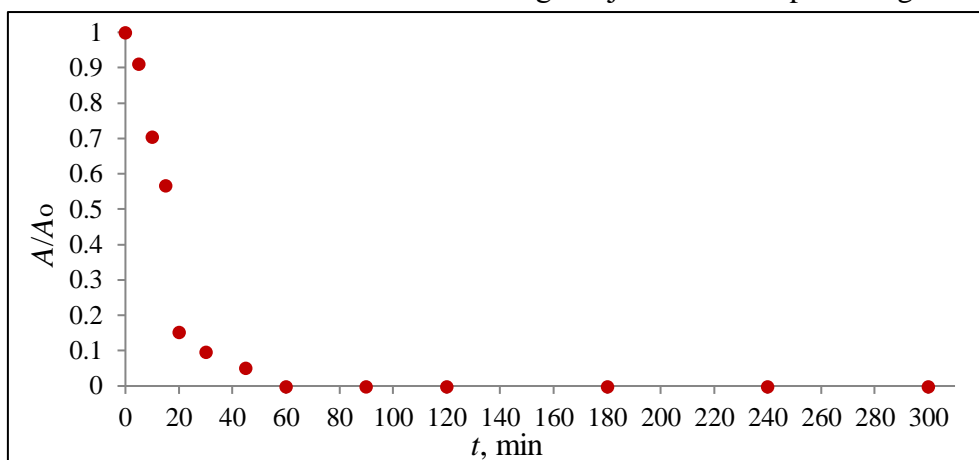
Slika 2. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 5



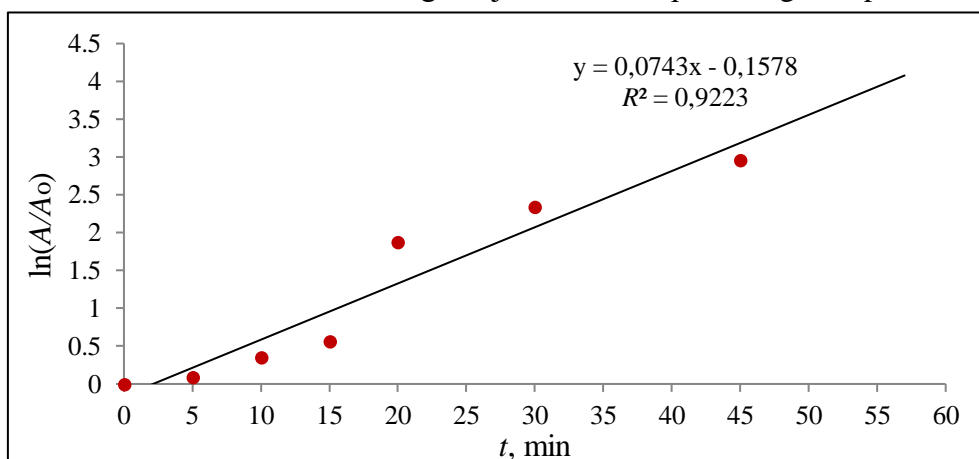
Slika 3. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 5



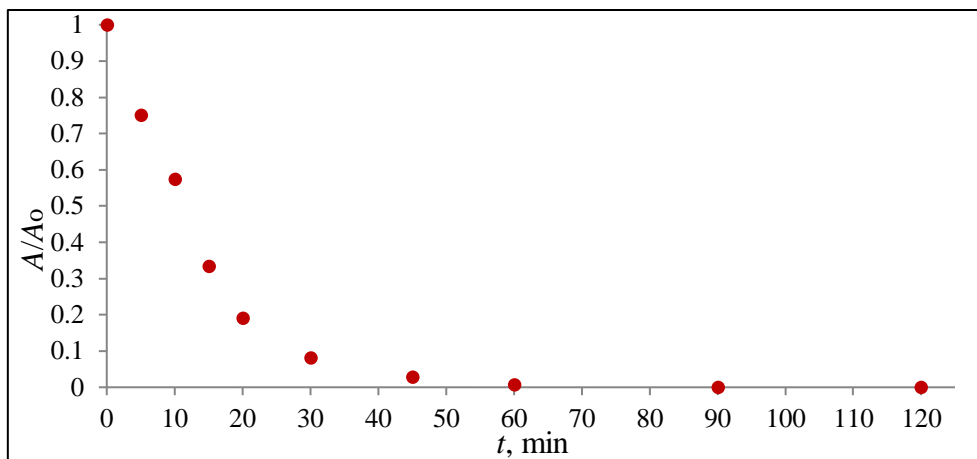
Slika 4. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 5



