

# Fotokatalitička razgradnja trimetoprima

---

**Majnarić, Katarina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:867455>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-24**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE**  
**SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ**

**Katarina Majnarić**

# **DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, srpanj 2020.**

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

**Katarina Majnarić**

**FOTOKATALITIČKA RAZGRADNJA  
TRIMETOPRIMA**

**DIPLOMSKI RAD**

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Sandra Babić  
prof. dr. sc. Irena Škorić  
prof. dr. sc. Davor Ljubas

Zagreb, srpanj 2020.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Sandri Babić, na predloženoj temi i pomoći pri izradi diplomskog rada. Hvala Vam na strpljenju, savjetima i vodstvu tijekom pisanja rada. Uz Vas, unatoč posebnoj situaciji ove godine, izrada ovog rada bila je lijepo iskustvo koje će mi ostati u trajnom sjećanju.*

*Od srca se zahvaljujem svojoj obitelji, bratu Tomislavu, mami Oliveri i tati Draganu na velikoj ljubavi, razumijevanju i podršci tijekom cijelog studiranja. Hvala vam što ste vjerovali u mene.*

*Veliko hvala svim prijateljima koji su bili uz mene i u lijepim i u teškim trenucima. Studentski život s vama ostavio mi je najljepša sjećanja.*

*Posebno hvala Jeleni i Biserki koje su me uvijek poticale da budem bolja osoba i za svaki problem pronašle rješenje. Bez vas ne bih bila osoba koja jesam.*

## SAŽETAK

S pojavom sve većeg broja farmaceutika u okolišu do izražaja dolazi problem njihove prisutnosti i u vodama te njihovo neučinkovito uklanjanje konvencionalnim metodama obrade voda. Gotovo je nemoguće pratiti gdje sve dospijevaju farmaceutici i u kojim se koncentracijama nalaze. Tako nisu niti u potpunosti ispitani potencijalni negativni utjecaji na ekosustav.

Antibiotici su jedna od najvažnijih skupina farmaceutika čijim se akumuliranjem u okolišu pojavljuje problem otpornosti mikroorganizama na antibiotike. Trimetoprim je upravo jedan od antibiotika na koji se sve više razvija otpornost. Kao obećavajuće metode razgradnje trimetoprima pokazali su se napredni oksidacijski procesi.

Cilj ovog rada bio je napraviti pregled literature u kojoj je istražena razgradnja trimetoprima naprednim oksidacijskim procesima i razgradnja drugih farmaceutika fotokatalitičkom razgradnjom. Nakon pregleda napravljen je osvrt i predložen potencijalni put istraživanja fotokatalitičke razgradnje trimetoprima.

**Ključne riječi:** farmaceutici, antibiotici, trimetoprim, napredni oksidacijski procesi, fotokatalitička razgradnja, aktivne vrste

## **SUMMARY**

With the emergence of an increasing number of pharmaceuticals in the environment, the problem of their presence in water and their inefficient removal by conventional water treatment methods comes to the fore. It is almost impossible to keep track of where all pharmaceuticals end up and in what concentrations they are. Also, the potential negative impacts on the ecosystem have not been fully investigated yet.

Antibiotics are one of the most important groups of pharmaceuticals. Their accumulation in the environment causes the problem of antibiotic resistance of microorganisms. Trimethoprim is one of the antibiotics to which resistance is increasingly developing. Advanced oxidation processes have been shown to be promising methods for the degradation of trimethoprim.

The aim of this study was to review the literature in which the degradation of trimethoprim by advanced oxidation processes and the degradation of other pharmaceuticals by photocatalytic degradation was investigated. In conclusion a potential pathway for investigating the photocatalytic degradation of trimethoprim was proposed.

**Keywords:** pharmaceuticals, antibiotics, trimethoprim, advanced oxidation processes, photocatalytic degradation, active species

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. OPĆI DIO .....	3
2.1. Farmaceutici .....	4
2.1.1. Farmaceutici u okolišu .....	5
2.1.2. Štetni utjecaj farmaceutika u okolišu .....	8
2.1.3. Antibiotici .....	10
2.1.4. Trimetoprim .....	11
2.2. Napredni oksidacijski procesi .....	13
2.2.1. Fotokataliza .....	14
2.2.2. Fotokataliza pomoću TiO <sub>2</sub> nanočestica kao katalizatora .....	17
2.2.3. Reakcije aktivnih vrsta u fotokatalitičkim reakcijama [23] .....	18
2.2.4. Fotoelektro-Fenton proces .....	19
2.2.5. UV/klor proces .....	20
2.2.6. UV/persulfat proces .....	21
2.3. Pregled literature .....	21
2.4. Kromatografija .....	52
3. OSVRT .....	56
4. ZAKLJUČAK .....	60
5. LITERATURA .....	62
6. ŽIVOTOPIS .....	68

## **1. UVOD**



Posljednjih desetljeća pojavljuje se sve više dokaza da su farmaceutici prisutni u okolišu. Farmaceutici se koriste u poljoprivredi i veterini te u očuvanju ljudskog zdravlja. U okoliš dospijevaju na mnogobrojne načine, ponajviše iz nedovoljno obrađenih voda iz postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda industrije i postrojenja za pročišćavanje komunalnih otpadnih voda. Uz to, problem su i odlagališta otpada gdje često završavaju neiskorišteni farmaceutici i oni kojima je istekao rok trajanja.

Farmaceutici su „nove onečišćujuće tvari“ u okolišu te se njihov utjecaj na ljude i cijeli ekosustav još ne zna u potpunosti. Zabilježeni su određeni negativni utjecaji na neke životinje, no još nije sigurno koliki su to utjecaji jer kontinuiranim unosom farmaceutika u okoliš dolazi do kroničnih efekata na ekosustav za koje je teško primijetiti da li su rezultat farmaceutika ili prirodne evolucije. Porastom broja farmaceutika teško je pratiti gdje sve dospijevaju i u kojim se koncentracijama nalaze.

Jedna od najvažnijih skupina farmaceutika su antibiotici koji se koriste za prevenciju ili liječenje bolesti uzrokovanih raznim mikroorganizmima kao što su bakterije i gljivice. Izvor za dospijevanje farmaceutika u okoliš su postrojenja za proizvodnju lijekova, bolnice, veterinarski centri i akvakultura. Kao i drugi farmaceutici, u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda uklanjaju se samo djelomično te zaostale količine dospijevaju u površinske i podzemne vode. Upravo je to glavni razlog pojave otpornosti mikroorganizama u prirodi na antibiotike.

Trimetoprim je antibiotik koji se koristi za liječenje različitih vrsta bakterijskih infekcija, uglavnom infekcija mokraćnih puteva. Dobro je topiv u vodi te lako ulazi i akumulira se u vodenim sustavima. S obzirom na neučinkovito uklanjanje konvencionalnim metodama obrade voda istražuju se učinkovitije, pri čemu su se kao obećavajući pokazali napredni oksidacijski procesi.

