

Određivanje toksičnosti i biorazgradivosti tijekom razgradnje prioritetnih onečišćivala UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesima

Bogdan, Ana Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:149:063778>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ana Marija Bogdan

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ana Marija Bogdan

**Određivanje toksičnosti i biorazgradivosti tijekom razgradnje prioriternih
onečišćivala UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesima**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Tomislav Bolanča

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Tomislav Bolanča

dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

dr. sc. Mirjana Novak Stankov

Zagreb, rujan 2018.

Ovaj rad je izrađen u sklopu projekta „Modeliranje okolišnih aspekata napredne obrade voda za razgradnju prioriternih onečišćivala“ Hrvatske zaklade za znanost na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvala

Za početak, želim se zahvaliti svome mentoru prof. dr. sc. Tomislavu Bolanči, na savjetima i usmjerenju te na pruženoj prilici za rad u prostorima fakultetske spin-off kompanije "Comprehensive Water Technologies d.o.o.", u kojoj sam ne samo unaprijedila svoje znanje i vještine radeći na modernoj analitičkoj opremi, već dobila motivaciju i potrebno iskustvo za daljnji rad.

Posebno se zahvaljujem asistentu mag. ing. cheming. Matiji Cvetniću, ponajprije na prijateljskom pristupu i ugodnom radnom okruženju koje je stvorio, a zatim jednako bitno, na svom znanju, koje je sa mnom nesebično podijelio i bez kojeg ovaj rad ne bi mogao biti napravljen.

Želim se zahvaliti i pred. mr. sc. Marinku Markiću na pomoći i podijeljenom znanju, te dr. sc. Lidiji Furač, koja mi je pomogla učinit ovaj rad boljim, ali i na lekcijama koje me je naučila kroz cijelo moje studiranje.

Posebnu zahvalu zaslužuju moji roditelji, Šimun i Milka. Podrška, ljubav, savjeti koju su mi pružili tokom svih ovih godina me iz dana u dan vesele i tjeraju da budem bolja osoba. Hvala i mojoj Teti Jerini koja mi je bila kao druga mama, mojoj sestri Kati koja je uvijek uz mene i braći Gogi, Joci, Frani i Ivanu.

Zahvalila bih se i svom dečku Nikoli na ljubavi, motivaciji i strpljenju te mojim prijateljima s kojima je ovo iskustvo bilo uistinu nezaboravno.

SAŽETAK

Prisutnost organskih onečišćujućih tvari u vodenom okolišu, koje se obično nalaze u koncentracijama u tragovima, između ng/L i µg/L, u posljednjih je nekoliko desetljeća postao sve naglašeniji problem. Razlog tome je teško uklanjanje takvih tvari konvencionalnim postupcima obrade vode. Zbog toga raste primjena naprednih oksidacijskih procesa, AOP-a (engl. *Advanced Oxidation Processes*, AOP). Takvi procesi su UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesi, u kojima se koriste jaki oksidansi i UV-C zračenje, što rezultira brzim i djelotvornom razgradnjom organskih onečišćivala. Cilj ovog rada je odrediti toksičnost, korištenjem luminiscentne bakterije *Vibrio fischeri* i biorazgradivost, izraženu kao omjer BPK₅/KPK, za četiri pesticida (alaklor, diuron, izoproturon, klorfenvinfos) i šest farmaceutika (azitromicin, deksametazon, diklofenak, eritromicin, karbamazepin, oksitetraciklin) pri njihovim optimalnim uvjetima razgradnje UV/H₂O₂ i UV/S₂O₈²⁻ procesima. Također, potrebno je odrediti toksičnost i biorazgradivost čistih pesticida i farmaceutika kako bi se utvrdilo da li se toksičnost i biorazgradivost spojeva i njihovih metabolita tijekom fotooksidacijske razgradnje, smanjila odnosno povećala.

Ključne riječi: pesticidi, farmaceutici, toksičnost, biorazgradivost, napredni oksidacijski procesi.

SUMMARY

The presence of organic pollutants in the aquatic environment, commonly found in trace concentrations, between ng/L and µg/L, has become more pronounced problem in recent decades. The reason behind this is the difficulty of removal of such substances by conventional water treatment processes. That is the reason the application of Advanced Oxidation Processes (AOPs) is growing. Such processes include UV-C/H₂O₂ and UV-C/S₂O₈²⁻ processes, which use strong oxidants and UV-C radiation, resulting in the rapid and efficient decomposition of organic pollutants. The aim of this paper is to determine the toxicity, using the luminiscent bacterium *Vibrio fischeri* and biodegradability, expressed as BPK₅/KPK, for four pesticides (alachlor, diuron, isoproturon, chlorfenvinfos) and six pharmaceuticals (azithromycin, dexamethasone, diclofenac, erythromycin, carbamazepine, oxytetracycline) within their optimal degradation conditions, using UV-C/H₂O₂ and UV-C/S₂O₈²⁻ processes. It is also necessary to determine the toxicity and biodegradability of pure pesticides and pharmaceuticals to determine whether the toxicity and biodegradability of compounds and their metabolites during photodegradation, have been reduced or increased.

Key words: pesticides, pharmaceuticals, toxicity, biodegradability, advanced oxidation processes.

SADRŽAJ:

1. Uvod.....	1
2. Teorijski dio	2
2.1. Prioritetna onečišćivala	2
2.2. Pesticidi	4
2.2.1. Alaklor.....	6
2.2.2. Diuron.....	7
2.2.3. Klorfenvinfos	7
2.2.4. Izoproturon	8
2.3. Farmaceutici	10
2.3.1. Eritromicin i azitromicin	12
2.3.2. Oksitetraciklin	13
2.3.3. Deksametazon	13
2.3.4. Karbamazepin.....	14
2.3.5. Diklofenak	15
2.4. Napredni oksidacijski procesi	16
2.4.1. Napredne oksidacijske tehnike temeljene na hidroksilnom radikalu	18
2.4.2. Kombinirana oksidacija uz UV-C i vodikov peroksid	18
2.4.3. Reakcije temeljene na sulfatnom radikalu	20
2.5. Toksičnost	21
2.5.1. Pojava bioluminiscencije.....	22
2.5.2. Ispitivanje toksičnosti na <i>Vibrio fischeri</i>	22
2.6. Biorazgradivost	24
2.6.1. Kemijska potrošnja kisika	25
2.6.2. Biokemijska potrošnja kisika	25
3. Eksperimentalni dio.....	27
3.1. Pribor i kemikalije	27
3.2. Instrumenti	28
3.3. Provedba eksperimenta	29
3.3.1. Priprema radnih otopina	29
3.3.2. Priprema aparature	30

3.3.3. Provođenje eksperimenta	31
3.3.4. Određivanje toksičnosti bakterijama <i>Vibrio fischeri</i>	32
3.3.5. Određivanje biorazgradivosti (KPK i BPK).....	33
3.3.6. HPLC metoda	34
4. Rezultati i rasprava.....	35
4.1. Određivanje toksičnosti i biorazgradivosti.....	36
5. Zaključak	45
6. Literatura	46

1. Uvod

Sve veća potrošnja vode uslijed porasta broja stanovnika, urbanizacije te industrijalizacije, učinile su vodu visoko vrijednim resursom. Kvaliteta svježe vode je direktno povezana sa ljudskim zdravljem, očuvanjem flore i faune, sigurnosti hrane te gospodarskim i društvenim razvojem. Iako su zalihe pitke vode sve manje, u porastu je proizvodnja otpadne vode, koja se često ispušta izravno u okoliš. Industrijske otpadne vode predstavljaju posebnu opasnost za okoliš, s obzirom da u većini slučajeva sadrže štetne i toksične tvari, organskog i anorganskog porijekla. Takve onečišćujuće tvari mogu izazvat niz negativnih posljedica na vodeni okoliš. Jednom kada dospiju u okoliš, onečišćivala organskog porijekla između ostalog mogu uzrokovati akutno trovanje živih organizama, čime se narušava ravnoteža ekosustava.¹

Kako bi se na učinkovit način zaštitio vodeni okoliš u zemljama članicama Europske Unije, izglasana je *Okvirna direktiva o vodama*² (engl. *Water Framework Directive*, WFD) (2000/60/EZ). Jedan od glavnih ciljeva ove direktive je utvrditi prioriteta onečišćivala te odrediti načine njihove kontrole. U novije vrijeme sve više pažnje je posvećeno pesticidima i farmaceuticima, od koji su neki dospjeli na nadopunjenu listu koju trenutno čini 45 prioriteta onečišćivala.³

Iako postojeći klasični kemijski, biološki i fizikalni procesi obrade otpadnih voda imaju određeni učinak na smanjivanje udjela toksičnih tvari u vodi, u posljednjih desetak i više godina se sve češće kao alternativa primjenjuju napredni oksidacijski procesi (engl. *Advanced Oxidation Processes*, AOP). Glavna prednost ovih procesa u usporedbi sa ostalim procesima obrade otpadnih voda je brza i djelotvorna razgradnja organskih onečišćivala, u idealnom slučaju do vode i ugljičnog dioksida uz nastajanje gotovo zanemarivih količina sekundarnog otpada.⁴

2. Teorijski dio

2.1. Prioritetna onečišćivala

Kontinuirani rast svjetske populacije te intenzivna urbanizacija doveli su do povećanja potrošnje vode u domaćinstvima, poljoprivredi i industriji, što je rezultiralo proizvodnjom velikih količina otpadne vode, koja se često ispušta izravno u okoliš.⁵ Onečišćenje vode najčešće uzrokuju organske i hranjive tvari te različite kemijske tvari koje se proizvode za specifičnu namjenu ili nastaju kao nusprodukt u proizvodnim procesima. S ciljem očuvanja kakvoće vodenog okoliša, Europska komisija je donijela *Okvirnu direktivu o vodama*² (engl. *Water Framework Directive*, WFD) (2000/60/EZ), koja je izglasana od strane Europskog vijeća i Europskog parlamenta, a na snagu je stupila u prosincu 2000. godine. Konačni cilj ove direktive je praćenje prioriternih tvari koje predstavljaju opasnost za vodeni okoliš, kontrola te postizanje koncentracija tvari u vodenom okolišu koje su bliske vrijednostima koje se prirodno pojavljuju. U prosincu 2008. godine, donesena je *Direktiva o standardima kakvoće okoliša*⁶ (2008/105/EZ), koja uključuje listu od 33 prioriterna onečišćivala, koji predstavljaju rizik za vodeni okoliš te listu od 13 tvari koje je Europska komisija predložila na razmatranje radi mogućeg identificiranja kao prioriterna onečišćivala.^{5,7} Navedene Direktive određuju osnovne zahtjeve na području kontrole i identifikacije prioriternih tvari. Kemijsko onečišćenje voda predstavlja opasnost za vodeni okoliš u cjelini zbog niza negativnih posljedica kao što su akutna kronična toksičnost u vodenim organizmima, akumulacija onečišćujućih tvari u ekosustavima, gubitak staništa i bioraznolikosti te štetno djelovanje na vodene organizme i ljudsko zdravlje.⁸ U kolovozu 2013. godine donesena je *Direktiva o prioriternim tvarima u području vodene politike*³ (2013/39/EU), koja sadrži nadopunjenu listu. Ta nadopunjena lista sada uključuje 45 prioriternih onečišćivala (41 organske tvari, 4 metala) (Tablica 1.).

Ova ažurirana Direktiva olakšava preventivna djelovanja, identifikaciju onečišćenja, potrebu za rješavanjem emisija onečišćujućih tvari na samome izvoru te potrebu za razvojem novih, inovativnih tehnologija za obradu vode.^{5,8}

Tablica 1. Lista prioritetnih onečišćivala prema direktivi 2013/39/EU.⁸

Naziv prioritetne tvari		CAS broj
1	Alaklor	15972-60-8
2	Antracen	120-12-7
3	Atrazin	1912-24-9
4	Benzen	71-43-2
5	Bromirani difenileteri	ne primjenjuje se
6	Kadmij i spojevi kadmija	7440-43-9
7	C ₁₀₋₁₃ Kloralkani	85535-84-8
8	Klorfenvinfos	470-90-6
9	Klorpirifos (klorpirifos-etil)	2921-88-2
10	1,2-dikloretn	107-06-2
11	Diklormetan	75-09-2
12	Di(2-etilheksil)-ftalat (DEHP)	117-81-7
13	Diuron	330-54-1
14	Endosulfan	115-29-7
15	Fluoranten	206-44-0
16	Heksaklorbenzen	118-74-1
17	Heksaklorbutadien	87-68-3
18	Heksaklorcikloheksan	608-73-1
19	Izoproturon	34123-59-6
20	Olovo i spojevi olova	7439-92-1
21	Živa i spojevi žive	7439-97-6
22	Naftalen	91-20-3
23	Nikal i spojevi nikla	7440-02-0
24	Nonilfenol	ne primjenjuje se
25	Oktilfenol	140-66-9
26	Pentaklorbenzen	608-93-5
27	Pentaklorfenol	87-86-5
28	Poliaromatski ugljikovodici (PAH)	ne primjenjuje se
29	Simazin	122-34-9
30	Tributilkositrovi spojevi	ne primjenjuje se
31	Triklorbenzeni	12002-48-1
32	Triklormetan	67-66-3
33	Trifluralin	1582-09-8
34	Dikofol	115-32-2
35	Perfluorooktansulfonska kiselina i njezini derivati (PFOS)	1763-23-1
36	Kinoksifen	124495-18-7
37	Dioksini i spojevi poput dioksina	ne primjenjuje se
38	Aklonifen	74070-46-5
39	Bifenoks	42576-02-3
40	Cibutrin	28159-98-0
41	Cipermetrin	52315-07-8
42	Diklorvos	62-73-7
43	Heksabromociklododekan (HBCDD)	ne primjenjuje se
44	Heptaklor i heptaklor epoksid	76-44-87/1024-57-3
45	Terbutrin	886-50-0

2.2. Pesticidi

Pesticidi predstavljaju svaku tvar ili smjesu tvari, čija je namjena sprječavanje, uništavanje štetočina ili ublažavanje njihova djelovanja. Služe i kao biljni regulatori, defolijanti te sredstva za vezanje vode. Ovakva upotreba kemikalija se prakticira stoljećima. Sumerani su koristili sumporne spojeve za kontrolu insekata i grinja prije 4500 godina, dok se piretrum, spoj dobiven od suhog cvijeća *Chrysanthemum cinerariaefolium*, primjenjuje kao insekticid preko 2000 godina. Tijekom Drugog svjetskog rata, razvoj pesticida je rastao zbog potreba za hranom, ali i radi razvoja agensa za kemijske ratove. Stoga je u tom vremenskom razdoblju došlo do porasta u proizvodnji sintetičkih pesticida kao što su DDT, aldrin, dieldrin i sličnih. Tada je upotreba pesticida smatrana korisnom, bez ikakvih zabrinutosti za ljudsko zdravlje i okoliš. Pesticidi su toksični te skloni bioakumulaciji, zbog čega u okolišu ostaju godinama. Manje od 1 % od ukupne količine pesticida koji se primjenjuju za kontrolu korova i štetočina, dospije do ciljanih štetnika. Ostatak pesticida se gubi uslijed raspršivanja, ispuštanja te fotodegradacije. Također, niske koncentracije pesticida, osim akutnog djelovanja, uzrokuju genetske poremećaje i fiziološke promjene, čime se dugoročno smanjuje životni vijek organizma. Pesticidi se mogu grupirati na osnovu štetnika koje kontroliraju, od koji su bitniji navedeni u Tablici 2.