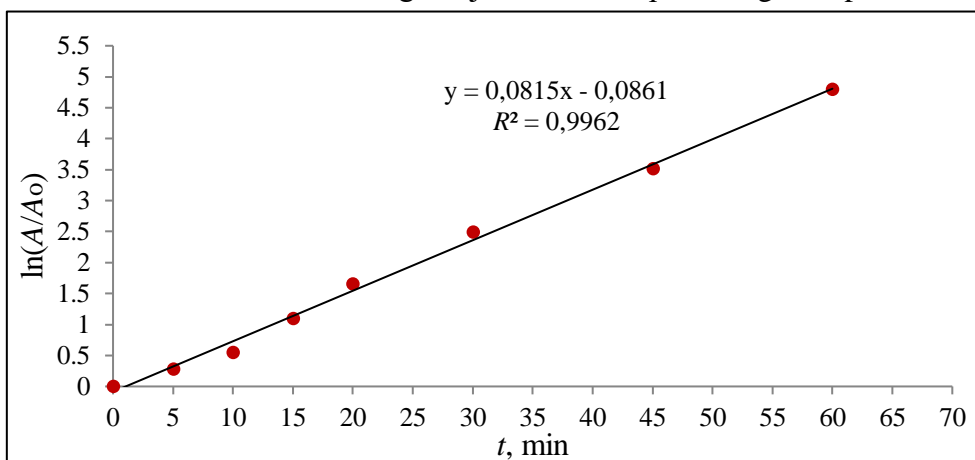
Slika 5. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 7



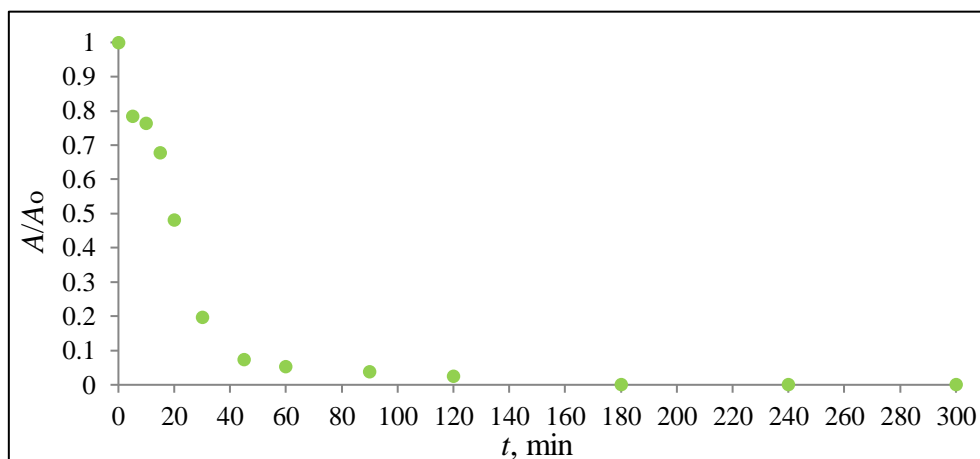
Slika 6. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 7



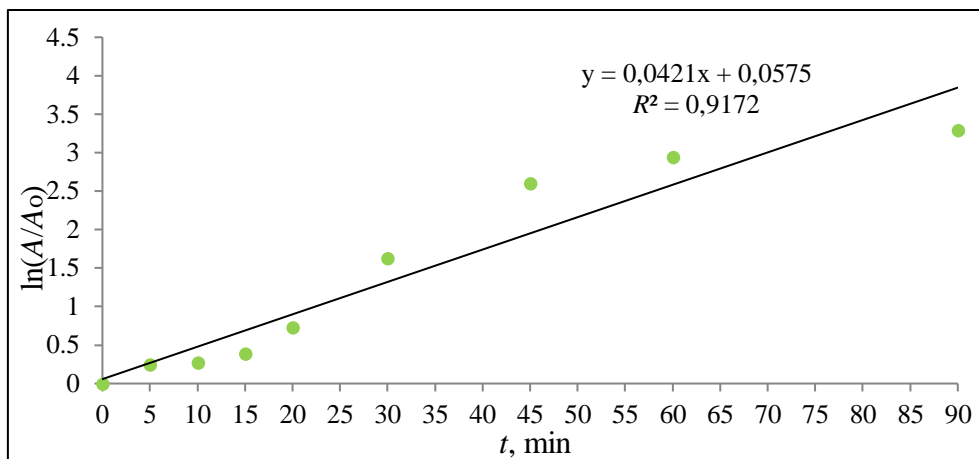
Slika 7. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 7