U ovom je radu napravljen pregled literature razgradnje trimetoprime naprednim oksidacijskim procesima i razgradnje drugih farmaceutika fotokatalitičkom razgradnjom. Također, napravljen je i pregled kromatografskih metoda korištenih u pregledanim radovima. Nakon pregleda napravljen je osvrt i predložen potencijalni put istraživanja fotokatalitičke razgradnje trimetoprime.

## **2. OPĆI DIO**

## 2.1. Farmaceutici

Farmaceutici, zajedno s aktivnim sastojcima u proizvodima za osobnu njegu (zajednički nazvani PPCP – engl. *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), zadnjih godina dobivaju sve veću pozornost s obzirom da su jedni od najvećih pridonositelja postojećih i redovito prisutnih novih onečišćujućih tvari u površinskim i podzemnim vodama diljem svijeta. PPCP-ovi su revolucionarizirali moderni život postavši neizostavni proizvod za društvo [1]. Ljudi koriste širok spektar farmaceutika u svrhu poboljšanja zdravlja i prevencije i/ili liječenja bolesti kod ljudi i životinja. S druge strane, proizvodi za osobnu njegu služe za poboljšanje kvalitete života čišćenjem i brigom za ljudsko tijelo. To uključuje niz proizvoda kao što su šamponi, deterdženti, sredstva protiv insekata, dezodoransi, paste za zube, kozmetika, antibakterijski sapuni, sredstva za sunčanje itd [2]. Većina ovih proizvoda se stalno odlaže ili ispušta u vodene sustave kroz kućne, bolničke i industrijske kanalizacijske sustave te su u posljednjim desetljećima otkriveni širom svijeta u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda, podzemnim vodama, oborinskim vodama, a ponekad i u pitkoj vodi. Svi PPCP-ovi imaju složene strukture i većina se sastoji od nekoliko aktivnih spojeva. Nakon što napuste proizvodne pogone i dosegnu maloprodajno tržište, putevi kojima dolaze u okoliš postaju vrlo komplicirani za praćenje i analizu. Kroz vodene puteve vraćaju se natrag do čovjeka putem pitke vode, a otkriveno je da uzrokuju reproduktivne nepravilnosti, povećane stope raka i otpornost na lijekove poput antibiotika. Zabrinutost izazivaju i kronični efekti i razvoj nepredvidivih anomalija kroz kumulativno izlaganje niskim koncentracijama nekoliko spojeva tijekom dužeg vremenskog razdoblja, takvima da se promjene koje bi se dogodile ili već jesu ne razlikuju od prirodne evolucije [1, 3].

Veliki rizik zbog postojanosti PPCP-a u vodi je mogućnost razvitka bakterijske otpornosti na antibiotike. Pokazalo se da već postoji povećanje broja mikroba otpornih na antibiotike koji se intenzivno koriste za očuvanje životinjskog zdravlja i liječenje infekcija kod ljudi. Također je primijećeno da prisutnost PPCP-a u vodenim sustavima ima toksično djelovanje čak i za neciljane organizme što vodi do abnormalnog rasta i razvoja. Kiseli farmaceutski spojevi mogu izazvati različite toksikološke reakcije pri različitim pH-vrijednostima, a pokazalo se i da metali koji se akumuliraju u riječnim biofilmovima povećavaju toksičnost određenih antibiotika [2, 4].

PPCP mogu uzrokovati štetne učinke na organizme prisutne u okolišu i na ljudsko zdravlje zbog svoje velike sposobnosti da djeluju biološki čak i u malim, nanogramskim količinama. Međutim, zasad se još ne prate rutinski i zato nisu u potpunosti poznate njihove koncentracije u vodenim tokovima. Sudbina, putevi u okolišu i uklanjanje PPCP-a u vodenom okolišu ovise o njihovim kemijskim svojstvima, izrazito polarnoj i hidrofilnoj prirodi te niskoj hlapljivosti. Njihova raspodjela u okolišu nastaje prijenosom kroz vodene sustave ovisno o sorpciji na mulju, tlu i vodenim sedimentima. Također, površinsko otjecanje, izljevi kanalizacije zbog prekomjerne kiše, izravno ispuštanje kanalizacije i ispiranje pesticida s poljoprivrednih zemljišta uzrokuju izlaganje različitih vodenih organizama PPCP-ovima [5].

Utjecaj PPCP-a na zdravlje ljudi i životinja još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Postoji priljev onečišćujućih tvari za koje je utvrđeno da ostaju dulje vrijeme u površinskim vodama. Iako postrojenja za obradu otpadnih voda pomažu u uklanjanju lako razgradivih spojeva, dio PPCP-a nije lako ukloniti jer se tijekom pročišćavanja ne mogu u potpunosti razgraditi. Tako dolazi do onečišćenja vodenih tokova, a opasnost je još i veća kada se velike količine tretirane otpadne vode ispuštaju u vodene tokove koji sporo teku [2].

### **2.1.1. Farmaceutici u okolišu**

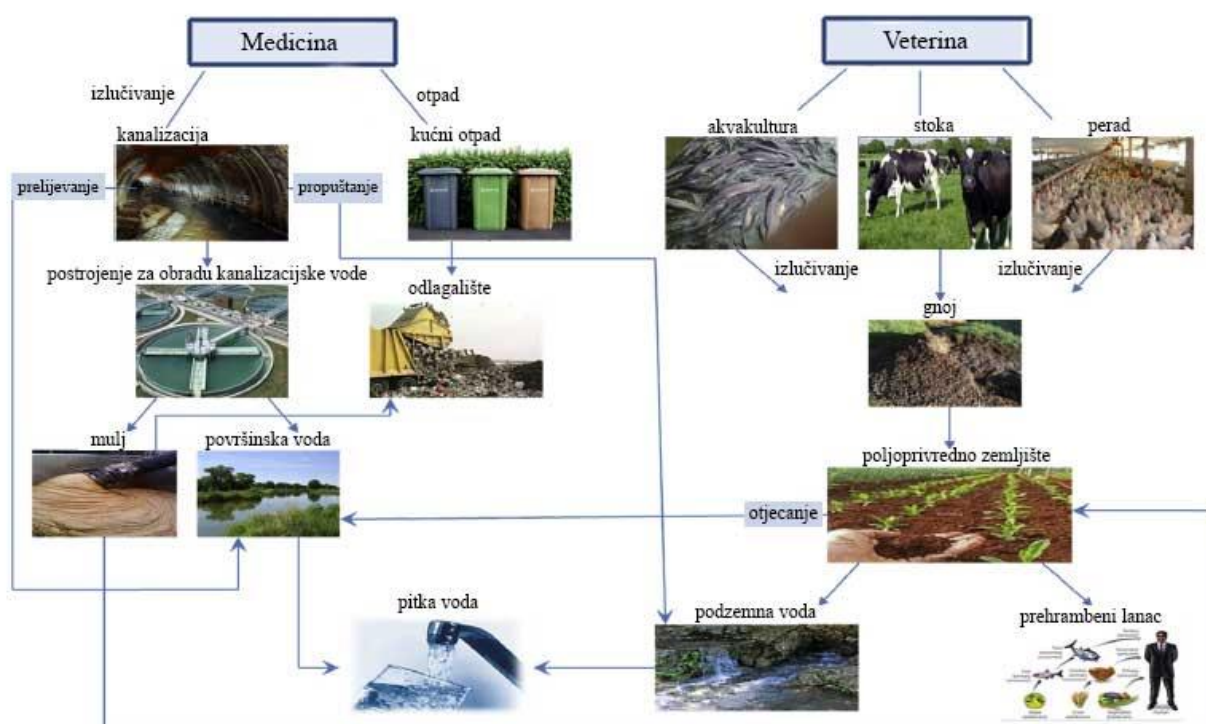
Farmaceutici su skupina spojeva koji se koriste u veterini, poljoprivredi te prevenciji i liječenju ljudskih bolesti. Oni su bioaktivni i većinom topljivi u vodi. Farmaceutici koji se koriste za ljude i u veterini se kontinuirano puštaju u okoliš kao rezultat proizvodnih procesa, zbrinjavanja neiskorištenih ili isteklih proizvoda i izlučevina. Neprekidno unošenje lijekova i njihovih bioaktivnih metabolita u okoliš može dovesti do njihove visoke koncentracije u okolišu i promicati stalne, iako neprimjetne, štetne učinke na vodene i kopnene organizme.