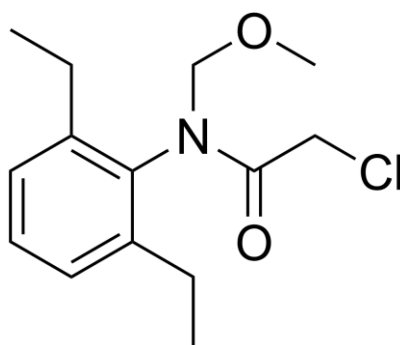
Tablica 2. Pesticidi i njihova namjena⁹

Pesticidi	Namjena pesticida
Insekticidi	sredstva za suzbijanje štetnih insekata
Herbicidi	sredstva za suzbijanje korova
Rodenticidi	sredstva za suzbijanje štetnih glodavaca
Avicidi	sredstva za suzbijanje ptica
Fungicidi	sredstva za suzbijanje gljiva
Nematocidi	sredstva za suzbijanje štetnih nematoda

Pesticide možemo grupirati i na osnovu njihove kemijske strukture: karbamati, organofosfati, organoklorini, piretrini i piretroidi, triazini, benzoidne kiseline, derivati fenoksiacetata, derivati dipiridina, derivati glicina i ditiokarbamati. Trenutno su na globalnom tržištu pesticida najzastupljeniji herbicidi (42,48 %), insekticid (25,57 %), fungicidi (24,19 %) te ostale grupe pesticida (7,76 %).⁹ S obzirom na toksičnost i dug životni vijek pesticida, Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske je 2014. godine usvojilo *Zakon o održivoj upotrebi pesticida*¹⁰ (NN 14/2014) i *Pravilnik o uspostavi akcijskog okvira za postizanje održive uporabe pesticida*¹¹ (NN 142/2012). Svrha ovakvih mjera je postizanje održive uporabe pesticida, smanjenje rizika i negativnih učinaka od uporabe pesticida na način koji osigurava visoku razinu zaštite zdravlja ljudi i životinja te zaštite okoliša.¹⁰ U daljnjem tekstu osvrnut ćemo se na svojstva četiri pesticida koji su korišteni u ovome radu: alaklor, diuron, klorfenvinfos, izoproturon.

2.2.1. Alaklor

Alaklor ($C_{14}H_{20}ClNO_2$) ili 2-kloro-2',6'-dietil-N-metoksi metil acetanilid, je pesticid koji pripada skupini acetanilidnih herbicida, koji se koristi za kontrolu korova pri uzgoju kukuruza, soje, kikirikija, graha, pamuka i sl. Alaklor je bijela kristalna tvar, molarne mase 269,769 g/mol, čija je topljivost u vodi 242 mg/L pri sobnoj temperaturi. Točka tališta alaklora je između 40-41 °C, a njegova kemijska struktura prikazana je na slici 1.¹²

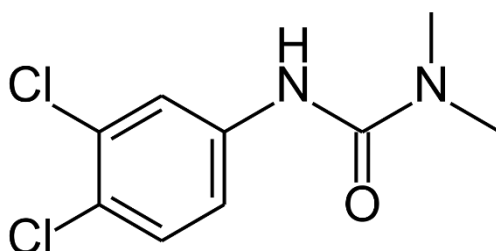


Slika 1. Kemijska struktura alaklora¹³

Vrijeme poluraspada alaklora u tlu iznosi 7-38 dana, a iz tla vrlo jednostavno dospijeva u podzemne vode. S obzirom da se pokazao opasnim po zdravlje ljudi, njegova upotreba je zabranjena unutar EU.¹⁴ Prvi put je registriran 1969. godine u Sjedinjenim Američkim Državama, a već 10 godina nakon, njegovo postojanje je zabilježeno u površinskim i podzemnim vodama u čak 10 država SAD-a. U istraživanju provedenom u Italiji 1987. godine, alaklor je pronađen u 3 od 322 izvora pitke vode, a njegova maksimalna razina iznosila je 1,6 µg/L. Dokazi koji ukazuju na genotoksičnost alaklora se smatraju nepouzdanim, međutim, na temelju raspoloživih eksperimentalnih podataka može se zaključiti da metabolit alaklora, 2,6-dietilaniline, uzrokuje mutagene promjene. Studije izvođene na štakorima jasno ukazuju da je ovaj metabolit alaklora kancerogen, jer izaziva benigne i maligne tumore nosne šupljine, maligne tumore trbušne šupljine te benigne tumore štitnjače. Smrtonosna doza alaklora za ljude iznosi 0,5-5 g/kg tjelesne mase.^{15,16}

2.2.2. Diuron

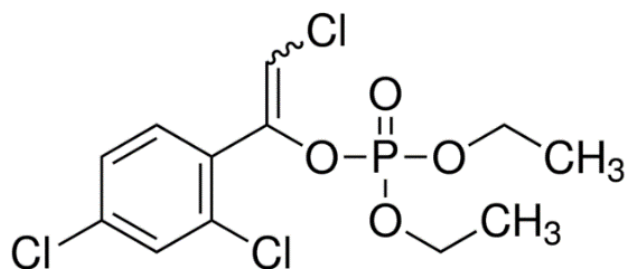
Diuron ($C_9H_{10}Cl_2N_2O$) ili prema IUPAC-u 3-(3,4-diklorofenil)-1,1-dimetilurea, je herbicid koji pripada fenil-amid (fenil-urea) obitelji.¹⁷ Najčešće se koristi u kombinaciji s drugim herbicidima (bromacil, heksazinon, tiadiazuron itd.). Diuron je bijela kristalična tvar bez mirisa, čija je molarna masa 233,092 g/mol. Točka tališta diurona je 158-159 °C, a topljivost u vodi 36,4 mg/L pri 25 °C.^{18,19} Koristi se za kontrolu širokog raspona godišnjih i višegodišnjih širokolisnih i travnatih korova, mahovina, zatim prilikom uklanjanja korova kod uzgoja pamuka, šećerne trske, pšenice. Također se primjenjuje prilikom održavanja cesta, vrtova te željezničkih puteva.¹⁷ Vrijeme poluraspada diurona u tlu je 100 dana, a u vodi dva tjedna.²⁰ Kod fotosintetskih mikroorganizama i biljki inhibira fotosintezu, tako da sprječava proizvodnju kisika te prijenos elektrona. Disperzija ovog spoja u poljoprivredne svrhe, dovodi do onečišćenja vodenog okoliša ispiranjem tla. U vodi može doći do hidrolize diurona, čime se stvara vrlo toksični 3,4-dikloranilin.¹⁷ Zbog toga je uvršten na listu prioriternih onečišćivala u okviru *Okvirne direktive o vodama*.² Nakon provođenja niza pokusa na životinjama, zaključeno je da uzrokuje rak mjehura, bubrega te mliječnih žlijezda, zbog čega ga EPA (*Environmental Protection Agency*) smatra kancerogenim i za ljude.²⁰



Slika 2. Kemijska struktura diurona²¹

2.2.3. Klorfenvinfos

Klorfenvinfos ($C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$) ili 2-kloro-1-(2,4-diklorofenil)etenil dietilfosfat, je organofosforni insekticid. Koristi se za suzbijanje štetočina poput muha, buha, krpelja, ušiju i miševa. Klorfenvinfos je bezbojna do žućkasta tekućina blagog kemijskog mirisa, molarne mase 359,564 g/mol.²² Lako se miješa s acetonom, etanolom i propilen glikolom. Sporo se topi u vodi (124 mg/L pri 20 °C) te korodira na metalima.

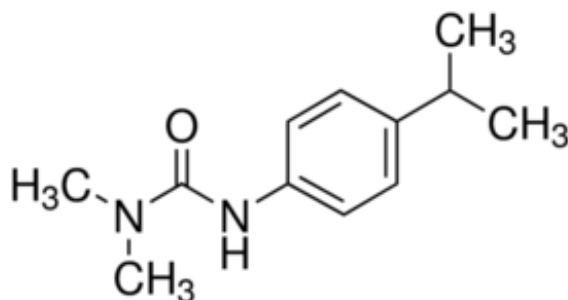


Slika 3. Kemijska struktura klorfenvinfos²³

Ne pravilnim rukovanjem lako dospijeva u tlo. Ispiranjem tla kišom dospijeva u površinske i podzemne vode, a isparavanjem u zrak. Kod životinja i ljudi, velike doze klorfenvinfos ostavljaju posljedice na živčani sustav, slične djelovanju čistog nikotina i muskarina. Simptomi izloženosti uključuju glavobolju, anksioznost, zbunjenost, zamućen vid, poteškoće s disanjem, nesvjesticu, a prilikom unošenja visokih doza direktno u organizam, zabilježeni su slučajevi smrti. Smatra se iznimno opasnom kemikalijom, međutim kancerogena svojstva nisu dokazana.²⁴

2.2.4. Izoproturon

Izoproturon ($C_{12}H_{18}N_2O$) ili 3-(4-isopropilfenil)-1,1-dimetilurea je selektivni herbicid koji se koristi radi kontrole godišnjih trava i širokolisnih korova. Molarna masa isoproturona je 206,289 g/mol, a topljivost u vodi 72 mg/L pri 20 °C. Isoproturon je bezbojna kristalična tvar bez mirisa.^{25,26} Kemijska struktura isoproturona prikazana je na slici 6.



Slika 4. Kemijska struktura isoproturona²⁷

U površinske i podzemne vode dospijeva raspršivanjem po poljoprivrednim zemljištima ili ispuštanjem otpadnih tokova iz proizvodnih postrojenja, gdje je iznimno postojan i sporo hidrolizira. Fotokemijskom razgradnjom nastaju fotometaboliti odnosno 3-(4-izopropilfenil)-1-

metilurea, 3-(4-izopropilfenil)urea, 4,4'-diizopropilazobenzene i 4,4'-diizopropilazoksibenzen. Vrijeme poluraspada pri umjerenim klimatskim uvjetima tla je 40 dana, a u vodi 30 dana.²⁵ Izoproturon se smatra umjereno toksičnim prilikom kratkotrajnog izlaganja. Nije genotoksičan, ali uzrokuje povećanje jetre. Istraživanjem na muškim i ženski štakorima je pokazalo da uzrokuje stvaranje hepatocelularnih tumora pri visokim dozama. Ne smatra se kancerogenim, ali može potaknuti stvaranje tumorskog tkiva.²⁸

2.3. Farmaceutici

Farmaceutici su spojevi koji se koriste za liječenje ili sprječavanje bolesti kod ljudi i životinja.²⁹ Trenutno se u svijetu koristi oko 4000 aktivnih farmaceutskih supstanci, čija je godišnja proizvodnja veća od 100000 tona. Zajedno sa porastom potrošnje farmaceutika, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, raste i zabrinutost zbog njihovog otpuštanja u okoliš, zbog mogućeg utjecaja na zdravlje ljudi te kopnene i vodene ekosustave uslijed dugoročnog izlaganja ovakvim spojevima. S obzirom da za farmaceutske spojeve nisu doneseni kriteriji za procjenu ekotoksikološkog rizika, nije predviđeno ni njihovo stalno praćenje u okolišu. Farmaceutici pripadaju grupi novih onečišćivala, koji obuhvaćaju širok spektar spojeva različitih struktura, funkcija, ponašanja i aktivnosti. To su većinom organski spojevi čija je molarna masa od 200 do 500 daltona, razvijeni kako bi izazvali biološki učinak. Iako se njihova prisutnost u okolišu mjeri u mikrogramima i nanogramima, oni su sveprisutni, s obzirom da je brzina kojom se ispuštaju u okoliš mnogo veća od brzine njihove degradacije i transformacije.^{1,30}

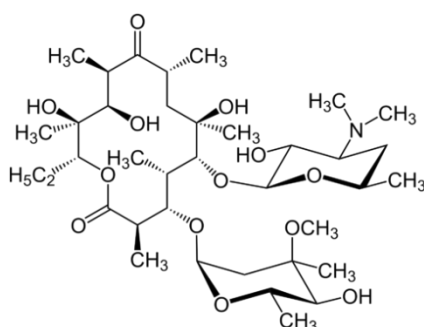
Životni ciklus farmaceutika započinje proizvodnjom u farmaceutskoj industriji, koja se smatra jednim od najvećih izvora onečišćenja kopnenog i vodenog ekosustava. Iako se otpadne vode kontaminirane farmaceuticima podvrgavaju procesima obrade, farmaceutski aktivne tvari često dospijevaju u površinske i podzemne vode te tlo. Nakon proizvodnje lijekovi se koriste u humanoj i veterinarskoj medicini. Prilikom konzumacije lijeka, ljudsko tijelo ne može u potpunosti apsorbirati aktivne tvari pa se jedan dio lijeka izlučuje nepromijenjen, a drugi dio prolazi kroz niz metaboličkih procesa, što rezultira stvaranjem različitih metabolita. Takvi metaboliti, zbog veće polarnosti često bivaju bolje topljivi u vodi, stoga su i otrovniji od početnog spoja. Nakon izlučivanja iz organizma, farmaceutici i njihovi metaboliti dospijevaju u komunalne otpadne vode, odakle se, ovisno o učinkovitosti obrade i samom sastavu spoja, ispuštaju u vodeni okoliš. Nedavna istraživanja farmakoloških ostataka, prvenstveno u Njemačkoj, pokazala su da je uklanjanje visokih i srednjih polarnih lijekova u općinskim postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda često nepotpuno, u rasponu od 60 do 90 %.^{1,30}

Također, farmaceutici u okoliš dospijevaju nepravilnim odlaganjem neiskorištenih lijekova iz bolnica, te putem farmi, na kojima se lijekovi dodaju u hranu za životinje s ciljem poboljšanja rasta, kao i za liječenje ili prevenciju bolesti. S obzirom da su lijekovi biološki aktivni spojevi, razvijeni s ciljem stvaranja biološkog učinka, čak i male koncentracije u okolišu mogu nepoželjno djelovati na ljude i životinje.¹

17 α -etinilestradiol, koji se široko koristi kao oralni kontraceptiv, je možda jedan od najpoznatijih farmaceutika u vodenom okolišu. Godine 1999. objavljeno je prvo izvješće o pojavljivanju 17 α -etinilestradiol-a u američkim površinskim vodama.³¹ Naime, pojava sintetičkog estrogena 17 α -etinilestradiol-a i endogenog estrogena 17 β -estradiol-a u američkim otpadnim vodama je identificirana kao glavni uzrok reproduktivnim oboljenjima u riba, s obzirom da imaju sposobnost izazvat feminizaciju ili hermafroditske učinke na mužjake riba i to u područjima rijeka koje se nalaze nizvodno od postrojenja za obradu otpadnih voda.^{1,32} Važno je napomenuti da se endogeni steroidni hormoni obično pojavljuju pri daleko većim koncentracijama od sintetičkih, zbog činjenice da sva živa stvorenja ove hormone izlučuju kao dio svog prirodnog ciklusa.³¹ Osim efekata 17 α -etinilestradiol-a, otkriveno je da je lijek diklofenak, na tržištu poznat kao Voltaren, skoro uzrokovao izumiranje indijskih i bengalskih tankokljunih supova. Velik broj istraživanja je usmjeren na djelovanje antibiotika u okolišu. Naime, dugoročno izlaganje bakterija malim koncentracijama antibiotika, dovodi do pojave rezistentnosti tih bakterija. Na taj način veliki broj infekcija postaje ne izlječivim od strane postojećih antibiotika, što bitno ugrožava zdravlje ljudi i životinja. Više od 70 % bakterijskih vrsta je neosjetljivo na barem jedan antibiotik, dok mnoge vrste pokazuju višestruku rezistentnost. Kada dospiju u vodeni okoliš, antibiotici reagiraju sa sredstvima za obradu voda, tvoreći kemijske spojeve koje su često toksičnije od polaznog farmaceutskog spoja.¹ U daljnjem tekstu osvrnut ćemo se na svojstva šest farmaceutika koji su korišteni u ovome radu: eritromicin, azitromicin, oksitettraciklin, deksametazon, karbamazepin, diklofenak.