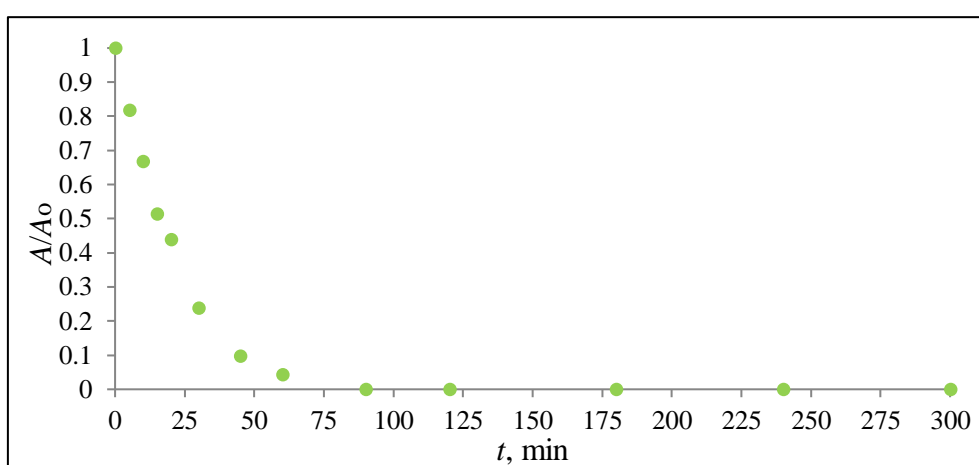
Slika 8. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 7



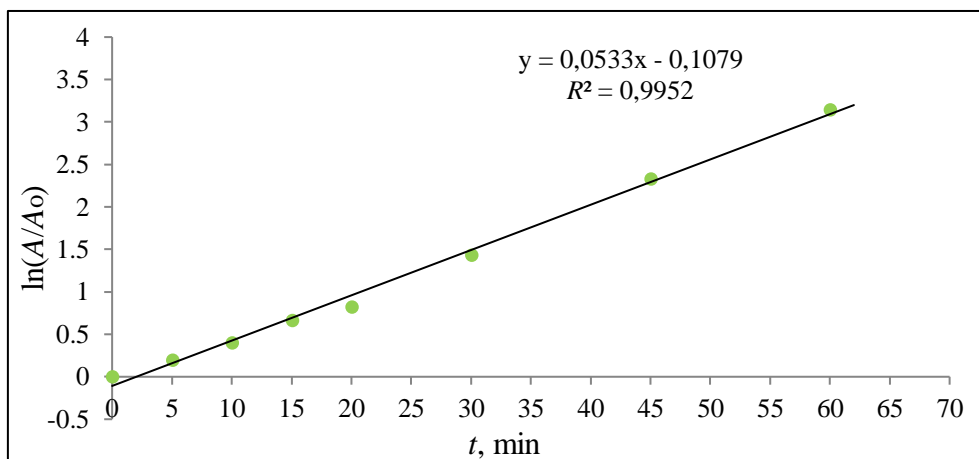
Slika 9. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 9



Slika 10. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 10 mg L⁻¹ i pH 9



Slika 11. Fotokatalitička razgradnja krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 9



Slika 12. Kinetika 1. reda za fotokatalitičku razgradnju krizotiniba pri 15 mg L⁻¹ i pH 9

8. ŽIVOTOPIS

Vendi Barbir [REDACTED] Osnovnu školu Vladimira Nazora u Pločama završava 2010. godine te svoje obrazovanje nastavlja u Općoj gimnaziji fra Andrije Kačića Miošića u Pločama.

Godine 2016. upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Kemijsko inženjerstvo. Studentsku stručnu praksu odradila je 2018. godine u Mađarskoj, u odjelu za energetiku, sektora za tehnologiju i razvoj tvrtke MOL Nyrt.

Završila je sveučilišni preddiplomski studij Kemijskog inženjerstva 17. rujna 2019. godine, obranom završnog rada na temu „Sorpcija trimetoprima na prirodne uzorke tla i sedimente“, pod mentorstvom prof. dr. sc. Dragane Mutavdžić Pavlović, te stekla akademski naziv sveučilišne prvostupnice inženjerke kemijskog inženjerstva, s pohvalom (Cum Laude).

U rujnu 2019. godine upisuje diplomski studij Kemijskog inženjerstva, modul Kemijske tehnologije i proizvodi. Dobitnica je Rektorove nagrade 2020. godine u individualnoj kategoriji pod mentorstvom prof. dr. sc. Dragane Mutavdžić Pavlović.

Ljetni semestar 2021. provela je na Universitat Politècnica de València, ETSII u Španjolskoj u sklopu Erasmus+ studijskog boravka.

Korisnica je Državne stipendije za STEM područja tijekom 2. i 3. godine preddiplomskog fakultetskog obrazovanja. Tijekom diplomskog studija korisnica je Stipendije Grada Ploča u kategoriji Tehničkih zanimanja, uz dodatno sufinanciranje od strane firme Adriatic Tenk Terminals za najboljeg studenta u navedenoj kategoriji. Diplomski studij završava među 3 % najuspješnijih studenata na studiju.

U govoru i pismu služi se aktivno engleskim jezikom, a španjolskim, talijanskim i njemačkim jezikom samo osnovno. U računalnom radu aktivno se služi paketom *Microsoft Office*, a osnovno poznaje i računalne programe *Matlab*, *PI Vision*, *LabSolution*, *Fusion360* te *ChemCAD*.