Farmaceutici su složene molekule različitih fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava i funkcionalnosti. Oni su razvijeni i koriste se zbog svog specifičnog biološkog djelovanja, a najviše ih karakterizira njihova ionska priroda. Molekulske mase takvih kemijskih molekula su između 200 do 1000 Daltona te se takvi spojevi nazivaju malim molekulama. Upravo su ove male molekule te koje su istražene i otkrivene u okolini. Većina farmaceutika su slabe baze ili kiseline, a u okolišnim uvjetima, molekule mogu biti neutralne, kationske, anionske ili u obliku dvojnih iona. To čini njihovo ponašanje složenijim jer se njihova svojstva mogu

mijenjati s promjenom pH-vrijednosti. Farmaceutici se razlikuju u njihovoj pojavi, sudbini i učincima na ljude ili druge organizme u okolišu, poput bakterija ili parazita [6].

Farmaceutici predstavljaju „nove onečišćujuće tvari“ u okolišu, spojeve koji se dosad nisu klasificirali kao onečišćujuće tvari, ali se sve više ispuštaju u okoliš u količinama koje bi s vremenom mogle predstavljati opasnost za ekosustav. Kontinuirani unos farmaceutika u okoliš može potencijalno rezultirati negativnim, dugoročnim utjecajima na organizme prisutne u okolišu, a shodno prirodnom lancu dugoročno može negativno utjecati i na ljude [7].

Nakon upotrebe, mogući su različiti putevi za ulazak farmaceutika i njihovih metabolita u okoliš (Slika 1.). Primarni izvori su postrojenja za pročišćavanje kanalizacijskih voda, postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda i odlagališta otpada. Pokazalo se da niti konvencionalne metode obrade voda niti prirodna otpornost vodenih tokova ne mogu u potpunosti ukloniti ove kompleksne molekule, stoga se sada često otkrivaju čak i u pročišćenim površinskim i podzemnim vodama u koncentracijama u rasponu od ng/L do  $\mu\text{g/L}$ .



Slika 1. Izvori farmaceutika u okolišu [4]

Općeprihvaćene hipoteze o ispuštanju i prijenosu farmaceutika uključuju [1, 4]:

1. Farmaceutici apsorbirani u tijelu tijekom terapije mogu ostati nemetabolizirani i kasnije izlučivanje vodi do onečišćenja u kanalizaciji i septičkim jamama. Udio nemetaboliziranog farmaceutika različit je za različite farmaceutike.
2. Postrojenja za pročišćavanje kanalizacijske vode ne uklanjaju u potpunosti takve onečišćujuće tvari i kada se pročišćena voda koristi za navodnjavanje, a osušeni organski mulj kao gnojivo, u poljoprivredna zemljišta dospijevaju značajne količine tih spojeva u otopljenom obliku.
3. Oborine uzrokuju otjecanje s onečišćenih tla u podzemne vode ili prenose otopljene onečišćujuće tvari do najbližih vodenih tokova koji ih prenose dalje i na taj način predstavljaju prijetnju pitkoj vodi.
4. Farmaceutici koji se primjenjuju u veterinarske svrhe često dospijevaju u tlo putem životinjskog izmeta koji se koristi kao gnojivo i zatim se ispiru u podzemne vode. Ti farmaceutici, zajedno sa svojim metabolitima, onečišćuju tlo i mogu ući u prehrambeni lanac. Farmaceutici korišteni u akvakulturi izravno se unose u površinske vode.
5. Čvrsti otpad odbačen na odlagališta često sadržava lijekove kojima je istekao rok trajanja te oni postaju dugoročni izvor farmaceutika i njihovih razgradnih produkata koji lako mogu onečistiti podzemne vode.

Jednom kada dođu u okoliš, postoji mogućnost njihova prijenosa dalje, ovisno o njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima i karakteristikama prijemne okoline. Farmaceutici su obično slabo hlapljivi te su izrazito polarni i hidrofilni, što znači da će se njihova distribucija kroz okoliš ponajprije odvijati vodenim transportom i kroz prehrambeni lanac. Sorpcija na sediment još je jedan mehanizam putem kojeg se farmaceutici prenose u vodeni okoliš. Sediment akumulira onečišćenja koja se mogu ispuštati natrag u vodeni okoliš. Biorazgradnja, fotorazgradnja i drugi abiotički procesi razgradnje poput hidrolize mogu smanjiti koncentraciju farmaceutika u okolišu i rezultirati djelomičnim uklanjanjem i mineralizacijom ovih spojeva. Opseg fotorazgradnje ovisi o intenzitetu Sunčevog zračenja, dubini vode, sastavu organske tvari, zemljopisnoj širini i godišnjem dobu. Tijekom obrade otpadnih voda može se dogoditi razgradnja ili transformacija farmaceutika ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima spoja i uvjetima u kojima se odvija obrada. Farmaceutici se mogu potpuno uništiti ili djelomično transformirati u metabolite ili u nekim slučajevima ostati nepromijenjeni. Važno je naglasiti da razgradnja ili uklanjanje početne molekule ne znači

nužno uklanjanje toksičnosti. Veliki broj razgradnih i transformacijskih produkata nepoznate toksičnosti i postojanosti može biti prisutan u obrađenim otpadnim vodama [4].