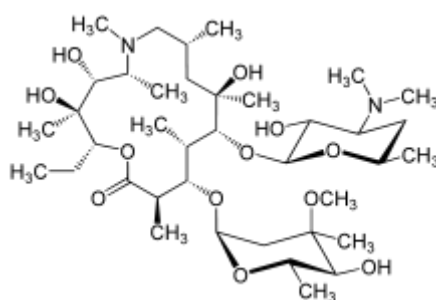
2.3.1. Eritromicin i azitromicin

Eritromicin ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) je bakteriostatički makrolidni antibiotik kojeg proizvodi *Streptomyces erythreus*. Molarna masa eritromicina je 733,937 g/mol, a topljivost u vodi 2000 mg/L pri 28 °C. Zajedno sa azitromicinom i tilosinom, ezitromicin je pronađen u podzemnim i površinskim vodama, te tlu. Najveća zabilježena koncentracija u otpadnim tokovima je između 200 i 6000 ng/L, u površinskim vodama, 10-1700 ng/L, a u podzemnim do 50 ng/L. Koristi se za liječenje bakterijskih infekcija. Kemijska struktura eritromicina prikazana je na slici 8.^{33,34}



Slika 5. Kemijska struktura eritromicina³⁵

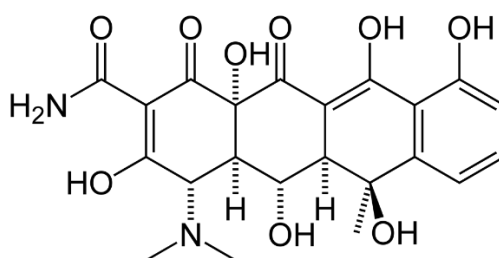
Azitromicin ($C_{38}H_{72}N_2O_{12}$) je polusintetski makrolidni antibiotik. To je bijela krutina, čija je molarna masa 748,996 g/mol, a topljivost u vodi 2,37 mg/L pri 25 °C. Najveća zabilježena koncentracija u otpadnim tokovima je 63 ng/L, u površinskim vodama 3 ng/L, a u podzemnim do 257 ng/L. Koristi se za liječenje spolnih bolesti, urogenitalnih infekcija i sl.^{34,36}



Slika 6. Kemijska struktura azitromicina³⁷

2.3.2. Oksitetraciklin

Oksitetraciklin ($C_{22}H_{28}N_2O_{11}$) je najčešće korišteni veterinarski antibiotik. Posjeduje širok spektar antimikrobnog djelovanja, uključujući blokiranje prijenosa RNA i sprječavanje sinteze proteina. Oksitetraciklin se slabo adsorbira i metabolizira u organizmu liječenih životinja, zbog čega se često, nenamjerno, otpušta u okoliš putem izmeta ili urina. Kao rezultat toga, nepovoljno utječu na aktivnosti i funkcije mikrobiološke zajednice tla.³⁸ Ovaj farmaceutik je pronađen u površinskim, podzemnim te otpadnim vodama. U SAD-u su zabilježene koncentracije do 0,34 $\mu\text{g/L}$ u površinskim vodama, dok su u otpadnim tokovima jedne od najvećih tvornica za proizvodnju oksitetraciklina u Kini, pronađene koncentracije između 20 i 800 mg/L . Oksitetraciklin u okolišu uzrokuje selekciju mikroorganizama, zbog čega nastaju vrlo otporne bakterije i patogeni organizmi. Konvencionalne metode uklanjanja onečišćenja iz vode, kao što su degradacija i kloriranje, nisu učinkovite, zbog biološke i kemijske stabilnosti oksitetraciklina.³⁹ Molarna masa oksitetraciklina je 496,469 g/mol , a topljivost u vodi 313 mg/L pri 25 °C. Kemijska struktura oksitetraciklina je prikazana na slici 7.⁴⁰

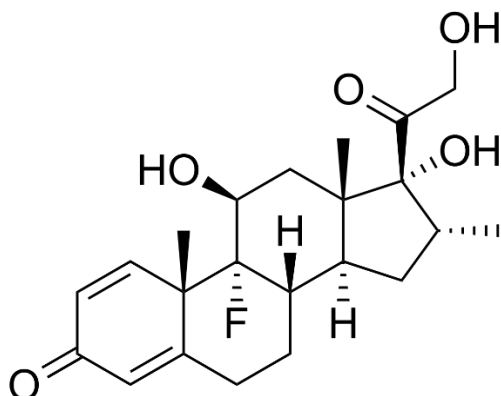


Slika 7. Kemijska struktura oksitetraciklina⁴¹

2.3.3. Deksametazon

Deksametazon ($C_{22}H_{29}FO_5$) je sintetski kortikosteroidni hormon koji ima protuupalno djelovanje. Najčešće se koristi u obliku deksametazon natrijev fosfat, pri liječenju ljudi i životinja. Deksametazon dolazi u obliku bijelog praha, bez boje i mirisa. Molarna masa deksametazona je 392,467 g/mol , a topljivost u vodi 89 mg/L pri 25 °C.⁴² Koristi se za liječenje širokog spektra bolesti uključujući autoimune bolesti, alergije, upale, astmu i sl.⁴³ Kao i brojni drugi farmaceutici, deksametazon često dospijeva u okoliš, kao rezultat ne efikasnog pročišćavanja otpadnih voda farmaceutske industrije, ali i medicinskih ustanova. Zbog bitnog

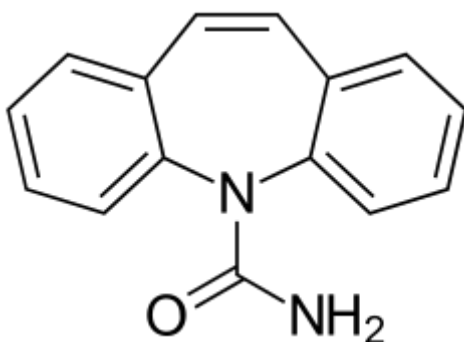
porasta u uporabi, u Kini je zabilježena koncentracija do 1050,90 ng/L otpadne vode, prilikom analize u postrojenju za obradu otpadne vode.⁴⁴



Slika 8. Kemijska struktura deksametazona⁴⁵

2.3.4. Karbamazepin

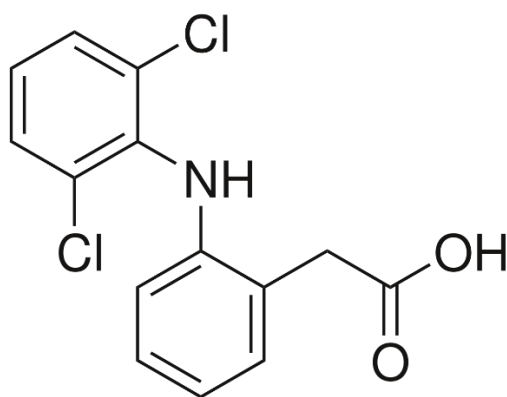
Karbamazepin ($C_{15}H_{12}N_2O$) je farmaceutik koji se koristi za liječenje epileptičnih napadaja, za ublažavanje neuralgije te za cijeli niz mentalnih poremećaja. Molarna masa karbamazepina iznosi 236,27 g/mol, a topljivost u vodi 17,7 mg/L. Prilikom konzumacije karbamazepina, tek se 72 % lijeka apsorbira u organizmu, dok 28 % ostaje nepromijenjeno te se ispušta u okoliš.⁴⁶ Prema istraživanjima Y. Zhang i suradnika⁴⁶, godišnja potrošnja karbamazepina 1999. godine u Njemačkoj, je iznosila 87 tona. Samo tri godine nakon, u Berlinu je zabilježena koncentracija do 1075 ng/L karbamazepina u ispitivanim površinskim vodama, te između 210-610 ng/L u podzemnim vodama.⁴⁷



Slika 9. Kemijska struktura karbamazepina⁴⁸

2.3.5. Diklofenak

Diklofenak ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$) je derivat fenilacetične kiseline, razvijen prvenstveno kao antireumatik, početkom 70-ih godina.⁴⁹ Ubraja se u grupu ne steroidnih, protu-upalni lijekova (engl. *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug*, NSAID). Na tržištu se najčešće može pronaći u obliku Voltaren tableta ili gela, a koristi se za liječenje artritisa, reume, dismenoreje te niza drugih stanja. Molarna masa diklofenaka iznosi 296,16 g/mol, a topljivost u vodi 23,7 mg/L pri 25 °C. 2007. godine je prodano 877 tona diklofenaka u 76 velikih zemalja, za koje se smatra da zauzimaju 96 % globalnog farmaceutskog tržišta. S obzirom na široku upotrebu, diklofenak se često nalazi u vodenom okolišu. Najveća koncentracija diklofenaka (1030 ng/L) u površinskim vodama zabilježena je u Berlinu, 2002. godine, iako su uobičajne vrijednosti u većini slučajeva ispod 100 ng/L. Istraživanjem je utvrđeno da diklofenak ima visok faktor zadržavanja ($R_f = 2,0-2,6$), što ukazuje da ima slabu pokretljivost u podzemnoj vodi. Iako je u vodoopskrbnom području postrojenja za pitku vodu u Berlinu zabilježena koncentracija diklofenaka do 380 ng/L, koncentracije diklofenaka u podzemnoj vodi su inače niske ili ispod granica detekcije.⁴⁶ Kemijska struktura diklofenaka prikazana je na slici 10.



Slika 10. Kemijska struktura diklofenaka⁵⁰

2.4. Napredni oksidacijski procesi

U posljednje vrijeme zabilježena je poprilično brza evolucija istraživačkih aktivnosti čija je tematika posvećena isključivo zaštiti okoliša. Jedan od razloga je zabrinutost po pitanju minimalizacije utjecaja ispuštanja otpadnih voda u okolišu. Fizikalno-kemijski i biološki procesi, koji se i danas koriste za obradu otpadnih voda, dosegli su takozvanu razvojnu zrelost, stoga su otvorena vrata razvoju novih tehnologija, čija je zadaća zadovoljiti ograničenja utvrđena propisima o zaštiti okoliša. Ove nove tehnologije su pogotovo bitne za obradu industrijskih otpadnih voda, s obzirom da mikroorganizmi prilikom biološke obrade, ne mogu efikasno djelovati na kompleksne molekule antropogenog porijekla. Zbog toga je uništavanje toksičnih onečišćujućih tvari kao i onih jednostavnih bioloških neprihvatljivih spojeva u vodi pronađeno u obliku novih, nebioloških tehnologija.^{51,52,53} Napredni oksidacijski procesi (engl. *Advanced oxidation processes*, AOP) su procesi u kojima pod utjecajem kemijske, električne ili energije zračenja nastaju vrlo reaktivne čestice, u količini koja je dovoljna da oksidiraju većinu kompleksnih spojeva prisutnih u otpadnoj vodi u uvjetima atmosferskog tlaka i temperature. Temeljna prednost ovakvih procesa u odnosu na ostale procese obrade vode, je brza i izrazito destruktivna priroda koja rezultira djelomičnom ili potpunom mineralizacijom organskih onečišćivala, do ugljikovog dioksida i vode ili barem njihova transformacija u manje opasne spojeve, uz minimalno nastajanje sekundarnog otpada.^{1,4,52} Ovisno o načinu stvaranja radikala, napredni oksidacijski procesi se najčešće dijele na fotokemijske, kemijske, fotokatalitičke, mehaničke i električne procese.⁴ Fotokemijski procesi se dijele na:

- UV/H₂O₂
- UV/S₂O₈²⁻
- UV/O₃
- Foto-fenton procesi
- Heterogena fotokataliza

Učinkovitost različitih naprednih oksidacijskih procesa ovisi o brzini stvaranja slobodnih radikala i vremenu kontakta između radikala i organskih spojeva.^{4,54} U Tablici 3. prikazana su najčešće korištena oksidacijska sredstva zajedno sa njihovim redoks potencijalima s obzirom na normalnu vodikovu elektrodu:

Tablica 3. Redoks potencijali različitih oksidansa.^{55,56}

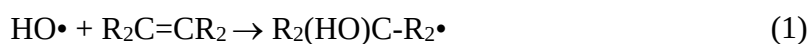
Oksidacijsko sredstvo	Reakcija redukcije	E° (V, 25 °C)
F ₂	$F_2 + 2e^- \rightarrow 2F^-$	2,87
HO•	$2HO\bullet + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	2,80
SO ₄ • ⁻	$SO_4\bullet^- + e^- \rightarrow SO_4^{2-}$	2,60
O ₃	$O_3 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow O_2 + H_2O$	2,07
H ₂ O ₂	$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	1,78
HO ₂ •	$HO_2\bullet + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	1,70
Cl ₂	$Cl_2 + 2e^- \rightarrow 2Cl^-$	1,36
O ₂	$O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	1,23

Zbog korištenja skupih reaktanata kao što su H₂O₂ ili O₃ te jakih izvora energije, napredni oksidacijski procesi se smatraju velikim financijskim izazovom, zbog čega i danas ne predstavljaju ozbiljnu 'prijetnju' konvencionalnim procesima obrade.⁵⁷

2.4.1. Napredne oksidacijske tehnike temeljene na hidroksilnom radikalu

Napredne oksidacijske tehnike se temelje na fizikalno-kemijskim procesima kojima je cilj proizvesti duboke promjene u strukturi kemijskih vrsta. Ovaj koncept su u samim počecima utvrdili Glaze i suradnici^{58,59}, koji su definirali napredne oksidacijske procese kao procese koji uključuju generiranje i upotrebu vrlo moćnih hidroksilnih (HO•) radikala. Ove vrste mogu nastati primjenom fotokemijskih sredstava ili primjenom drugih oblika energije, te su pokazale visoku učinkovitost za oksidaciju organskih tvari.⁵⁶ HO• radikali su iznimno reaktivne vrste, imaju vrlo visok redoks potencijal ($E^\circ = 2,80 \text{ V}$) te vrše neselektivnu oksidaciju organskih molekula, pri čemu se konstante brzine reakcije nalaze u opsegu od 10^{-6} do $10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.^{60,61} Organsko onečišćenje napadaju primjenom četiri glavna mehanizma^{62,63}:

1. Adicija radikala



2. Apstrakcija vodika



3. Prijelaz elektrona



4. Kombinacija radikala

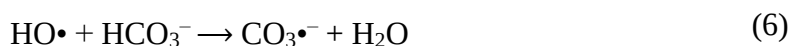


2.4.2. Kombinirana oksidacija uz UV-C i vodikov peroksid

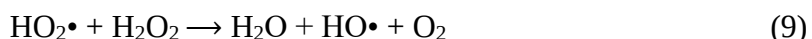
Vodikov peroksid je jako oksidacijsko sredstvo koje se najčešće koristi kao dezinficijens te za uklanjanje niskih razina onečišćenja iz otpadnih voda. Međutim, kada se koristi za tretiranje voda sa visokim koncentracijama onečišćenja, zbog niskih brzina reakcije, njegova reaktivnost je ograničena. Oksidacijska moć vodikova peroksida se znatno povećava pucanjem veza između dva kisika u molekuli vodikova peroksida, pri čemu nastaju hidroksilni radikali. Takvo pucanje veza se javlja kao rezultat ozračivanja otopine onečišćujuće tvari koja sadrži vodikov peroksid, sa UV svjetlošću valnih duljina manjih od 280 nm ^{52,56}:



Fotoliza vodikova peroksida se vrši pomoću nisko ili srednje tlačne živine lampe, prilikom čega se 50 % proizvedene energije izgubi u obliku topline ili emisije svjetlosti manje od 185 nm, koju apsorbira kvarcna kiveta.⁵⁶ Ovakav proces je puno učinkovitiji u alkalnom mediju, jer se koncentracija konjugiranog aniona vodikova peroksida povećava s pH, a ova vrsta ima veći apsorpcijski koeficijent ($\varepsilon = 240 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pri 254 nm) od vodikova peroksida ($\varepsilon = 19,6 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pri 254 nm), što rezultira većom apsorpcijom svjetla i većom koncentracijom $\text{HO}\bullet$ radikala. Međutim, potrebno je izbjegavati previsoke pH vrijednosti, jer hidrogenkarbonatni i karbonatni ioni ($\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$), čije porijeklo može biti mineralizacija ili su pak prisutni u vodi, pokazuju efekt hvatača slobodnih radikala (engl. *Scavenger effect*) jer mogu reagirati sa hidroksilnim radikalima i na taj način smanjuju njihovu koncentraciju u otopini^{56,65,65}:



Stoga je u svim naprednim oksidacijskim procesima potrebno paziti na promjene pH uslijed mineralizacije, jer dokazano utječu na brzinu reakcije. Primjenom UV-C/ H_2O_2 procesa, utvrđeno je da brzina reakcije uklanjanja ovisi o koncentraciji vodikova peroksida. U trenutku kada koncentracija vodikova peroksida postane veća od one koja se smatra optimalnom, dolazi do smanjenja brzine uslijed rekombinacije hidroksilnih radikala:



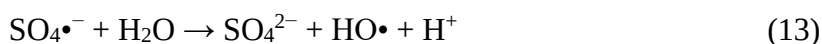
Stoga je za ovaj reakcijski sustav potrebno odrediti optimalnu dozu vodikova peroksida, pri kojoj će se postići maksimalnu uklanjanje ciljane tvari. Andreozzi i suradnici² su zaključili da optimalna doza vodikova peroksida iznosi $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, te svako daljnje dodavanje ne pokazuje učinkovitost prilikom oksidacije metola.⁶⁴

2.4.3. Reakcije temeljene na sulfatnom radikalu

Dok se tipični napredni oksidacijski procesi temelje na oksidaciji organskog onečišćenja hidroksilnim radikalima, u novije vrijeme, sve se više istražuje upotreba alternativnih oksidansa. Jedan od takvih oksidansa je peroksidisulfat ($S_2O_8^{2-}$), čiji standardni elektrodni potencijal iznosi 2,05 V. To je vrlo stabilna, visoko topljiva, relativno bezopasna te ekološki prihvatljiva sol, koja najčešće dolazi u obliku natrijeva peroksidisulfata, $Na_2S_2O_8$ ili kalijeva peroksidisulfata, $K_2S_2O_8$. Reakcije peroksidisulfata su na sobnoj temperaturi spore, pa se stoga mogu ubrzati zagrijavanjem ili zračenjem, te se time ubrzava razgradnja $S_2O_8^{2-}$ u dva $SO_4^{\bullet-}$ radikala po jednom apsorbiranom kvantu zračenja^{4,51}:



Sulfatni radikali, $SO_4^{\bullet-}$, čiji je standardni elektrodni potencijal između 2,50 i 3,10 V, smatra se jakim oksidacijskim sredstvom, koje zbog svoje snažne sposobnosti primanja elektrona, omogućuje degradaciju spojeva koji su otporni čak i na hidroksilne radikale.^{51,61} Reaktivnost sulfatnog radikala je neovisna o pH, dok se na primjer učinkovitost uklanjanja organskog onečišćenja hidroksilnim radikalima smanjuje sa povećanjem pH. Pri neutralnim pH vrijednostima, sulfatni radikali su pokazali veću reaktivnost od hidroksilnih radikala. Ovo je bitna prednost ovakvih procesa, s obzirom da omogućuje izbjegavanje korištenja dodatnih kemikalija u svrhu podešavanja pH vrijednosti. Sulfatni radikali imaju duži životni vijek ($3-4 \times 10^{-5}$ s) te vrlo visoke reakcijske brzine. Kod naprednih oksidacijskih procesa sa $SO_4^{\bullet-}$, efekt hvatača manje dolazi do izražaja nego kod hidroksilni radikala, zbog čega se stvaraju veće koncentracije $SO_4^{\bullet-}$ radikala te se poboljšava kinetika reakcije u teško onečišćenoj vodi.⁵¹ Primjenom UV-C/ $S_2O_8^{2-}$ procesa, može doći i do stvaranja hidroksilnih radikala prema sljedećim reakcijama⁶⁶:



2.5. Toksičnost

Važnost toksikoloških ispitivanja je u utvrđivanju posljedica djelovanja ispitivanih uzoraka vode na odabrani test organizam te praćenje utjecajnih čimbenika u određenom vremenskom razdoblju. Testovi toksičnosti koriste se u svrhu ocjenjivanja onečišćenja vodenih medija, s obzirom da klasične fizikalne i kemijske metode ne mogu dati potrebne informacije o mogućem štetnom utjecaju onečišćivala na žive organizme. Trenutno se u svijetu koriste razne metode za ispitivanje toksičnosti, a izbor samog test organizama ovisi o brojnim čimbenicima, od koji su najbitniji vrsta vodenog medija koji se ispituje te osjetljivosti ispitivane vrste prema toksičnoj tvari i čimbenicima koji se prate. Za određivanje granične vrijednosti tolerancije pri izlaganju odabranih test organizama utjecaju različitih toksičnih tvari, koriste se eksperimentalne ekološke metode ili biotestovi, od kojih je najčešće korišten test temeljen na mortalitetu.⁶⁷

Postoje akutni i kronični testovi toksičnosti. Cilj akutnih testova je odrediti koncentraciju ili uvjete (npr. temperatura ili pH) pri kojoj ispitivani uzorak izaziva štetni učinak na skupinu testnih organizama tijekom kratkotrajne izloženosti pri kontroliranim uvjetima. Smrtnost je obično izražena kao srednja letalna koncentracija (LC_{50}), što ubija ili imobilizira 50 % testnih organizama tijekom 24-96 sati. Cilj kroničnih testova toksičnosti je odrediti koncentraciju ispitivanog uzorka koja ima negativan utjecaj na testne organizme tijekom dugotrajne izloženosti pod kontroliranim uvjetima. Za razliku od akutnih testova toksičnosti, kronični testovi ne procjenjuju samo smrtnost, nego i posljedice koje je ispitivani uzorak imao na testni organizam, kao što su abnormalni razvoj, reprodukcija (ukupni broj mladih pojedinaca) i vitalnost potomstva, ponašanje pojedinaca, fiziološke parametre te histologiju. Kronični testovi mogu trajati od 7 do 60 dana.⁶⁸

2.5.1. Pojava bioluminiscencije

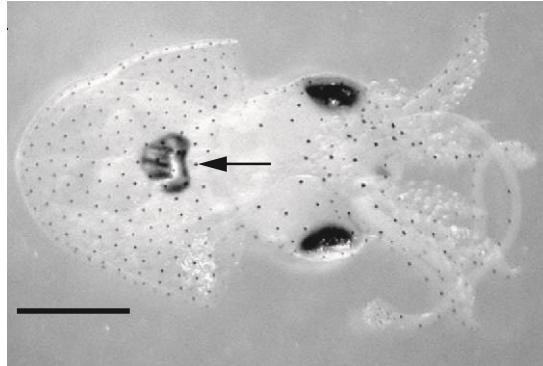
Pojaва bioluminiscencije se smatra fenomenom, koji se pojavljuje među različitim organizmima, uključujući bakterije, protozoe, spužve, školjkaše, insekte, ribe te mnoge druge vrste. Većina bioluminiscentnih organizama živi u moru, međutim postoje i mnogi kopneni bioluminiscentni organizmi, od kojih je najpoznatiji insekt kornjač. Neka od provedenih istraživanja su procijenila da je 60-80 % riba u dubokim morima i oceanima bioluminiscentno. Zajedničko svim ovim organizmima je da mogu proizvesti i emitirati svjetlost. Naime, bioluminiscencija je prirodni proces oslobađanja energije u obliku emitiranog svjetla. Organizmi proizvode kemikaliju luciferin, koja je pigment, i enzim luciferazu. Egzotermnom reakcijom oksidacije luciferina se oslobađa energija u obliku svjetlosti uz pomoć enzima luciferaze. Ovakve vrste reakcija zahtijevaju prisutnost energije i to u obliku adenozin trifosfata. Adenozin trifosfat je biokemijski način skladištenja i upotrebe energije. Bioluminiscenciju kod bakterija kontrolira set gena pod nazivom Lux operon, koji su osjetljivi na prisutnost onečišćujućih tvari, stoga se smanjenje bioluminiscencije kod organizama smatra valjanim pokazateljem prisutnosti onečišćenja u vodenom okolišu.

Bioluminiscentne bakterije se mogu podijeliti u tri grupe. *Photobacterium* i *Vibrio* koje obitavaju u morskom okolišu te *Photorhabdus*, koje pripadaju kopnenom okolišu. Bakterije formiraju simbiotski odnos s organizmom domaćina. U ovom odnosu, domaćin pruža hranjivu sredinu bakterijama, a zauzvrat koristi luminiscenciju kao zaštitu od grabežljivaca ili kao kamuflažu.⁶⁹

2.5.2. Ispitivanje toksičnosti na *Vibrio fischeri*

Za ispitivanje toksičnosti, korištena je njemačka standardna metoda DIN 38412-L-34. To je bioluminiscentna metoda, prilagođena testiranju industrijskih otpadnih voda. Metoda uključuje testove kratkog trajanja (15 min), a kao test organizmi koriste se fluorescentne bakterije.⁶⁷ Ispitivanje toksičnosti pesticida i farmaceutika provedeno je bakterijom *Vibrio fischeri*. *Vibrio fischeri* su gram negativne bakterije koje se u morskom okolišu mogu naći samostalne ili u simbiozi sa eukariotskim domaćinom. Određeni bioluminiscentni sojevi *Vibrio fischeri* stvaraju simbiotske odnose s morskim lignjama (slika 11.) i ribama. Proizvodnja svjetlosti bakterije *Vibrio fischeri*, izravno je proporcionalna metaboličkoj aktivnosti bakterijske populacije, a svaka

inhibicija enzimske aktivnosti uzrokuje odgovarajuće smanjenje bioluminiscencije. Stoga će izlaganje ovih bakterija toksičnim tvarima uzrokovati pad luminiscencije koji je onda proporcionalan s toksičnošću ispitivane tvari.⁷⁰



Slika 11. Mikroskopska slika mlade lignje. Strelica prikazuje organ, veličine 1 mm, u kojem su smješteni *Vibrio fischeri*.⁷¹

2.6. Biorazgradivost

U zadnjih nekoliko desetljeća, propisi o kakvoći vode postaju stroži zbog sve većeg društvenog interesa za okoliš. Područje koje pogotovo izaziva zanimanje i zabrinutost su otpadne vode koje sadrže topljive organske spojeve koji su toksični ili biološki nerazgradivi.⁷²

Jedan od najvažnijih procesa za uklanjanje onečišćenja iz okoliša je biorazgradivost koja se može definirati kao biološki katalizirana redukcija kompleksne kemikalije. Biorazgradnjom se najčešće postiže kompletna konverzija kompleksnih molekula do anorganskih produkata, odnosno mineralizacija. Biorazgradivost onečišćenja najčešće ovisi o tri glavna faktora: mikroorganizmima koji imaju sposobnost razgradnje specifičnih kemijskih struktura, okolišnim uvjetima koji dopuštaju rast mikroorganizama i upotrebu njihovih razgradnih enzima te fizički kontakt između onečišćivala i mikroorganizma. U procesu mineralizacije onečišćenja u okolišu, sudjeluju *Archaeobacteria*, prokarioti i eukarioti (gljivice, alge, kvasci i protozoa). Ovi organizmi vrlo lako razlažu i mineraliziraju molekule prirodnog porijekla, međutim kod prisutnosti ksenobiotika u okolišu, razgradnja postaje otežana.⁷³

Najsuvremeniji testovi za određivanje biorazgradivosti onečišćujućih tvari temelje se upravo na korištenju bakterija i gljivica. Prilikom izlaganja onečišćenju, ove vrste pokazuju iznimnu osjetljivost na svaku promjenu okolišnih parametara (temperatura, pH, salinitet, koncentracija kisika, redoks potencijal, prisutnost toksičnih komponenti). Stoga biorazgradivost onečišćenja bitno ovisi o okolišu u kojem se onečišćenje nalazi.⁷⁴

U svrhu određivanja biorazgradivosti ispitivanih pesticida i farmaceutika, u ovom radu su analizirane kemijska potrošnja kisika, KPK i biokemijska potrošnja kisika, BPK. Poznato je da je BPK₅ standardni test za određivanje količine kisika koju mikroorganizmi troše prilikom oksidacije organske tvari u vremenu od 5 dana, a KPK je standardni test za određivanje potrošnje kisika korištenjem jakog oksidansa, tijekom razgradnje organske i anorganske tvari u vremenu od 90 do 180 minuta. Stoga omjer BPK₅/KPK služi kao dobar pokazatelj biorazgradivosti otpadnih voda, jer daje uvid u udio organskih tvari prisutnih u otpadnoj vodi, koja je biološki razgradljiva pod aerobnim uvjetima tijekom predodređenog vremenskog perioda. Otpadne vode čiji je BPK₅/KPK omjer $\geq 0,4$ se smatraju biorazgradivim, dok se otpadne vode čiji je BPK₅/KPK omjer između 0,2 i 0,3 smatraju djelomično biorazgradivima.^{72,75}

2.6.1. Kemijska potrošnja kisika

Kemijska potrošnja kisika (KPK) se definira kao količina specifičnog oksidansa koja reagira sa uzorkom pri kontroliranim uvjetima. Jaki kemijski oksidansi se u kiseloj otopini zagrijava s ciljem oksidacije organskog ugljika na ugljikov dioksid i vodu. Količina potrošenog oksidansa se izražava kao ekvivalent kisika. Rezultati KPK testova se, za isti uzorak, mogu koristiti za procjenu BPK, s obzirom da postoji empirijska odnos između pokazatelja (KPK, BPK i TOC). Kemijska potrošnja kisika se već duže vrijeme koristi kao pokazatelj onečišćenja vode. Prednost ovakvih testova je da toksičnost ispitivanih uzoraka ne utječe na oksidanse te kratko vrijeme analize (90-180 min), zbog čega se ostvaruje brža ocjena kakvoće vode i kontrola samog procesa.⁷⁶

Prema pravilniku o izmjenama i dopunama pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 3/2016), granične vrijednosti emisija za pokazatelje: KPK = 125 mg O₂/L.⁷⁷

2.6.2. Biokemijska potrošnja kisika

Biokemijska potrošnja kisika (BPK) je mjera količine kisika, izražena u mg O₂/L ili ppm, koju mikroorganizmi uzimaju iz vode, kada oksidiraju organsku tvar. Proteini, ugljikohidrati (celuloza, škrob, šećeri), ugljikovodici i drugi materijali koji sadrže organsku tvar, u vodeni okoliš dospijevaju iz prirodnih izvora ili kroz onečišćenje. Mikroorganizmi se u vodi mogu razmnožavati samo kada su organske tvari dostupne kao hrana i kada je kisik dostupan za oksidaciju. Okoprilike 1/3 hrane koju bakterije konzumiraju se pretvori u stanični materijal, dok 2/3 oksidiraju u ugljikov dioksid i vodu biokemijskim djelovanjem bakterija koristeći kisik otopljen u vodi. Količina kisika koju bakterije potroše se računa tako da se količina kisika koja ostane nakon inkubacije od 5 dana usporedi sa količinom kisika koja je bila prisutna na početku (nulti dan).

Količina kisika otopljenog u vodi na sobnoj temperaturi iznosi 8 mg/L, pri zamrzavanju se povećava do 14,6 mg/L. Također, potrošnja kisika se povećava pri visokim barometarskim tlakovima dok je na točki vrenja vode, topljivost kisika nula. Potrebno je petodnevno razdoblje za određivanje BPK₅ parametra. Biokemijska potrošnja kisika se već duže vrijeme koristi kao pokazatelj onečišćenja vode. Ako otpadna voda s visokom vrijednosti BPK dospije u vodeni okoliš, bakterije iz rijeke će oksidirati organsku tvar i tako potrošiti kisik brže nego što se kisik

otapa iz zraka, te na će na taj način ribe i ostali vodeni organizmi umrijeti zbog nedostatka kisika.⁷⁸

Prema pravilniku o izmjenama i dopunama pravilnika o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 3/2016), granične vrijednosti emisija za pokazatelje: $BPK_5 = 25 \text{ mg O}_2/\text{L}$.⁷⁷

3. Eksperimentalni dio

3.1. Pribor i kemikalije

Za izvedu eksperimenta korišteno je standardno laboratorijsko posuđe te reaktor, koji se specifično koristi za izvedbu naprednih oksidacijskih procesa, zajedno sa magnetnom miješalicom i UV lampom.