### 2.1.2. Štetni utjecaj farmaceutika u okolišu

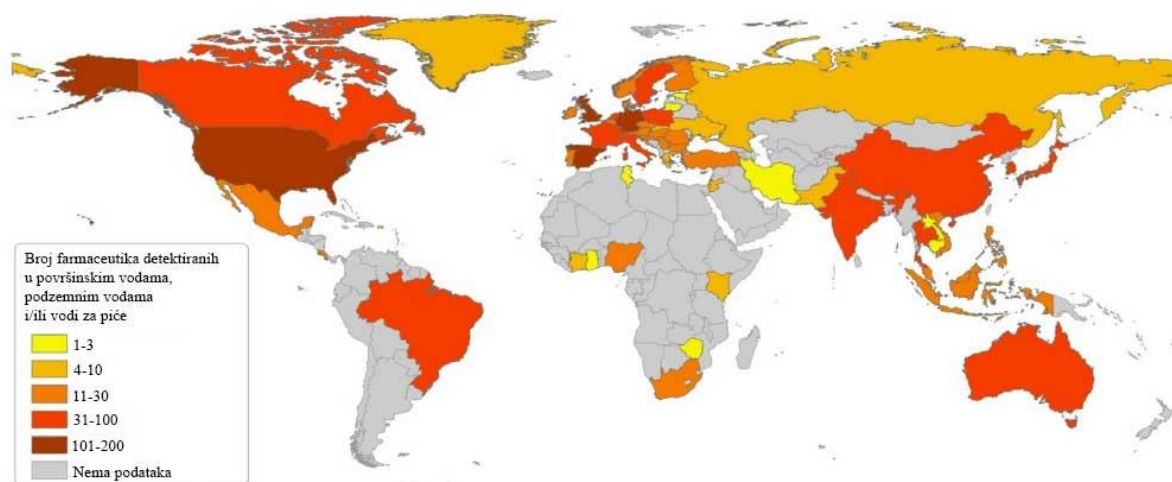
U svijetu se proizvodi veliki broj farmaceutika, a svaki od njih je dizajniran za specifičan fiziološki učinak. Broj identificiranih farmaceutika je znatno manji u odnosu na broj bioaktivnih spojeva koji postoje na tržištu. Uz to, malo je podataka o vrsti sekundarnih metabolita koji nastaju kada se početna molekula podvrgne biotransformaciji. U okolišu je uočeno da ti metaboliti mogu biti toksičniji od početne molekule. Fizikalno-kemijska svojstva farmaceutika omogućuju im da budu postojani u vodenom okruženju. Nemogućnost konvencionalnih postupaka obrade voda za uklanjanje ovih spojeva je veliki razlog za zabrinutost. Iako su njihove koncentracije u okolišu u rasponu od ng/L do µg/L, utjecaj čak i tako niskih koncentracija na neciljane organizme nije u potpunosti istražen. Produljena izloženost i sinergistički učinak nekoliko farmaceutika koji se istodobno pojavljuju u malim koncentracijama u istom ekosustavu može predstavljati ozbiljne prijetnje [1].

Prva istraživanja štetnog utjecaja farmaceutika prisutnih u vodama u okolišu objavljena su devedesetih godina 20. stoljeća kada su otkrivene 'feminizirane' ribe mužjaci u rijekama nizvodno od postrojenja za obradu voda. Ta je pojava vezana za djelovanje sintetskog estrogena, hormona koji se koristi za kontracepciju. Nadalje, primijećeno je naglo smanjenje populacije vodenih kukaca povezano s prisutnošću antiepileptika karbamazepina u vodama. Također, beta blokatori, propranolol i metoprolol, pokazali su toksičan učinak na planktonsku vrstu *Daphnia magna* [8].

Trenutne studije usmjerene su na istraživanja akutnih učinaka izloženosti farmaceuticima. Kronični učinci su uglavnom nepoznati. Organizmi u vodenom okolišu izloženi su generacijski većim koncentracijama, a osim toga su i općenito kontinuirano izloženi te su stoga izloženi i većem riziku nego ljudi. Složene smjese farmaceutika mogu uzrokovati i toksičnost uslijed sinergističkog djelovanja. Neki od mogućih toksičnih učinaka su stanična toksičnost, genotoksičnost, teratogeni učinci i imunotoksični učinci [5].

T. aus der Beek i sur. [9] su 2016. godine napravili opsežan pregled velikog broja publikacija i članaka te prikupili podatke o izmjerenim koncentracijama različitih farmaceutika u okolišu diljem svijeta u površinskim vodama, podzemnim vodama, pitkoj vodi, gnoju i tlu. Skupili su podatke za svih 5 UN regija (engl. *United Nations*, UN). Među 16 farmaceutika koji su pronađeni u svim regijama nalazi se i trimetoprim koji je pronađen u 29 država. Za usporedbu, diklofenak je farmaceutik koji je pronađen u najvećem broju država, čak njih 50. Trimetoprim je detektiran u ukupno 3060 uzoraka pri čemu je u površinskim vodama prosječna koncentracija bila 0,037  $\mu\text{g/L}$ , a najveća koncentracija je bila 13,6  $\mu\text{g/L}$ . Neke od visokih koncentracija povezane su s proizvodnim pogonima u određenim zemljama. Primjerice, Dolar i sur. [10] su izvijestili o maksimalnoj koncentraciji od 27,68 mg/L za trimetoprim u kanalizacijskoj otpadnoj vodi jednog proizvodnog pogona u Hrvatskoj.

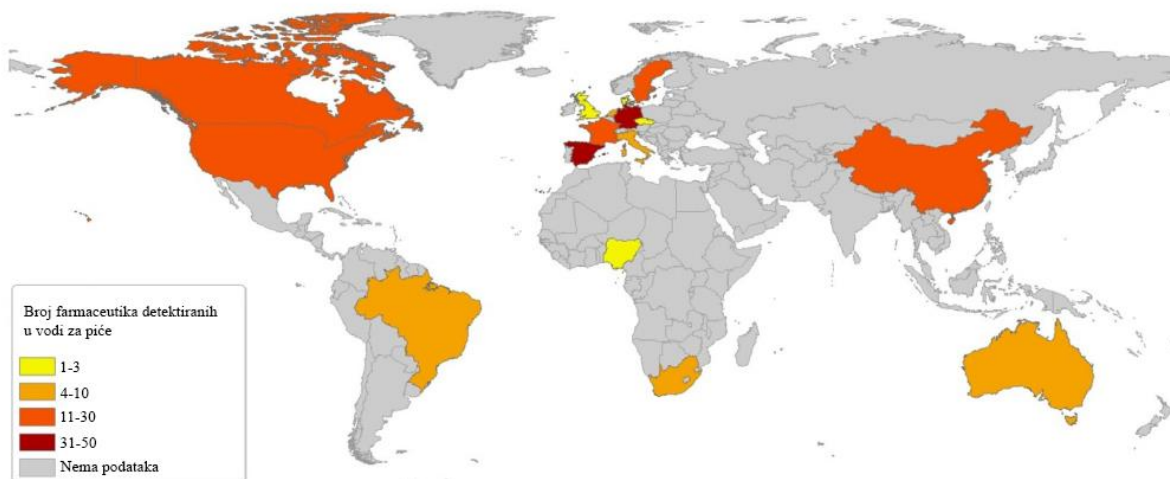
Većina istraživanja provedena je u zemljama zapadne Europe pa tu prevladavaju i veće koncentracije. Međutim, za karbamazepin, sulfametoksazol, ibuprofen, trimetoprim i paracetamol Afrika ima najveće prosječne koncentracije što ukazuje na to da farmaceutici u okolišu nisu problem samo industrijaliziranih zemalja. U svakoj regionalnoj skupini UN-a pronađeno je najmanje 38 različitih farmaceutika u površinskim vodama, podzemnim vodama ili pitkoj vodi. Više od 100 različitih farmaceutika detektirano je u vodama u okolišu nekoliko europskih zemalja i u SAD-u u koncentracijama većim od granice detekcije što je vidljivo na Slici 2. [9].