Kemikalije korištene za pripremu otopina farmaceutika i pesticida su:

- ultra čista voda
- alaklor, ALC, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- diuron, DIU, 99,6 %, Sigma-Aldrich
- klorfenvinfos, CFP, 97,1 %, Sigma-Aldrich
- izoproturon, IPT, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- eritromicin, ERM, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- azitromicin, AZT, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- oksitettraciklin, OXY, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- deksametazon, DXT, 99,8 %, Sigma-Aldrich
- karbamazepin, CBZ, 99,6 %, Sigma-Aldrich
- diklofenak, DCF, 99,6 %, Sigma-Aldrich

Za podešavanje uvjeta u ispitivanim sustavima koristili su se:

- natrijev hidroksid, NaOH, Kemika, 98%
- otopina sumporne kiseline, H₂SO₄, Kemika, 96%
- otopina natrijeva klorida, NaCl, Kemika, pa.a.
- vodikov peroksid, Kemika, w(H₂O₂)=30,0%
- natrijev persulfat, Na₂S₂O₈

Kemikalije koje su korištene za određivanje toksičnosti i biorazgradivosti:

- Bio Fix Lumi Reconstitution sol
- Bio Fix Lumi Medium for freeze-dried luminous bacteria

3.2. Instrumenti

- BioFix Lumi-10, Luminometar, Macherey-Nagel
- UV/VIS spektrofotometar, Perkin Elmer Lambda EZ 201
- DR 2800 spectrophotometer, Hach Lange
- Prenosivi pH metar, Handylab pH/LF, Schott Instruments GmbH
- HPLC sustav Shimadzu s UV/DAD detektorom
- HPLC sustav Shimadzu s UV/DAD i MS detektorom

3.3. Provedba eksperimenta

3.3.1. Priprema radnih otopina

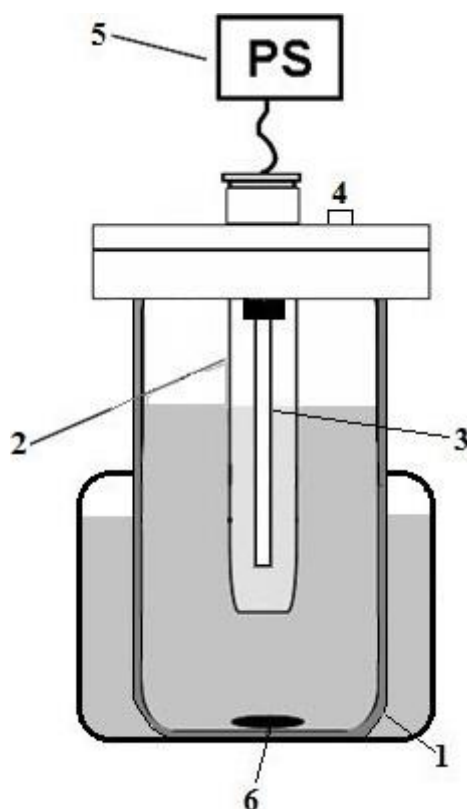
Eksperimenti su provedeni korištenjem sintetskih otopina. Otopine su pripravljene tako da su se zadani pesticidi i farmaceutici prvo odvagali na preciznoj analitičkoj vagi, zatim je ta odvaga kvantitativno prenijeta u staklene čaše. U čaše s uzorkom je zatim u više navrata dodavana destilirana voda, koja se presipala u odmjerenu tikvicu volumena 1000 ml, kako bi se osiguralo da se cijeli uzorak prenese. U tikvicu je zatim nadoliveno destilirane vode do meniskusa uz povremeno miješanje. Pripravljeno je 6 otopina farmaceutika te 4 otopina pesticida. U tablici 4. su prikazane odvagane mase korištenih pesticida i farmaceutika, te koncentracije prioriternih onečišćivala u pripremljenim otopinama.

Tablica 4. Odvage i koncentracije pripremljenih otopina

Prioritetno onečišćivalo	Odvagana masa / g	c (PO) / mM
ALC	27,0	0,1
AZT	74,9	0,1
CBZ	12,8	0,05
CFP	35,9	0,1
DCF	29,6	0,1
DIU	11,7	0,05
DXT	38,1	0,1
ERM	73,4	0,1
IPT	20,6	0,1
OXY	46,0	0,1

3.3.2. Priprema aparature

Par minuta prije provedbe eksperimenta bilo je potrebno upaliti UV lampu, kako bi se zagrijala na odgovarajuću temperaturu. Zatim je menzurom odmjereno 80 mL pripremljenih otopina pesticida ili farmaceutika, koje su prenesene u čašu od 100 ml. Čaša je zatim postavljena na magnetnu miješalicu, uz dodavanje zadane mase ili volumena oksidacijskog sredstva. Korištenjem pH elektrode podešavana je pH vrijednost otopine. Sadržaj čaše je zatim prenesen u reaktor (slika 12.), čiji ukupni volumen iznosi 100 ml, koji se nalazio na magnetnoj miješalici. Reaktor je nakon toga zatvoren poklopcem na kojem se nalazila kvarcna kiveta, u koju je postavljena zagrijana UV lampula.



Slika 12. Shema reaktora korištenog za napredne oksidacijske procese: (1) stakleni reaktor, (2) kvarcna kiveta, (3) UV lampula, (4) otvor za uzorkovanje, (5) izvor napajanja, (6) magnetska miješalica

3.3.3. Provođenje eksperimenta

Nakon što je aparatura složena i otopine pripremljene, zagrijana UV lampa je stavljena u kvarcnu kivetu što naznačava početak reakcije. Kada je UV lampa postavljena u kivetu, počelo se mjeriti zadano vrijeme. Nakon što je zadano vrijeme prošlo, UV lampa je izvađena iz kivete, a uzorak je prenesen u prethodno označenu čašu. Čistom kapaljkom je uzet mali dio uzorka i prenijet u vijalu. Uzorci iz vijale su analizirani HPLC-om, korištenjem prethodno razvijene metode specifično razvijene za svaku pojedinu tvar. Zatim je u bočice preneseno po 15 ml uzorka za ispitivanje biorazgradivosti i toksičnosti. U obje bočice je pH vrijednost podešena na 7, a u bočicu za određivanje toksičnosti je dodano 300 mg 2 % NaCl. Eksperimentalni dio se sastojao od tri dijela:

1. Prvi dio eksperimenta je uključivao proces razgradnje pomoću UV lampe, uz dodavanje odgovarajućeg volumena vodikova peroksida (H_2O_2), podešavanje pH otopine s vremenom reakcija razgradnje prioriternih onečišćivala koje je specifično za svaki ispitivani spoj (tablica 3.).
2. Drugi dio eksperimenta je uključivao proces razgradnje pomoću UV lampe, uz dodavanje odgovarajuće mase persulfata ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$), podešavanje pH otopine s vremenom reakcija razgradnje prioriternih onečišćivala koje je specifično za svaki ispitivani spoj (tablica 3.).
3. Treći dio eksperimenta je uključivao određivanje toksičnosti i biorazgradivosti (3.3.4. i 3.3.5.)

U tablici 5. prikazane su vrijednosti volumena, mase i koncentracije oksidacijskih sredstava te vremena poluraspada prioriternih onečišćivala:

Tablica 5. Volumen, masa i koncentracija oksidacijskih sredstava, te vrijeme poluraspada prioriternih onečišćivala

Prioritetno onečišćivalo	$c(\text{H}_2\text{O}_2)$ / mM	$V(\text{H}_2\text{O}_2)$ / μl	t_{vrijeme} poluraspada / s	$c(\text{S}_2\text{O}_8^{2-})$ / mM	$m(\text{S}_2\text{O}_8^{2-})$ / mg	t_{vrijeme} poluraspada / s
ALC	20,0	165,0	15,5	19,2	364,4	4,2
AZT	20,0	165,0	9,0	13,2	250,0	4,4
CBZ	9,9	82,0	18,5	10,0	189,5	6,2
CFP	20,0	165,0	23,0	20,0	379,2	3,8
DCF	20,0	165,0	15,5	20,0	380,0	4,2
DIU	10,0	82,4	14,5	10,0	189,7	4,8
DXT	5,2	42,6	7,0	20,0	379,4	4,9
ERM	20,0	165,0	8,6	20,0	380,0	2,8
IPT	20,0	165,0	23,5	20,0	379,9	7,6
OXY	20,0	165,0	7,5	15,3	290,5	4,1

3.3.4. Određivanje toksičnosti bakterijama *Vibrio fischeri*

U svrhu određivanja toksičnosti prioriternih onečišćivala, u ovom je radu korištena liofilizirana luminiscentna bakterija *Vibrio fischeri*. S obzirom da su ovakve bakterije vrlo osjetljive na okolišne uvjete, nakon provedenog eksperimenta, u 15 ml uzorka odvojenog za određivanje toksičnosti, podešena je pH vrijednosti ispitivanih otopina na optimalne uvjete (pH: 6,8-7,2) te je dodano 300 mg 2 % NaCl. Uzorci su zatim termostatirani na 15 °C. Priprema bakterija uključuje korištenje 1 ml otopine 'Bio Fix Lumi Reconstitution sol' koja se dodaje u bočicu koja zadržava bakteriju *Vibrio fischeri*. U bočicu se dodaje i 50 ml 'Bio Fix Lumi Medium for freeze dried luminous bacteria'. Sadržaj bočice je zatim prenesen u čašu od 100 ml, u kojoj je stajao 15 minuta. Do tada je pripremljena referentna kiveta, odnosno slijepa proba, koja je sadržavala bakterijsku suspenziju te 2 % NaCl.

Inhibicija bioluminiscencije izmjerena je na uređaju Lumistox 300 (Dr. Lange GmbH, Njemačka) nakon inkubacije od 15 min prema standardnoj metodi EN ISO 11348-3. Mjerenje

je provedeno tako da su se u kivetu za ispitivanje dodavala različita razrjeđenja ispitivanih uzoraka te je izmjereno smanjenje luminiscencije bakterija. Učinak inhibicije izražava se s $IC_{50\%}$ vrijednosti (engl. *half-maximal inhibitory concentration*) koja se preračunava u jedinicu toksičnosti (engl. *toxicity unit*, TU) prema izrazu: $TU = (100/IC_{50\%})$.^{79,80}

3.3.5. Određivanje biorazgradivosti (KPK i BPK)

KPK i BPK_5 su izmjereni prema standardnim metodama za ispitivanje pitkih i otpadnih voda (APHA, 2012).

Kemijska potrošnja kisika (KPK) određivala se korištenjem seta reagensa LCK 414 COD proizvođača Hach Lange, UK, prema normi HRN ISO 15705:2003. Prije same analize, zagrijan je termostat na 150 °C. Unaprijed pripravljene bočice s uzorcima pesticida i farmaceutika, čiji je pH podešen na optimalne uvjete (pH: 6,8-7,2) su izvađene iz termostata, te je 2 ml iz uzorka odpipetirano u testne kivete. Kivete su zatim dobro promućkane te stavljene u termostat gdje su ostavljene 2 sata. Kemijska potrošnja kisika je zatim određena korištenjem spektrofotometra marke DR 2800, Hach Lange (slika 13.).

Biokemijska potrošnja kisika (BPK) određivala se korištenjem seta reagensa LCK 554 BOD proizvođača Hach Lange, UK, prema normi HRN EN 1899-1:2004. Unaprijed pripravljene bočice s uzorcima pesticida i farmaceutika, čiji je pH podešen na optimalne uvjete (pH: 6,8-7,2) su izvađene iz termostata, te aerirane. Unaprijed pripravljena inokulacijska otopina je dobro promućkana, kako bi se osigurala ravnomjerna raspoređenost kulture, zatim je 2 ml te otopine otpipetirano u čašu u koju je nadoliveno 18 ml destilirane vode. Prvi dio analize se sastojao od ubacivanja tableta, koje su se nalazile u čepu kivete, u samu kivetu, te nadolijevanjem ispitivanog uzorka da meniskus bude vani. Drugi dio analize je uključivao pipetiranje 500 µL razrijeđene inokulacijske otopine u kivetu te nadolijevanjem uzorka do vrha kivete. Biokemijska potrošnja kisika je određena prvog i 5 dana, korištenjem spektrofotometra marke DR 2800, Hach Lange (slika 13.).



Slika 13. Spektrofotometra marke DR 2800, Hach Lange

3.3.6. HPLC metoda

Svaki spoj zahtjeva posebnu metodu radi različitih fizikalno-kemijskih svojstava. Na principu pokušaja i pogreške razvijene su metode za analizu, sve dok nisu dobiveni zadovoljavajući parametri analize (dovoljno kratko vrijeme analize). Za dobivanje zadovoljavajućeg kromatograma bilo je potrebno izabrati odgovarajuću kolonu s obzirom na prirodu punila, veličinu čestica te duljinu. Mobilnu fazu je bilo potrebno pravilno izabrati, tj. pravilan omjer organske i vodene faze kako bi razdvajanje tvari na koloni bilo učinkovito i u prihvatljivom vremenu. Kako bi se tvari uspjele što bolje razdvojiti, bilo je potrebno podesiti i brzinu protoka kroz kolonu, a temperaturu kolone konstantno održavati na 40 °C. Većina spojeva može se detektirati UV/VIS detektorima, a sami izbor detektora ovisi o prirodi tvari izuzetak su azitromicini i eritromicini za koje se koristi maseni spektrometar.



Slika 14. HPLC uređaj

4. Rezultati i rasprava

Uredba REACH⁸¹ koja je na snagu stupila 1. lipnja 2007, na zahtjev Europske unije, potiče skupljanje informacija o kemijskim tvarima u svrhu zaštite ljudskog zdravlja i okoliša, s obzirom na opasnosti koje te kemijske tvari predstavljaju. Ova uredba potiče razvoj postojećih i novih metoda za procjenu rizika opasnih kemikalija.

U skladu s ciljevima ove uredbe, cilj ovog rada je bio odrediti toksičnost i biorazgradivost različitih pesticida i farmaceutika tijekom fotooksidacijske razgradnje. Također, bilo je potrebno odrediti toksičnost i biorazgradivost čistih pesticida i farmaceutika kako bi se utvrdilo da li se toksičnost i biorazgradivost spojeva i njihovih metabolita smanjila odnosno povećala. Toksičnost je određivana korištenjem bakterije *Vibrio fischeri*. Nakon određivanja vrijednosti biokemijske potrošnje kisika nakon 5 dana, BPK₅, i kemijske potrošnje kisika, KPK, spektrofotometrijski pomoću seta reagensa, biorazgradivost je izražena kao omjer BPK₅ i KPK. U svrhu ovog rada ispitana su četiri pesticida (alaklor, diuron, izoproturon, klorfenvinfos) i šest farmaceutika (azitromicin, deksametazon, diklofenak, eritromicin, karbamazepin, oksitetraciklin).

4.1. Određivanje toksičnosti i biorazgradivosti

Učinak inhibicije izražava se s $IC_{50\%}$ vrijednosti (engl. *half-maximal inhibitory concentration*) koja se preračunava u jedinicu toksičnosti (engl. *toxicity unit*, TU) prema izrazu: $TU = (100/IC_{50\%})$.^{79,80}

U tablici 6. i 7. navedeni su dobiveni rezultati toksičnosti za čiste pesticide i farmaceutike, te za pesticide i farmaceutike i smjesu njihovih razgradnih produkata tokom fotooksidacijske razgradnje.

Tablica 6. Toksičnost pesticida izražena preko TU

Toksičnost = TU				
Pesticidi	Molekulska formula	Čisti pesticidi	UV-C/H ₂ O ₂	UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻
ALC	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	14,1	1,4	11,6
DIU	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	0,5	2,1	1,7
IPT	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	0,6	31,3	6,2
CFP	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	1,0	29,2	0,4

Tablica 7. Toksičnost farmaceutika izražena preko TU

Toksičnost = TU				
Farmaceutici	Molekulska formula	Čisti farmaceutici	UV-C/H ₂ O ₂	UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻
AZT	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	2	0,5	2,1
DXT	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	11,2	0,8	0,9
DCF	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	3,2	0,5	3,8
ERM	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	0,9	0,4	4,9
CBZ	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	2	1,5	4,8
OXY	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₁₁	73,5	3,6	1,7

Biorazgradivost se izražena kao omjer BPK₅ i KPK. Kada je $\text{BPK}_5/\text{KPK} \geq 0,5$ otpadna voda se smatra lako biorazgradivom. Kada je omjer u rasponu 0,4-0,5 otpadna voda se smatra prosječno biorazgradivom, dok se otpadne vode s omjerom BPK_5/KPK u rasponu od 0,2 do 0,4 smatraju slabo biorazgradive. Otpadna voda se smatra biološki nerazgradivom, kada je omjer BPK_5 i KPK manji od 0,2.⁸²

U tablici 8. i 9. navedeni su dobiveni rezultati biorazgradivosti za čiste pesticide i farmaceutike, te za pesticide i farmaceutike i smjesu njihovih razgradnih produkata tokom fotooksidacijske razgradnje.