Slika 2. Broj detektiranih farmaceutika u različitim vodama širom svijeta [9]



Za pitku vodu/vodu iz slavine dostupni su ograničeni podaci što je vidljivo na Slici 3. Većina podataka dolazi iz zemalja zapadne Europe poput Španjolske i Njemačke gdje je detektirano više od 30 farmaceutika. Tragovi farmaceutika otkriveni su i u pakiranoj vodi u Francuskoj [9].



Slika 3. Broj detektiranih farmaceutika u pitkoj vodi [9]

Jedan od zabrinjavajućih rezultata rada [9] je da su koncentracije nekoliko farmaceutika u vodenim ekosustavima unutar raspona za koji se zna da uzrokuje akutnu ili kroničnu toksičnost. Izloženost nesteroidnom protuupalnom lijeku diklofenaku dovela je gotovo do izumiranja strvinara na indijskom potkontinentu, uzrokovano time što su strvinari jeli leševe goveda koja su bila liječena ovim lijekom.

### 2.1.3. Antibiotici

Antibiotici su jedna od najvažnijih skupina farmaceutika koji se koriste. Oni se koriste za prevenciju ili liječenje bolesti uzrokovanih raznim mikroorganizmima kao što su bakterije i gljivice. Dugo se koriste u medicini i veterini, u akvakulturi za sprječavanje ili liječenje mikrobnih infekcija te u stočarstvu. Neki antibiotici se koriste i u uzgoju voća te u pčelarstvu. Klasična definicija antibiotika je spoj proizveden mikroorganizmom koji inhibira rast drugog mikroorganizma. Tijekom godina, ova se definicija proširila i na sintetičke i polusintetičke proizvode [11].

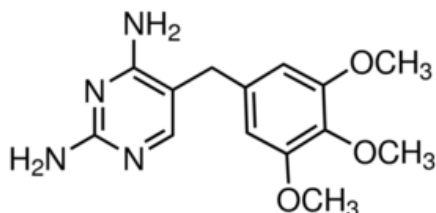
Postoje i prirodni antibiotici (npr. penicilini) i oni su glavni faktor u ekologiji mikroorganizama. Pod prirodnim uvjetima, koncentracije antibiotika su vrlo niske i njihovi učinci su ograničeni na mikrokruženje u blizini organizama koji ih proizvode. Taj se fenomen mijenja kada su antibiotici sintetičke ili polusintetičke prirode. Izrazito hidrofobni spojevi se lako akumuliraju u tlu i sedimentima, dok su izrazito hidrofilni spojevi prilično pokretni u okolišu i lako pronalaze put do podzemnih voda. Organski spojevi s niskim koeficijentom razdiobe oktanol/voda ( $K_{ow}$ ) su također vrlo pokretni u tlu i mogu doći do podzemnih voda. Detekcija antibiotika i općenito farmaceutika u tlu može biti problematična u usporedbi s vodenim sustavima zbog interferencija organskih tvari [12].

Antibiotici se mogu podijeliti prema kemijskoj strukturi ili mehanizmu djelovanja. U različitim pH-uvjetima mogu biti u neutralnom, kationskom, anionskom obliku ili u obliku dvojnih iona. Zbog različitih funkcionalnih skupina unutar jedne molekule, njihova fizikalno-kemijska i biološka svojstva poput sklonosti sorpciji i fotolitičkoj razgradnji te antibiotske aktivnosti i toksičnosti mogu se mijenjati s promjenom pH-vrijednosti [13]. Osim postrojenja za proizvodnju lijekova, osnovni izvor njihovog uvođenja u okoliš su bolnice, veterinarski centri, stočarstvo i akvakultura. Djelomično se uklanjaju u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda, ali zaostale količine mogu dospjeti u površinske vode, podzemne vode ili sedimente [11]. Neselektivna i raširena upotreba antibiotika ubrzava njihovo otpuštanje u okoliš i sada je glavni razlog za razvoj nekoliko sojeva otpornih na antibiotike u prirodnoj bakterijskoj populaciji. Prisutnost čak i vrlo niskih razina antibiotika može potaknuti toleranciju na njih. S obzirom na to, djelomično je nemoguće shvatiti kronične učinke izloženosti farmaceuticima na ne ciljane vodene i kopnene organizme koji mogu izazvati biološke promjene kroz dulja vremenska razdoblja, ponekad i za cijelu zajednicu organizama tijekom nekoliko generacija [1]. Opsežna primjena antibiotika u humanoj medicini i stočarstvu glavni je uzrok nastanka i širenja bakterija otpornih na antibiotike, što je prijetnja učinkovitoj prevenciji i liječenju različitih infektivnih bolesti uzrokovanih patogenim bakterijama otpornim na antibiotike [4].

#### **2.1.4. Trimetoprim**

Trimetoprim, 2,4-diamino-5-(3,4,5-trimetoksibenzil) pirimidin, je antibiotik koji se koristi samostalno ili u kombinaciji sa sulfonamidom (npr. sulfametoksazolom, sulfadiazinom) za liječenje različitih vrsta bakterijskih infekcija, uključujući infekcije

mokraćnih puteva, akutna pogoršanja kroničnog bronhitisa i infekcije uha [14]. Obično je u obliku bijelog ili lagano žutog kristaliničnog praška, bez mirisa i gorkog okusa. Molekulska formula trimetoprima je  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ , a molekulska masa 290,32 g/mol. Kemijska struktura prikazana je na Slici 4. [15].



Slika 4. Struktura trimetoprima

Koristi se za liječenje ljudi i životinja od 1968. godine. Brzo se apsorbira nakon oralne primjene te se 10–20 % trimetoprima metabolizira, prvenstveno u jetri, a ostatak se izlučuje nepromijenjen u urinu [16, 17].

S obzirom da je trimetoprim dobro topiv u vodi lako ulazi i akumulira se u vodenim sustavima. Neučinkovito uklanjanje trimetoprima u konvencionalnim biološkim sustavima za obradu naglašava potrebu za učinkovitijim tehnologijama obrade. Njegova kontinuirana medicinska upotreba i prisutnost u okolišu stvorile su bakterijsku otpornost prema ovom lijeku. Pojedina istraživanja naprednih postupaka obrade voda ukazuju da su napredni oksidacijski procesi prikladni postupci za uklanjanje trimetoprima. Trimetoprim je vrlo stabilan na izravnu fotolizu. Tijekom fotolize nastaje veliki broj razgradnih produkata, od kojih su neki postojaniji od trimetoprima [17].