Tablica 8. Biorazgradivost pesticida izražena preko BPK_5/KPK

Biorazgradivost = BPK_5/KPK				
Pesticidi	Molekulska formula	Čisti pesticidi	UV-C/H ₂ O ₂	UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻
ALC	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	0,100	0,119	0,083
DIU	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	0,202	0,054	0,104
IPT	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	0,196	0,135	0,196
CFP	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	0,169	0,145	0,211

Tablica 9. Biorazgradivost farmaceutika izražena preko BPK_5/KPK

Biorazgradivost = BPK_5/KPK				
Farmaceutici	Molekulska formula	Čisti farmaceutici	UV-C/H ₂ O ₂	UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻
AZT	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	0,037	0,041	0,030
DXT	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	0,079	0,146	0,227
DCF	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	0,063	0,140	0,025
ERM	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	0,081	0,114	0,043
CBZ	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	0,062	0,071	0,037
OXY	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₁₁	0,012	0,087	0,085

Ispitivanjem toksičnosti čistih pesticida korištenjem bakterija *Vibrio fischeri* (tablica 6.), vidljivo je da daleko najveću toksičnost pokazuje ALC (TU = 14,1), dok ostale ispitivane pesticide

(DIU, CFP, IPT) karakterizira relativno niska toksičnost. Prilikom ispitivanja biorazgradivosti čistih pesticida (tablica 8.) vidljivo je da je omjer BPK_5/KPK većine spojeva (ALC, IPT, CFP) manji od 0,2 što znači da su biološki nerazgradivi. Jedino se DIU, čiji omjer iznosi 0,202, može smatrati slabo biorazgradivim.

Diuron se smatra relativno biorazgradivim ($BPK_5/KPK = 0,202$). Biološkim procesima razgradnje diurona, mogu nastati biorazgradivi metaboliti: 3,4-dikloranilin (DCA), (3-(3,4-diklorofenil)ureu) (DCPU) i (3-(3,4-diklorofenil)-1-metilureu) (DCPMU). Diuron se smatra slabo toksičnim ($TU = 0,4$), dok istraživanja upozoravaju da 3,4-DCA može izazvati niz negativnih efekata na vodene organizme. Istraživanja su također pokazala da metaboliti diurona (DCPMU i DCPU) imaju anti-androgenske i estrogenske efekte na muške i ženske Nile tilapiae.⁸³

Primjenom fotooksidacijski procesa na DIU, također mogu nastati DCPMU i DCPU, zajedno sa još tri metabolita: D3 (3-(3,4-diklorfenil)-1-formil-1-metilurea), koji je djelomično biorazgradiv, te kao rezultat supstitucije atoma klora hidroksilnom skupinom, mogu nastati hidroksilirani fotoprodukti D1 3-(3-klor-4-hidroksifenil)-1,1-dimetilurea i D2 (3-(4-klor-3-hidroksifenil)-1,1-dimetilurea), čime biorazgradivost znatno opada. Biorazgradnjom (3-(3,4-diklorfenil)-1-formil-1-metilurea) mogu nastati dva razgradna produkta, biološki nerazgradivi dealkilirani DIU i/ili 3,4-dikloroanilin.^{84,85} Fotooksidacijom DIU-a, biorazgradivost opada. Primjenom $UV-C/S_2O_8^{2-}$ procesa pretpostavlja se da nastaje više 3,4-dikloranilina nego prilikom primjene $UV-C/H_2O_2$ procesa. Stoga je veća biorazgradivost ($BPK_5/KPK = 0,104$) smjese DIU-a i razgradnih produkata $UV-C/S_2O_8^{2-}$ procesom nego kod $UV-C/H_2O_2$ procesa ($BPK_5/KPK = 0,054$). Fotooksidacijom DIU toksičnost raste, zbog stvaranja razgradnih produkata, koji pokazuju veću toksičnost od početnog spoja. Pretpostavlja se da toksičnost primjenom $UV-C/H_2O_2$ procesa veća od toksičnosti primjenom $UV-C/S_2O_8^{2-}$ procesa, zbog stvaranja veće količine hidroksilirani fotoprodukta, koji se smatraju izrazito toksičnima.⁸⁵

ALC se smatra najtoksičnijim od svih ispitivanih pesticida ($TU=14,1$). Omjer BPK_5/KPK ALC-a iznosi 0,100. Promatrajući rezultate iz tablice 8., vidljivo je da biorazgradivost ALC-a i razgradnih produkata primjenom $UV-C/H_2O_2$ raste, što se može pripisati stvaranju dehalogeniranog ALC, čime biorazgradivost raste.⁸⁶ Nedugo nakon, može doći do stvaranje fenolne funkcionalne skupine na aromatskom prstenu, koja bitno povećava toksičnost, ali smanjuje biorazgradivost s obzirom na početni ALC. Primjenom $UV-C/S_2O_8^{2-}$ procesa, moguće je kombinirano nastajanje dehalogeniranih i oksidiranih produkata ALC, koji su biološki razgradivi i fenolnih skupina na aromatskom prstenu, zbog čega je biorazgradivost blago niža od početne.^{84,85,87} Toksičnost primjenom fotooksidacijskih procesa opada. Taj pad je posebno

vidljiv prilikom primjene procesa UV-C/H₂O₂, što se može pripisati smanjenju aromatičnosti tijekom fotooksidacijske razgradnje, koja prema istraživanju dovodi do značajnog smanjenja toksičnosti.⁸⁶

Prilikom razgradnje CFP-a UV-C/S₂O₈²⁻ procesom, može se primijetiti slično ponašanje kao i kod ALC. Na početku procesa, zbog visoke koncentracije oksidansa, pretpostavlja se da dolazi do dehalogenacije klora i raspada CFP na 2,4-diklorofenol i trietilfosfat, zbog čega biorazgradivost raste (BPK₅/KPK = 0,211). Kasnije dolazi do stvaranja 2-hidroksi-1-(2,4-diklorofenil) vinildietilfosfata, koji je bitno manje biorazgradiv, zbog čega biorazgradivost primjenom procesa UV-C/H₂O₂ (BPK₅/KPK = 0,145) opada u usporedbi s početnim CFP. Mineralizacijom dolazi do stvaranja fosforovih oksida, zbog čega može doći do porasta toksičnosti (TU = 29,2) prilikom UV-C/H₂O₂ procesa.⁸⁶

Biorazgradivost IPT-a tokom UV-C/H₂O₂ procesa ostaje ne promijenjena u usporedbi sa biorazgradivosti čistoga spoja (BPK₅/KPK = 0,196). Biorazgradivost tokom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa opada, što bi se moglo pripisati prisutstvu razgradnih produkata koji su teže biorazgradivi od početnog spoja.⁸⁸ Složenim mehanizmima koji uključuju reakcije hidroksilacije, demetilacije i deaminacije, eventualno uz sudjelovanje radikalnih međuprodukata, nastaju N-(4-izopropil-hidroksifenil)-N'-metilurea, N-(4-izopropil-fenil)-N'-dimetilurea i N-(4-izopropil-fenil)-N'-acetamid.^{89,90} Prisutstvo razgradnih produkata može uzrokovati povećanje toksičnosti (tablica 6.) s obzirom na početni spoj.

Ispitivanjem toksičnosti čistih farmaceutika korištenjem bakterija *Vibrio fischeri* (tablica 7.), vidljivo je da daleko najveću toksičnost pokazuje OXY (TU = 73,5), dok ostale ispitivane farmaceutike (AZT, ERM, DXT, DCF, CBZ) karakterizira relativno niska toksičnost. Prilikom ispitivanja biorazgradivosti čistih farmaceutika (tablica 9.) vidljivo je da je omjer BPK₅/KPK svih ispitivanih farmaceutika manji od 0,2 što znači da su biološki nerazgradivi. A obzirom da se farmaceutici proizvode za liječenje ljudi i životinja, ovakvi rezultati očekivani.

Prema istraživanju Halling-Sorensen i suradnika⁹¹, prilikom fotolize tetraciklina nastaju iznimno stabilni razgradni produkti, koje karakterizira visoka toksičnost u usporedbi s OXY. Ti razgradni produkti uključuju ahidrotetraciklin, anhidroklortetraciklin i terinolid, koji pokazuju veću biorazgradivost od početnog spoja, što odgovara rezultatima biorazgradivosti tokom UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesa (tablica 7.). Toksičnost se tokom oba procesa smanjuje u usporedbi s čistim OXY, što znači da je započela razgradnja nastalih produkata (tablica 9.).^{92,93}

AZT je makrolidni antibiotik koji se koristi za liječenje ljudi i životinja. Biorazgradnjom prilikom UV-C/H₂O₂ procesa dolazi do blagog porasta biorazgradivosti, dok toksičnost opada. Biorazgradivost blago opada primjenom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa, dok toksičnost ostaje gotovo ne promijenjena (tablica 9.). Takva mala odstupanja u biorazgradivost i toksičnosti se mogu objasniti različitim razgradnim mehanizmima AZT.⁹⁴

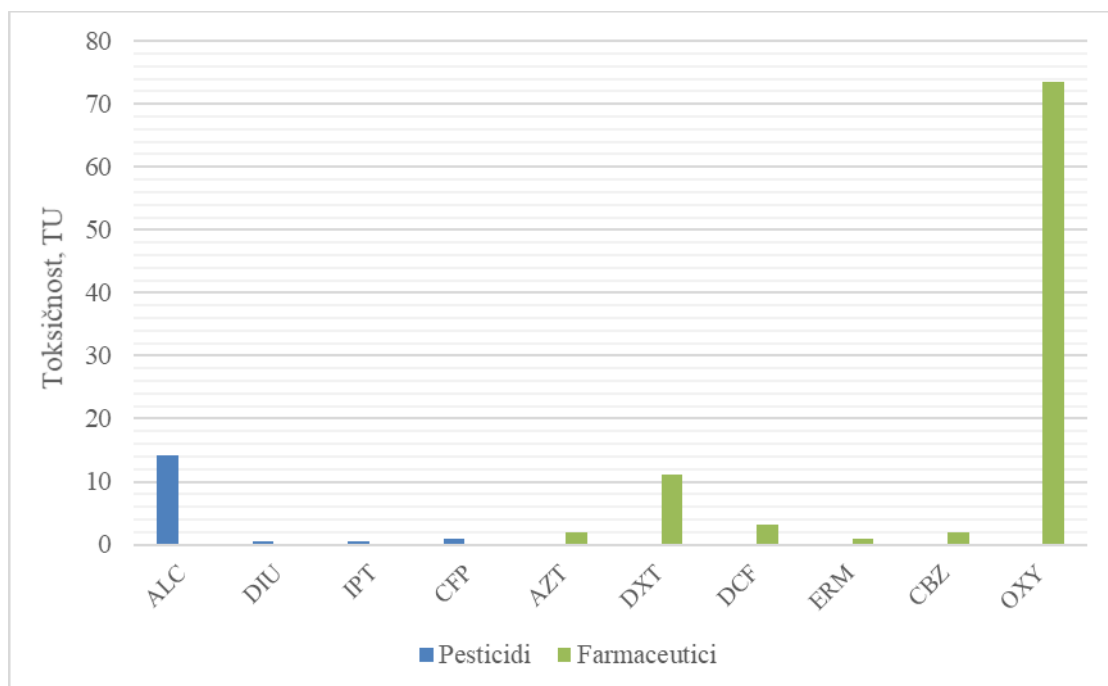
ERM, kao i AZT je makrolidni antibiotik, stoga ta dva farmaceutika dijele slične mehanizme razgradnje. Prilikom fotooksidacije, može doći do cijepanja ERM djelovanjem radikala, na slobodni šećer i ostale razgradne produkte ERM-a, koji se smatraju manje toksičnima od početnog spoja. Zbog biorazgradivosti šećera dolazi do povećanja biorazgradivosti prilikom UV-C/H₂O₂ procesa, kao i kod AZT, dok toksičnost opada. Prilikom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa dolazi do blagog smanjenja biorazgradivosti i povećanja toksičnosti (tablica 7. i 9.).^{95,96}

CBZ je antiepileptički lijek, koji se smatra visoko otpornim na biorazgradnju. Prilikom fotooksidacije CBZ nastaju dva razgradna produkta, akridon i akridin, koji su pokazali veću toksičnost. Stoga možemo pretpostaviti da je tijekom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa došlo do stvaranja razgradnih produkata, jer dolazi do porasta toksičnosti (TU=4,8), dok biorazgradivost opada (BPK₅/KPK=0,037) s obzirom na početni spoj.⁹⁷

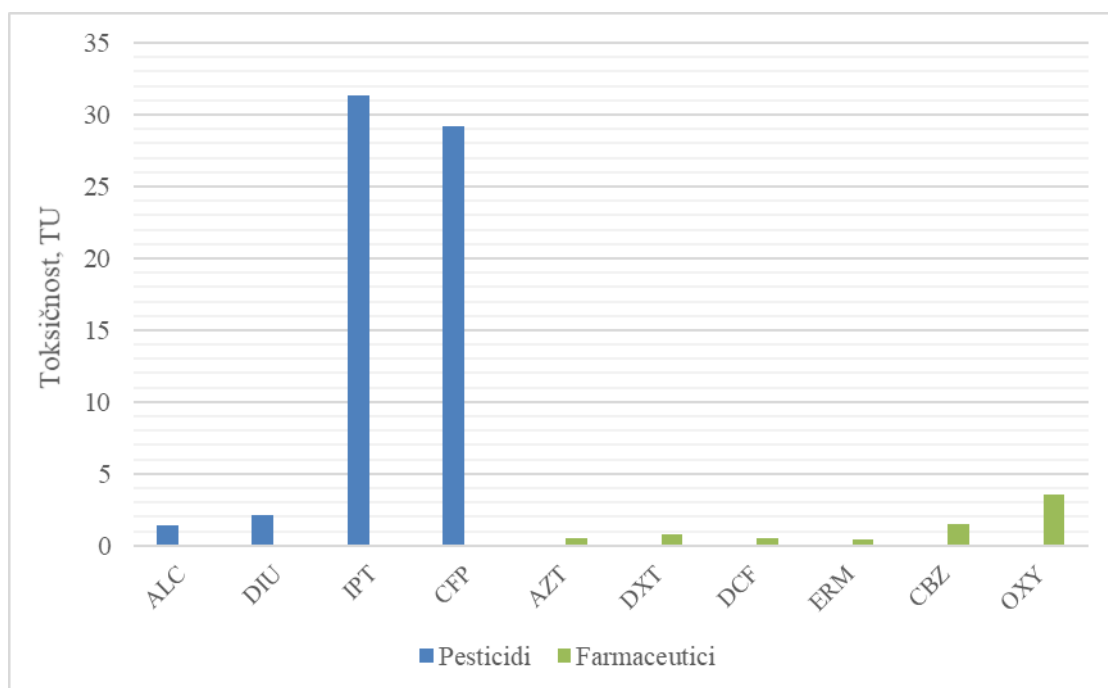
DCF je široko korišten nesteroidni protuupalni lijek koji se redovito detektira u površinskim vodama. U literaturi se navode dva razgradna mehanizma DCF, adicija hidroksilne skupine na jedan od aromatskih prstena DCF-a i dehalogenacija jednog ili oba klorova atoma. Iz tablice 7. i 9. može se vidjeti da tijekom UV-C/H₂O₂ procesa biorazgradivost raste, a toksičnost opada, što se može pripisati dehalogenaciji DCF-a, pri čemu nastaju produkti razgradnje koji su više biorazgradivi od početnog spoja. Biorazgradivost tijekom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa je nešto niža u usporedbi sa početnim DCF, što se može pripisati djelovanju razgradnih produkata nastalih u početku reakcije, koji pokazuju nešto nižu biorazgradivost, a veću toksičnost.^{98,99}