Kako se velike količine otpadnih voda koje sadrže trimetoprim ispušta u vode u okolišu, onečišćenje ovim farmaceutikom postaje sve ozbiljnije. Yilmaz i sur. [18] istraživali su potencijalni rizik za okoliš uslijed prisutnosti određenih farmaceutika u bolničkim otpadnim vodama u Turskoj. Ispitali su uzorke iz dvije najveće bolnice u Istanbulu te su odredili toksičnost i kvocijent rizika (engl. *hazard quotient*, HQ) s ciljem klasifikacije prisutnih farmaceutika. Među detektiranim farmaceuticima je i trimetoprim koji je jedan od četrnaest farmaceutika za koje je utvrđeno da postoji visoki rizik za negativan učinak na ljude i okoliš s kvocijentom rizika  $HQ > 10$  [15, 18].

## 2.2. Napredni oksidacijski procesi

Napredni oksidacijski procesi su vrlo učinkoviti novi procesi koji ubrzavaju oksidaciju i razgradnju širokog spektra organskih i anorganskih spojeva koji su otporni na konvencionalne postupke obrade voda. Ovi procesi proizvode *in situ* prijelazne vrste, uglavnom hidroksilne radikale, koji pomažu u procesu razgradnje sve dok se ciljani spoj u potpunosti ne razgradi do CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ili mineralne kiseline (ako spoj sadržava halogene). Napredni oksidacijski procesi uključuju različite kombinacije postupaka s ozonom, vodikovim peroksidom, sonolizom, ultraljubičastim zračenjem i fotokatalizom, čime se može oksidirati širok spektar onečišćenja u vodi, zraku i onečišćenom tlu. U posljednjim desetljećima razvijeni su određeni napredni oksidacijski procesi te je dokazano da imaju industrijsku primjenu. To su ozonizacija, peroksidacija, katalitička peroksidacija, Fentonov i Fentonu slični procesi, fotokataliza s poluvodičima (npr. TiO<sub>2</sub> i ZnO), sonoliza i drugi [19]. Ovi procesi su zanimljivi jer se odvijaju pri blagim reakcijskim uvjetima, atmosferskom tlaku i sobnoj temperaturi. Također, rezultat odvijanja ovih procesa ne stvara otpad ili stvara vrlo malu količinu otpada [8]. Mehanizam fotokatalize temelji se na apsorpciji zračenja što uzrokuje stvaranje aktivnih radikala i vodi do mineralizacije organskih tvari. Ove reakcije mogu provesti poluvodiči, poput TiO<sub>2</sub>, ZnO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, WO<sub>3</sub>, koji imaju elektronsku strukturu koja im omogućava prijenos elektrona iz valentne vrpce u vodljivu vrpcu, kada se primijeni zračenje iste ili veće energije od energije zabranjene zone [17].

S obzirom na mehanizam fotokatalitičkih reakcija i sonolize, napredni oksidacijski procesi koji uključuju fotokatalizu, sonolizu ili kombinaciju oba procesa mogu se podijeliti u šest kategorija:

- Fotoliza: upotreba UV zračenja bez prisustva katalizatora; ne dolazi do potpune razgradnje organske tvari već dolazi do stvaranja intermedijera koji mogu biti i opasniji od početne molekule
- Fotokataliza: upotreba UV zračenja uz prisustvo fotokatalizatora (npr. TiO<sub>2</sub> ili ZnO)
- Sonoliza: upotreba ultrazvučnog zračenja bez prisustva katalizatora; nastaju hidroksilni radikali, ali i intermedijeri koji kao i kod fotolize mogu biti opasniji od početne molekule
- Sonokataliza: upotreba ultrazvučnog zračenja uz prisustvo fotokatalizatora TiO<sub>2</sub>; bez prisustva UV zračenja

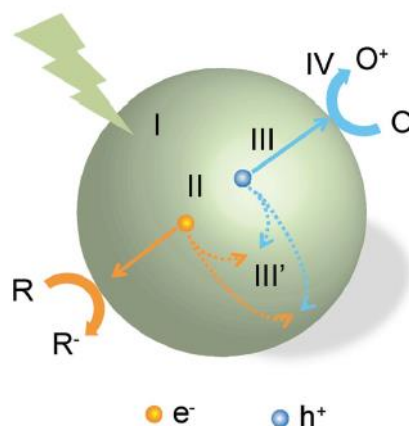
- Sonofotokataliza: upotreba ultrazvučnog i UV zračenja uz prisustvo fotokatalizatora  $\text{TiO}_2$

Znanstvenici su utvrdili da fotokatalitičke reakcije pokazuju veći stupanj razgradnje od reakcija sonolize [19].

### 2.2.1. Fotokataliza

Fotokataliza je proces u kojem apsorpcijom UV i/ili vidljivog spektra (što ovisi o tipu i sastavu materijala fotokatalizatora) zračenja na poluvodičkom katalizatoru nastaju hidroksilni radikali [8]. Može se opisati u 4 koraka (Slika 5.):

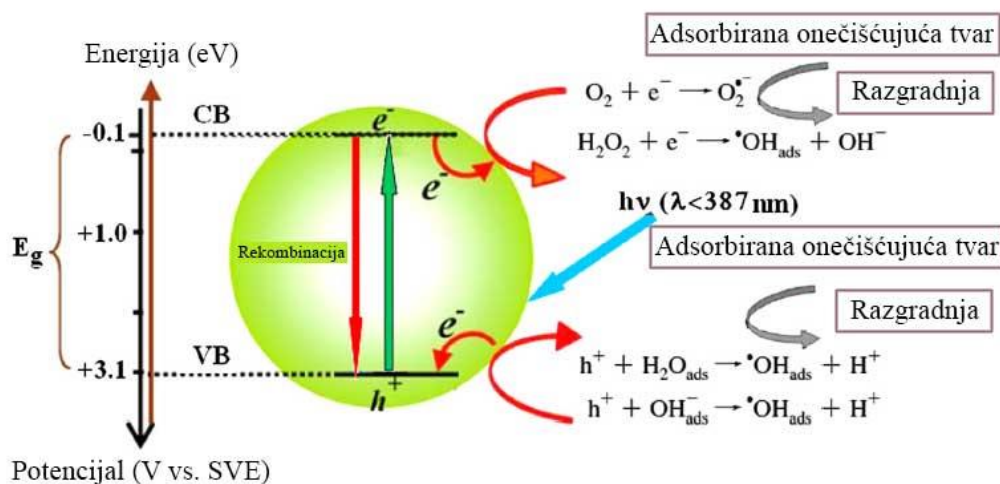
- Apsorpcija zračenja za stvaranje parova elektron-šupljina.
- Separacija pobuđenih naboja.
- Prijenos elektrona i šupljina na površinu fotokatalizatora; veliki dio parova elektron-šupljina se rekombinira ili na putu do površine ili na samoj površini.
- Iskorištavanje naboja na površini za redoks reakcije [20].



Slika 5. Koraci u fotokatalitičkoj reakciji [20]

Fotokataliza pomoću poluvodiča, npr.  $\text{TiO}_2$ , započinje apsorpcijom UV zračenja energije iste ili veće od energije zabranjene zone  $\text{TiO}_2$  (3,2 eV za anatas; 3,0 eV za rutil) [18]. Time se stvaraju parovi elektron-šupljina što je prikazano na Slici 6. Nakon fotopobuđivanja dolazi do istovremenih reakcija oksidacije i redukcije. Kada foton ima energiju  $h\nu$  koja je jednaka ili veća od energije zabranjene zone poluvodiča, elektron ( $e^-$ ) prelazi iz valentne u vodljivu vrpcu te se u valentnoj vrpici formira pozitivno nabijena šupljina ( $h^+$ ). Rekombinacijom pobuđenih parova elektrona i šupljina prikupljena energija se raspršuje u

obliku topline (rekombinacija bez zračenja) ili emisije zračenja (rekombinacija uz zračenje). U odsustvu odgovarajuće tvari koja reagira s elektronima i šupljinama, energija prelazi u drugi oblik u nekoliko nanosekundi. Međutim, ako elektroni i šupljine migriraju na površinu poluvodiča bez rekombinacije tada mogu sudjelovati u različitim redoks reakcijama s adsorbiranim vrstama poput vode, kisika i drugih organskih ili anorganskih vrsta, ovisno o donorskim ili akceptorskim svojstvima površinski adsorbirane vrste [20, 21].

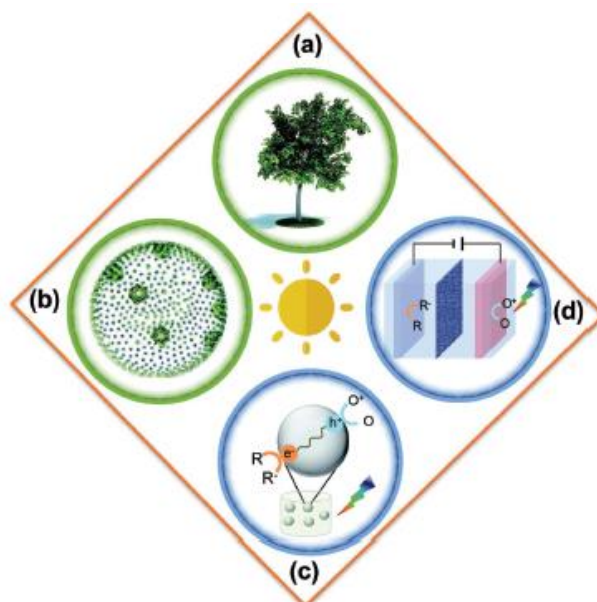


Slika 6. Mehanizam fotokatalize uz  $\text{TiO}_2$  [21]

Poluvodiči mogu djelovati kao senzibilizatori u redoks reakcijama izazvanim zračenjem zbog elektronske strukture metalnih atoma. Karakterizira ih popunjena valentna vrpca i prazna vodljiva vrpca. Među poluvodičima koji se mogu upotrijebiti kao fotokatalizatori,  $\text{TiO}_2$  u obliku nanočestica smatra se najboljim poluvodičkim fotokatalizatorom. Osim  $\text{TiO}_2$  obećavajućim fotokatalizatorom su se pokazale i nanočestice  $\text{ZnO}$  zbog široke zabranjene zone od  $3,37 \text{ eV}$  i velike pokretljivosti elektrona i dugog života pobuđenih elektrona. Nedostatak je loša apsorpcija zračenja u vidljivom području, ali kao i kod  $\text{TiO}_2$ , modifikacijom  $\text{ZnO}$  može se doći do boljih rezultata. Osim ta dva, potencijalni fotokatalizatori za uklanjanje farmaceutika su i grafitni ugljični nitridi,  $\text{ZnSnO}_3$  i  $\text{NiO}$ . Fotokataliza pomoću nanomaterijala privukla je značajnu pozornost zbog povećane učinkovitosti u procesu razgradnje farmaceutika. Nanofotokatalizatori pokazuju jedinstvena svojstva, a kao što je već spomenuto, mogu se i modificirati ili funkcionalizirati ovisno o farmaceutiku koji se želi razgraditi [22].

Nakon unošenja poluvodičkog katalizatora u fotoreaktor, brzina oksidacije i učinkovitost fotokatalitičke razgradnje ovise o brojnim parametrima koji određuju kinetiku fotokatalitičkog procesa. Najvažniji čimbenici koji utječu na fotokatalitičku učinkovitost u obradi vode su vrsta i količina fotokatalizatora, pH otopine, temperatura, početna koncentracija onečišćenja, valna duljina zračenja, intenzitet zračenja i brzina protoka kod protočnih reaktora [21].

Na Slici 7. prikazane su četiri vrste fotokatalitičkih reakcija. Prva, Slika 7. a), je najuspješnija fotokataliza, prirodna fotosinteza. Fotosinteza je razvijana milijardama godina i bila nam je glavni izvor opskrbe energijom. Ključni proizvodi ovih reakcija su ugljikohidrati. Varijacija ove reakcije prikazana je na Slici 7. b) gdje mikroalge provode reakciju sličnu onoj u biljkama, ali sintetiziraju jedinstvene spojeve poput vodika, etanola, butanola, glicerola i sl. Kada je riječ o sustavima umjetne fotosinteze postoji veliki broj varijacija koje se mogu podijeliti u 2 osnovne kategorije. Na Slici 7. c) prikazana je fotokataliza pomoću nanočestica, pri čemu reakcije oksidacije i redukcije nisu odvojene. Ovdje pripadaju reakcije s homogenim i heterogenim katalizatorima. Druga strategija je fizički razdvojiti mjesta oksidacije i redukcije, čiji primjer vidimo na Slici 7. d). Fotoelektrokataliza predstavlja kombinaciju heterogenih fotoaktivnih katalizatora s elektrokemijskom aparaturom [20].



Slika 7. Tipovi fotokatalitičkih reakcija: a) prirodna fotosinteza u biljkama, b) fotosinteza mikroalgi, c) fotokataliza nanočesticama, d) fotoelektrokataliza [20]

### 2.2.2. Fotokataliza pomoću TiO<sub>2</sub> nanočestica kao katalizatora

Titanijev dioksid je poluvodič koji se u prirodi pojavljuje kao minerali rutil, anatas i brukit. Najčešći oblik je rutil koji je ravnotežna faza na svim temperaturama. Metastabilni anatas i brukit se zagrijavanjem pretvaraju u rutil [17]. Iako TiO<sub>2</sub> apsorbira UV zračenje i u anatasnom i u rutilnom obliku, u rutilnom obliku se može apsorbirati zračenje bliže vidljivom dijelu spektra. Međutim, u anatasnom obliku TiO<sub>2</sub> pokazuje veću fotokatalitičku aktivnost u odnosu na rutil [19].