DXT je sintetički produkt glukokortikoidnog hormona. Prisutnost ovog hormona rezultira toksičnim djelovanjem na vodene organizme, što potvrđuju i rezultat s obzirom na ostale ispitivane farmaceutike (tablica 7.). Iako fotooksidacijom DXT-a mogu nastati razgradni produkti koji pokazuju veću toksičnost od početnog spoja, toksičnost se smanjuje te dolazi do povećanja biorazgradivosti primjenom UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesa (tablice 9.) vjerojatno zato što nastaju male količine razgradnih produkata.^{100,101}

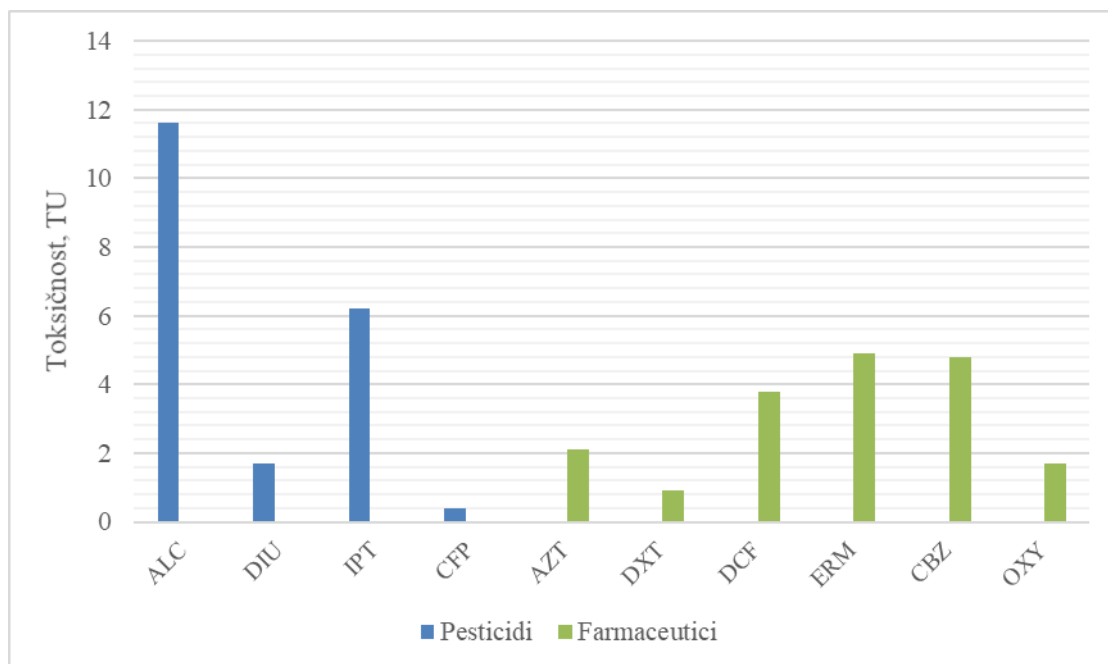
Na slikama 15., 16. i 17. prikazani su grafovi toksičnosti za čiste pesticide i farmaceutike, te za pesticide i farmaceutike i smjesu njihovih razgradnih produkata tokom fotooksidacijske razgradnje.



Slika 15. Toksičnost čistih pesticida i farmaceutika tokom fotooksidativne razgradnje izražena preko TU

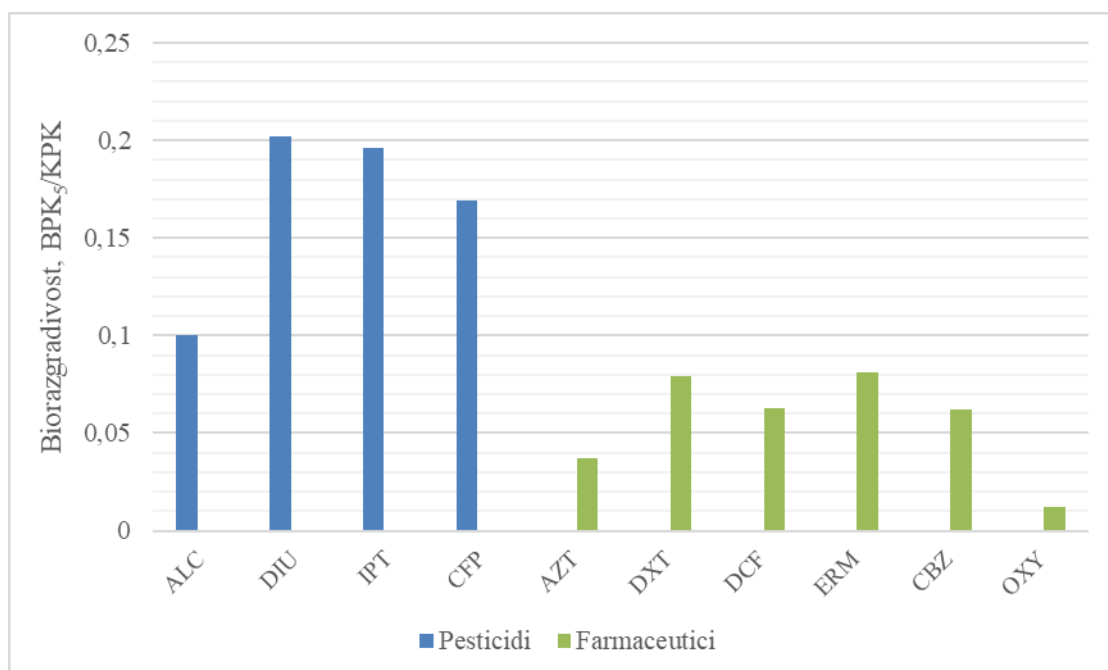


Slika 16. Toksičnost pesticida i farmaceutika tokom UV-C/H₂O₂ razgradnje izražena preko TU

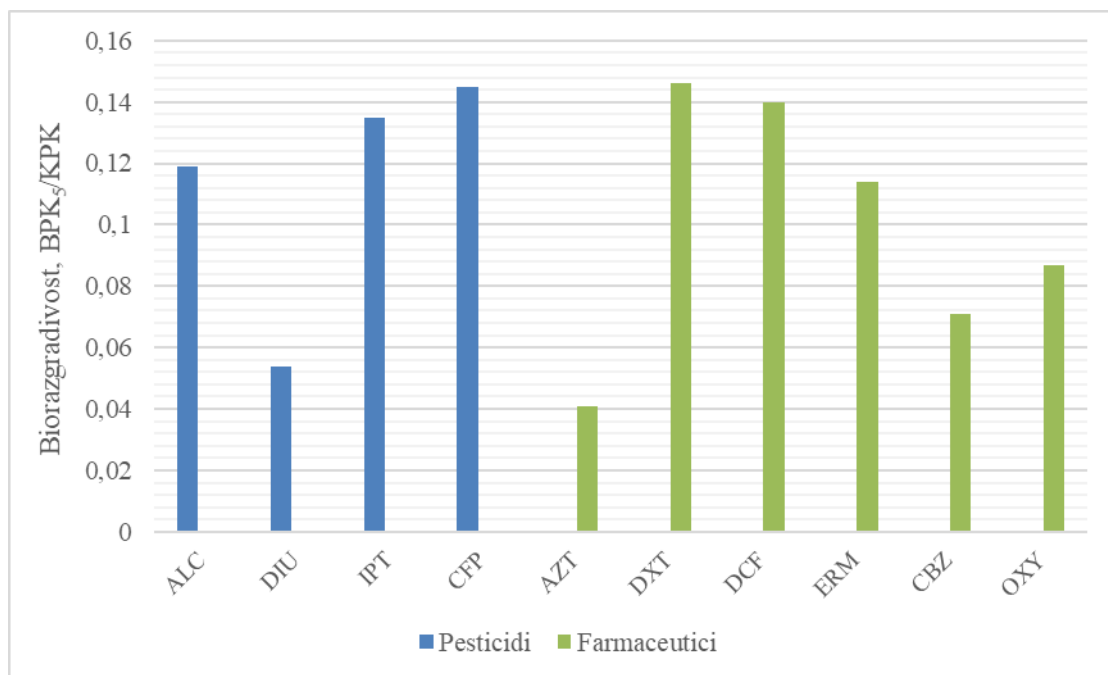


Slika 17. Toksičnost pesticida i farmaceutika tokom UV-C/S₂O₈²⁻ razgradnje izražena preko TU

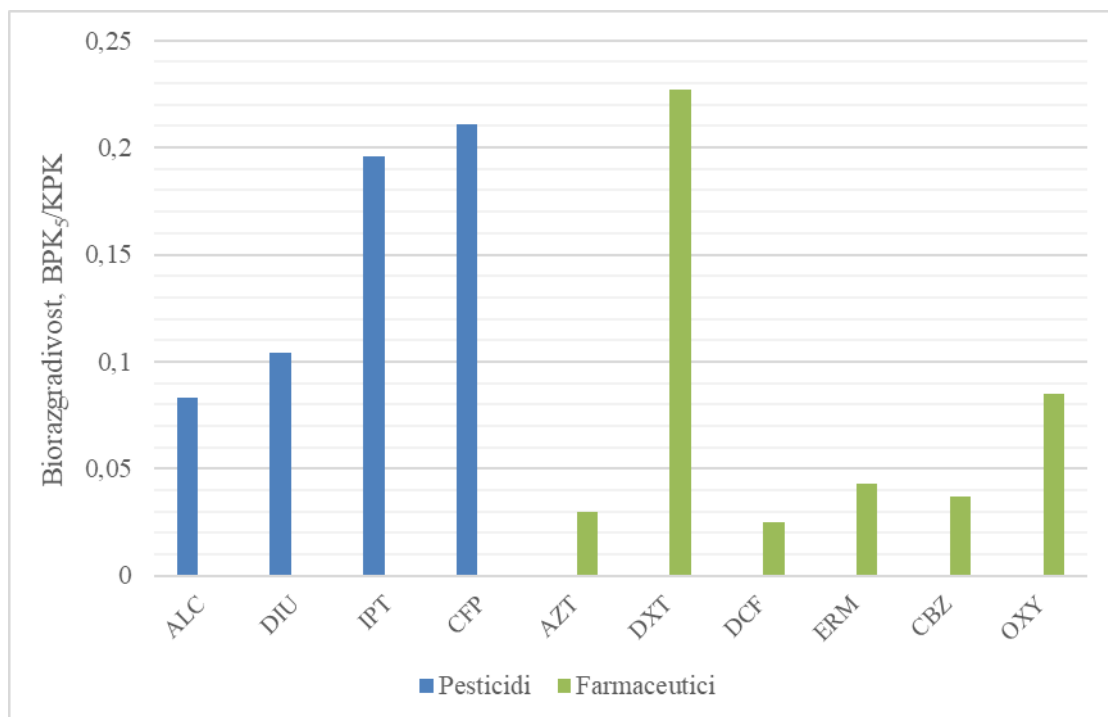
Na slikama 18., 19. i 20. prikazani su grafovi biorazgradivosti za čiste pesticide i farmaceutike, te za pesticide i farmaceutike i smjesu njihovih razgradnih produkata tokom fotooksidacijske razgradnje.



Slika 18. Biorazgradivost čistih pesticida i farmaceutika izražena preko BPK₅/KPK



Slika 19. Biorazgradivost pesticida i farmaceutika tokom UV-C/H₂O₂ razgradnje izražena preko BPK₅/KPK



Slika 20. Biorazgradivost pesticida i farmaceutika tokom UV-C/S₂O₈²⁻ razgradnje izražena preko BPK₅/KPK

Sa grafova je vidljivo da ispitivani čisti spojevi pesticida i farmaceutika, pokazuju sličnu toksičnost, uz izuzetak (ALC, DXT, OXY) (slika 15.). Fotooksidacijskom razgradnjom zabilježena je veća toksičnost pesticida od farmaceutika, vjerojatno zbog nastajanja puno

toksičnijih razgradnih produkata pesticida (slika 16. i 17.). Sa slike 18. vidljivo je da pesticide karakterizira veća biorazgradivost, s obzirom da se farmaceutici proizvode da budu što manje biorazgradivi. Tokom UV-C/H₂O₂ procesa biorazgradivost pesticida većinom opada, dok kod farmaceutika raste. Tokom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa, biorazgradivost ispitivanih farmaceutika blago opada i raste u usporedbi s početnim spojevima, dok kod pesticida u većini slučajeva opada (slika 19. i 20.).

5. Zaključak

U ovom radu je određivana toksičnost i biorazgradivost prioritetnih onečišćivala, pesticida i farmaceutika, primjenom UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ procesa. Također je ispitana toksičnost i biorazgradivost čistih prioritetnih onečišćivala. Ispitana su četiri pesticida (alaklor, diuron, izoproturon, klorfenvinfos) i šest farmaceutika (azitromicin, deksametazon, diklofenak, eritromicin, karbamazepin, oksitettraciklin).

Za određivanje toksičnosti korištena je bakterija *Vibrio fischeri*, koju karakterizira prirodna luminiscencija. Mjerila se inhibicija luminiscencije kao posljedica dodavanja ispitivanih onečišćivala.

Svi ispitivani spojevi prikazali određeni stupanj toksičnosti na bakteriju *Vibrio fischeri*, čak i nakon primjene fotooksidacijskih procesa. Najveću toksičnost je pokazao OXY (TU = 14,1), koja se smanjila na TU = 3,6 tijekom UV-C/H₂O₂ procesa. Najmanju toksičnost su pokazali AZT i ERM, koji su makrolidni spojevi. Toksičnost ovih spojeva je blago porasla tokom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa.

Biorazgradivost je izražena kao omjer biokemijske potrošnje kisika nakon 5 dana, BPK₅, i kemijske potrošnje kisika, KPK.

Gotovo sve ispitivane pesticide i farmaceutike je nemoguće razgraditi biološkim putem. Izuzetak je DIU čiji je omjer BPK₅/KPK = 0,202. Primjenom fotooksidacijskih procesa biorazgradivost DIU se smanjila, dok se primjenom UV-C/S₂O₈²⁻ procesa biorazgradivost CFP i DXT povećala.

6. Literatura

1. S. Zrenčević, Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, Hrvatske vode **96** (2016) 119-136.
2. Okvirna direktiva o vodama 2000/60/EZ, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex%3A32000L0060>, (Pristupila: 14.08.2018.).
3. Direktiva o prioritetnim tvarima u području vodene politike 2013/39/EU, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32013L0039>, (Pristupila: 14.08.2018.).
4. I. Peterenel, A. Ptiček Siročić, N. Koprivanec, Peroksodisulfatne soli kao novo fotooksidacijsko sredstvo za obradu obojenih otpadnih voda, Tekstil **61** (2012) 107-115.
5. A. M. Gorito, A. R. Riberio, C. M. R. Almeida, A. M. T. Silva, A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation*, Environmental Pollution **227** (2017) 428-443.
6. Direktiva o standardima kakvoće okoliša 2008/105/EZ, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32008L0105>, (Pristupila: 14.08.2018.).
7. N. Bujas, J. Antolić, Đ. Medić, Kontrola kemijskog onečišćenja površinskih voda u europskoj uniji, Hrvatske vode **71** (2010) 59-64.
8. N. Bujas, J. Antolić, Đ. Medić, Prijedlog europskog zakonodavstva o dopuni liste prioritetnih i prioritetnih opasnih tvari, Hrvatske vode **86** (2013) 328-332.
9. M. F. F. Bernardes, M. Pazin, L. C. Pererira, D. J. Dorta, Impact of pesticides on environmental and human health, u: A. C. Adreazza, Toxicology Studies - Cells, Drugs and Environment, London, IntechOpen (2015) 195-233.
10. Zakon o održivoj upotrebi pesticida NN 14/2014, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2014_02_14_269.html, (Pristupila: 14.08.2018.).
11. Pravilnik o uspostavi akcijskog okvira za postizanje održive uporabe pesticida NN 142/2012, https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012_12_142_3012.html, (Pristupila: 14.08.2018.).
12. Alachlor, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2078>, (Pristupila: 15.08.2018.).
13. Alachlor, <https://en.wikipedia.org/wiki/Alachlor>, (Pristupila: 15.08.2018.).
14. Substances banned in the EU market, <https://www.pan-europe.info/old/Archive/About%20pesticides/Banned%20and%20authorised.htm>, (Pristupila: 15.08.2018.).
15. Alachlor, Prevention, pesticides and toxic substances, <http://www.epa.gov/REDs>, (Pristupila: 15.08.2018.).

16. Alachlor in Drinking-water, http://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/en/alachlor.pdf?ua=1, (Pristupila: 15.08.2018.).
17. S. Giacomazzi, N. Cochet, Environmental impact of diuron transformation: a review, *Chemosphere* **56** (2004) 1021-1032.
18. Environmental fate of diuron, <https://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/diuron.pdf>, (Pristupila: 16.08.2018.).
19. Diuron, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/diuron>, (Pristupila: 16.08.2018.).
20. M. Huovinen et al., Toxicity of diuron in human cancer cells, *Toxicology in Vitro* **29** (2015) 1577-1586.
21. Diuron, <https://en.wikipedia.org/wiki/DCMU>, (Pristupila: 16.08.2018.).
22. Chlorfenvinphos, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5377791>, (Pristupila: 17.08.2018.).
23. Chlorfenvinphos, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/chlorfenvinphos3595747090611?lang=en®ion=BA>, (Pristupila: 17.08.2018.).
24. Toxicological profile for chlorfenvinphos, <https://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=930&tid=193>, (Pristupila: 17.08.2018.).
25. Isoproturon in Drinking-water, http://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/isoproturon/en/, (Pristupila: 17.08.2018.).
26. Isoproturon, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/36679>, (Pristupila: 17.08.2018.).
27. Isoproturon, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/36137?lang=en®ion=BA>, (Pristupila: 19.08.2018.).
28. World health organisation, Guidelines for Drinking-water quality Vol 1:3thed., Geneva, 2004, 390-391 str.
29. M. Periša, S. Babić, Farmaceutici u okolišu, *Kem. Ind.* **65** (2016) 471-482.
30. O. A. H. Jones, N. Voulvoulis, J. N. Lester, Human Pharmaceuticals in Wastewater Treatment Processes, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **35** (2005) 401-427.
31. S. A. Snyder, T. L. Keith, D. A. Verbrugge, E. M. Snyder, T. S. Gross, K. Kannan, J. P. Giesy, Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures, *Environmental Science & Technology* **33** (1999) 2814-2820.
32. S. A. Snyder, D. L. Villeneuve, E. M. Snyder, J. P. Giesy, Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents, *Environmental Science & Technology* **35** (2001) 3620-3625.

33. Erythromycin, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12560>, (Pristupila: 21.08.2018.).
34. M. Voigt, M. Jaeger, On the photodegradation of azithromycin, erythromycin and tylosin and their transformation products-A kinetic study, *Sustainable Chemistry and Pharmacy* (2016) 1-10.
35. Erythromycin, <https://www.indiamart.com/proddetail/erythromycin-13265419930.html>, (Pristupila: 21.08.2018.).
36. Azithromycin, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/447043>, (Pristupila: 21.08.2018.).
37. Azitromicin, <https://sh.wikipedia.org/wiki/Azitromicin>, (Pristupila: 21.08.2018.).
38. W. Chen, W. Liu, N. Pan, W. Jiao, M. Wang, Oxytetracycline on functions and structure of soil microbial community, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **13** (2013) 967-975.
39. Y. Liu, X. He, Y. Fu, D.D. Dionysiou, Degradation kinetics and mechanism of oxytetracycline by hydroxyl radical-based advanced oxidation processes, *Chemical Engineering Journal* (2015) 1-42.
40. Oxytetracycline, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54680691>, (Pristupila: 21.08.2018.).
41. Oxytetracycline, <https://sh.wikipedia.org/wiki/Oksitetraciklin>, (Pristupila: 22.08.2018.).
42. Dexamethasone, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5743>, (Pristupila: 22.08.2018.).
43. L. Zhu, Z. Yang, Q. Yang, Z. Tu, L. Ma, Z. Shi, X. Li, Degradation of dexamethasone by acclimated strain of *Pseudomonas Alcaligenes*, *Int J Clin Exp Med* **8** (2015) 10971-10978.
44. Z. Guo, A. Guo, Q. Guo, M. Rui, Y. Zhao, H. Zhang, S. Zhu, Decomposition of dexamethasone by gamma irradiation: Kinetics, degradation mechanisms and impact on algae growth, *Chemical Engineering Journal* (2016) 1-28.
45. Dexamethasone, <https://en.wikipedia.org/wiki/Dexamethasone>, (Pristupila: 22.08.2018.).
46. Y. Zhang et al., Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies, *Chemosphere* **73** (2008) 1151-1161.
47. E. Shirazi, A. Torabian, G. Nabi-Bidhendi, Carbamazepine removal from groundwater: Effectiveness of the TiO₂/UV, Nanoparticulate ZeroValent Iron, and Fenton (NZVI/H₂O₂) Processes, *Clean – Soil, Air, Water* **41** (2013) 1062-1072.
48. Carbamazepine, <https://en.wikipedia.org/wiki/Carbamazepine>, (Pristupila: 23.08.2018.).
49. S. Grazio, Diclofenac of rapid effect (diclorapid®) with better gastric tolerability, *Reumatizam* **55** (2008) 81-84.
50. Diclofenac, <https://en.wikipedia.org/wiki/Diclofenac>, (Pristupila: 28.08.2018.).

51. R. Dewil et al., New perspectives for advanced oxidation processes, *Journal of Environmental Management* **195** (2017) 93-99.
52. R. Andreozzi et al., Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, *Catalysis Today* **53** (1999) 51-59.
53. M. Klavarioti, D. Mantzavinos, D. Kassinos, Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes, *Environ. Int.* **35** (2009) 402-417.
54. S. Zrenčević, Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, *Hrvatske vode* **96** (2016) 119-136.
55. Standard electrode potentials in aqueous solution at 25 °C, <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/Tables/electpot.html> (Pristupila: 18.06.2018.).
56. M. I. Litter, Introduction to photochemical advanced oxidation processes for water treatment, *Hdb Env Chem Vol. 2, Part M* (2005) 325-366.
57. M. Petrović, J. Radjenovic, D. Barcelo, Advanced oxidation processes (AOPs) applied for wastewater and drinking water treatment. Elimination of pharmaceuticals, *The Holistic Approach to Environment* **1** (2011) 63-74.
58. W. H. Glaze, Drinking-water treatment with ozone, *Environ Sci Technol* **21** (1987) 224-230.
59. W. H. Glaze, J. W. Kang, D. H. Chapin, The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation, *Ozone Sci Technol* **9** (1987) 335-352.
60. G. V. Buxton, C. L. Greenstock, W. P. Helman, A. B. Ross, Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons hydrogen atoms and hydroxyl radicals (OH/O-) in aqueous solution, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **17** (1988) 513-886.
61. M. Cvetnić et al., Photooxidative degradation of pesticides in water; response surface modeling approach, *J. Adv. Oxid. Technol.* **20** (2017) 1-13.
62. L. M. Dorfman, G. E. Adams, Reactivity of the hydroxyl radical in aqueous solutions, U.S. Department of Commerce, 1973, str.1.
63. D. Vijeć, Uklanjanje organskih tvari iz obojenih otpadnih voda primjenom naprednih oksidacijskih procesa, *Doktorska disertacija*, 2007.
64. H. Juretić et al., Degradation of natural organic matter in water by using UV-C/H2O2 procesess, *The Holistic Approach to Environment* **5** (2015) 135-149.
65. A. M. Veselinović i sar., Ispitivanje uticaja parametara UV-C/H2O2 procesa na degradaciju huminskih kiselina, *Hem. ind.* **64** (2010) 265-273.
66. S. G. Huling, B. E. Pivetz, In-Situ chemical oxidation, United States Environmental Protection Agency, Engineering Issue, 1-58.

67. S. Korunić-Košćina, M. Mioč, V. Bobić, Ekotoksičnost kao biološki pokazatelj onečišćenja rafinerijskih otpadnih voda, Goriva i maziva **42** (2003) 153-176.
68. M. Z. Vosylienė, Review of the methods for acute and chronic toxicity assessment of single substances, effluents and industrial water, Acta Zoologica Lituanica **17** (2007) 3-15.
69. T. Gokhale, A. Wali, S. Parikh, N. Sood, Research of marine isolates in development of biosensors for environmental pollutants, Engineering Review **32** (2012) 17-22.
70. S. Parvez, C. Venkataraman, S. Mukherji, A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals, Environment International **32** (2006) 265-268.
71. A. K. Dunn, *Vibrio fischeri* Metabolism: Symbiosis and Beyond, Advances in Microbial Physiology **6** (2012) 37-68.
72. E. Chamarro et al., Use of fenton reagent to improve organic chemical biodegradability, Wat. Res. **35** (2001) 1047-1051.
73. M. H. van Agteren, S. Keuning, D. B. Janssen, Handbook on biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds, Kluwer academic publisher, 1998, Dordrecht, Nizozemska.
74. I. Oller et al., Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination - A review, Science of the Total Environment **409** (2011) 4141-4166.
75. J. Garcia Montano, N. Ruiz, I. Munoz, X. Domenech, J. A. Garcia Hortal, F. Torrades, J. Peral, Environmental assessment of different photo-Fenton approaches for commercial reactive dye removal, Journal of Hazardous Materials **138** (2006) 218-235.
76. W. Boyles, The science of chemical oxygen demand, Technical information series, Hach Company, Booklet No. 9, 1997, U.S.A.
77. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 80/13, 43/14, 27/15 i 3/16), https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_80_1681.html, (Pristupila: 03.08.2017.).
78. C. C. Hach, R. L. Klein Jr., C. R. Gibbs, Introduction to biochemical oxygen demand, Technical Information Series, Hach Company, Booklet No. 7, 1997, U.S.A.
79. B. S. Hendriks, Functional pathway pharmacology: chemical tools, pathway knowledge and mechanistic model-based interpretation of experimental data, Current Opinion in Chemical Biology **14** (2010) 489-497.
80. M. Vuković, I. Čosić, K. Kolačko, F. Brički, Kinetika biorazgradnje organskih tvari, Kem. Ind. **61** (2012) 417-425.
81. Uredba REACH, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex%3A32006R1907>, (Pristupila: 2.9.2018.)

82. P. R. Nagwekar, Removal of organic matter from wastewater by activated sludge process-Review, *International Journal of Science, Engineering and Technology Research* **3** (2014) 1260-1263.
83. A. A. Felício et al., Isolated and mixed effects of diuron and its metabolites on biotransformation enzymes and oxidative stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Ecotoxicology and Environmental Safety* **149** (2018) 248-256.
84. C. Tixiere et al., Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: synthesis, ecotoxicity, and biotransformation, *Environmental Toxicology and Chemistry* **20** (2001) 1381-1389.
85. J. L. Bonnet et al., Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the Ciliate *Tetrahymena pyriformis*, *Environmental Toxicology*, (2007) 78-91.
86. M. Hincapie et al., Solar photocatalytic degradation and detoxification of EU priority substances, *Catalysis Today* **101** (2005) 203-210.
87. Y. Souiss et al., Identification and ecotoxicity of degradation products of chloroacetamid herbicide from treatment of water, *Science of The Total Environment* (2013) 527-534.
88. N. Klammertha et al., Photo-Fenton decomposition of chlorfenvinphos: Determination of reaction pathway, *Water research* **43** (2009) 441-449.
89. M. Lapertota et al., Enhancing biodegradability of priority substances (pesticides) by solar photo-Fenton, *Water research* **40** (2006) 1086-1094.
90. H. D. Burrows et al., Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **67** (2002) 71-108.
91. B. Halling-Sørensen, G. Sengeløv, J. Tjørnelund, Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracyclineresistant bacteria, *Arch Environ Contam Toxicol* **42** (2002) 263-271.
92. J. J. Lopez-Penalver et al., Photodegradation of tetracyclines in aqueous solution by using UV and UV/H₂O₂ oxidation processes, *J Chem Technol Biotechnol* **85** (2010) 1325-1333.
93. F. Yuan et al., Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H₂O₂ process, *Journal of Hazardous Materials* **185** (2011) 1256-1263.
94. L. Tong et al., Photodegradation of azithromycin in various aqueous systems under simulated and natural solar radiation: Kinetics and identification of photoproducts, *Chemosphere* **83** (2011) 340-348.
95. R. Palmisano et al., Photo-degradation of amoxicillin, streptomycin, erythromycin and ciprofloxacin by UV and UV/TiO₂ processes. Evaluation of Toxicity Changes Using a Respirometric Biosensor, *J Environ Anal Chem* **2** (2015) 143-148.
96. Hassanzadeh et al., Mechanism for the Degradation of Erythromycin A and Erythromycin A 2'-Ethyl Succinate in Acidic Aqueous Solution, *J. Phys. Chem. A* **111** (2007) 10099-10104.

97. E. Donner et al., Ecotoxicity of carbamazepine and its UV photolysis transformation products, *Science of the Total Environment* **443** (2013) 870-876.
98. A. D. Coelho et al., Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment, *Science of the Total Environment* **407** (2009) 3572-3578.
99. H. Yua et al., Degradation of diclofenac by advanced oxidation and reduction processes: Kinetic studies, degradation pathways and toxicity assessments, *Water research* **47** (2013) 1909-1918.
100. Z. Guo, A. Guo, Q. Guo, M. Rui, Y. Zhao, H. Zhang, S. Zhu, Decomposition of Dexamethasone by gamma irradiation: Kinetics, degradation mechanisms and impact on algae growth, *Chemical Engineering Journal* (2016).
101. M. Della Greca et al., Toxicity of prednisolone dexamethasone and their photochemical derivatives on aquatic organisms, *Chemosphere* **54** (2004) 629-637.

Simboli i kratice

ALC	– alaklor
AOP	– napredni oksidacijski procesi
AZT	– azitromicin
BPK	– biokemijska potrošnja kisika
CBZ	– karbamazepin
CFP	– klorfenvinfos
DCF	– diklofenak
DIU	– diuron
DXT	– deksametazon
ERM	– eritromicin
HPLC	– tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
IPT	– izoproturon
KPK	– kemijska potrošnja kisika
OXY	– oksitetraciklin
R_f	– faktor zadržavanja
TU	– jedinica toksičnosti
E°	– elektrodni potencijal
ε	– molarni apsorpcijski koeficijent

Životopis

Ana Marija Bogdan [REDACTED] Drugu osnovnu školu upisala je 1999. godine u Širokom Brijegu, Bosna i Hercegovina, gdje svoje obrazovanje nastavlja upisom u Gimnaziju fra Dominika Mandića 2007. godine. Maturirala je s ocjenom odličan te 2011. godine upisuje preddiplomski studij Ekoinženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom preddiplomskog studija odradila je stručnu praksu na Institutu za strojarstvo u Mostaru, Bosna i Hercegovina. Završni rad na temu „Priprava i karakterizacija uljnih nanofluida s grafenom“ izradila je pod mentorstvom prof. dr. sc. Ante Jukića te uspješno obranila u rujnu 2016. godine. Svoje školovanje nastavlja na diplomskom studiju Ekoinženjerstvo Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Sudjelovala je na 25. Skupu kemičara i kemijskih inženjera s posterskim priopćenjem „Kompostiranje komine maslina i duhanskog otpada u zatvorenom sustavu“ te na 12. Susretu mladih kemijskih inženjera s posterskim priopćenjem „Biorazgradivost i toksičnost farmaceutika i pesticida u vodi“. Sudjelovala je u Erasmus+ programu studentske razmjene na Politehničkom Sveučilištu u Kataloniji u Barceloni, Španjolska. Član je Hrvatske udruge za međunarodnu razmjenu studenata prirodnih i tehničkih znanosti i Studentske sekcije Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa.

Tečno govori engleski jezik, a poznaje osnove španjolskog i njemačkog jezika.