U fotokemijskim reakcijama induciranim TiO<sub>2</sub> nanočesticama stvaraju se parovi elektron-šupljina koji putuju do površine te dolazi do njihove rekombinacije i reakcija s različitim spojevima na površini fotokatalizatora. Glavni interes za TiO<sub>2</sub> fotokatalizu je u njegovoj potencijalnoj primjeni za pročišćavanje vode i zraka [23]. Prednosti korištenja TiO<sub>2</sub> su učinkovitost, biološka i kemijska inertnost, niska cijena, otpornost na fotokoroziju i kemijsku koroziju i velika fotoaktivnost. Dokazano je i da ima potencijal da u potpunosti oksidira različite organske spojeve, uključujući postojeane organske onečišćujuće tvari. Ova svojstva čine TiO<sub>2</sub> nanomaterijale glavnim kandidatima za primjenu u fotokatalitičkim postupcima obrade voda [21].

Glavni nedostatak korištenja TiO<sub>2</sub> je apsorpcija limitirana samo na UV zračenje, koja predstavlja samo 4 % Sunčeva zračenja, što onemogućuje primjenu prirodnih ili jeftinih izvora zračenja. Zato je uloženo puno napora u induciranje aktivnosti zračenjem u vidljivom području modifikacijom TiO<sub>2</sub> [23]. Modifikacija nano TiO<sub>2</sub> fotokatalizatora s prijelaznim metalima poput željeza, kobalta, nikla i kroma dovodi do poboljšanja apsorpcije zračenja u vidljivom području spektra i smanjenja rekombinacije parova elektrona i šupljina, čime se poboljšava cijelokupna fotokatalitička aktivnost. Modifikacija s nemetalima poput ugljika, dušika, fluora i broma također povećava apsorpciju zračenja vidljivog područja, a modifikacija s grafenom, SnO<sub>2</sub> i ugljikovim nanocjevčicama usporava rekombinaciju parova elektrona i šupljina [22].

Rezultati istraživanja [17] pokazali su da prisutnost metalnih nanočestica na površini TiO<sub>2</sub> povećava mineralizaciju trimetoprima. Nanočestice zlata i srebra su pokazale najveću učinkovitost razgradnje, dok su nanočestice bakra i nikla oksidirale tijekom fotokatalitičke reakcije pa su imale manju učinkovitost u poboljšanju razgradnje.



### 2.2.3. Reakcije aktivnih vrsta u fotokatalitičkim reakcijama [23]

Apsorpcijom UV zračenja  $TiO_2$  stvara elektron vodljive vrpce ( $e_{CB}^-$ ) i šupljinu valentne vrpce ( $h_{VB}^+$ ):



I elektroni i šupljine se lokaliziraju na nanokristalnoj površini te postaju manje pokretljivi, tzv. „zarobljeni“ elektroni i šupljine ( $e_T^-$  i  $h_T^+$ ) (reakcije 2 i 3). Rekombinacija elektrona i šupljina odvija se putem reakcija (4) – (7):

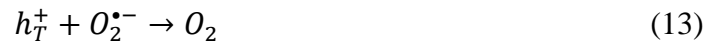
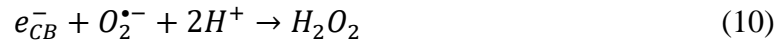


Reakcija (6) se ne odvija često jer je zarobljavanje elektrona puno češće od zarobljavanja šupljina. Elektroni i šupljine mogu reducirati i oksidirati veliki broj spojeva na  $TiO_2$  površini. Zato  $TiO_2$  katalizira pretvorbu energije fotona u energiju kemijske reakcije. U većini slučajeva, fotokataliza potiče termodinamički spontane reakcije koje oslobađaju energiju iako se mogu dogoditi i termodinamički nespontane reakcije. Skladištenje fotokemijske energije ima neizravan utjecaj na okoliš zbog obnavljanja iskorištene energije dok spontane reakcije imaju izravnu primjenu za pročišćavanje vode i zraka te za samočišćenje površine obložene  $TiO_2$ . Iako su šupljine ( $h_{VB}^+$ ) snažni oksidansi, sposobnost elektrona ( $e_{CB}^-$ ) da pokrenu redoks reakcije je ograničena relativno niskim redoks potencijalom te je najčešća reakcija s adsorbiranim kisikom. U odsustvu kisika ili drugih aditiva, apsorbirana energija zračenja prelazi u toplinu.

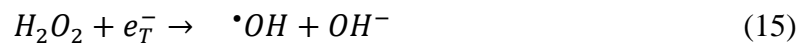
Interakcije između površine  $TiO_2$  i kisika,  $O_2$ , uključuju adsorpciju  $O_2$  na  $TiO_2$ . Elektroni vodljive vrpce i zarobljeni elektroni reduciraju kisik do superoksidnih radikala:



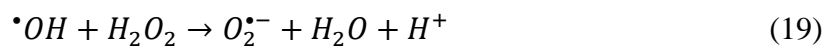
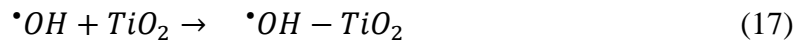
Superoksidni radikal može reagirati s elektronima (reakcije 10 i 11) i šupljinama (reakcije 12 i 13) ili reakcijom prijeći u vodikov peroksid (reakcija 14).



Nastali vodikov peroksid,  $H_2O_2$ , može reagirati s elektronima (reakcija 15) ili šupljinama (reakcija 16) pri čemu nastaju hidroksilni radikali  $\bullet OH$  i superoksidni radikali  $O_2^{\bullet-}$



Hidroksilni radikal može u reakcijama s  $TiO_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$  i  $e_T^-$  dati:



Energija šupljina  $h_{VB}^+$  i elektrona  $e_{CB}^-$  je dovoljna za oksidaciju većine organskih i anorganskih spojeva. Kada i šupljina i elektron daju isti produkt teško je razlikovati njihove reakcije. Primjeri općenitih reakcija:



#### 2.2.4. Fotoelektro-Fenton proces

Elektro-Fenton proces je elektrokemijski napredni oksidacijski proces koji uključuje stvaranje homogenih hidroksilnih radikala. Do toga dolazi Fentonovom reakcijom između  $Fe^{2+}$  i elektrogeneriranog vodikovog peroksida. Hidroksilni radikal je drugi najjači oksidans nakon fluora te pokazuje sposobnost mineralizacije većine organskih onečišćujućih tvari u vodi. Najbitnija karakteristika elektro-Fenton procesa je kontinuirano doziranje vodikova

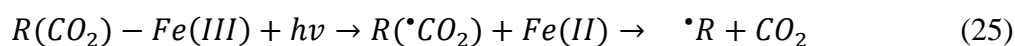
peroksida u reakcijski medij iz dvoelektronske redukcije kisika. Plin se može dovesti izravno kao čisti kisik ili iz zraka ili se pumpa pomoću difuzijskog uređaja. Upravo zbog samostalnog stvaranja vodikova peroksida mogu se izbjeći skupi i opasni koraci poput industrijske sinteze, transporta i skladištenja. Konvencionalni proces uključuje dodavanje  $Fe^{2+}$  u otpadnu vodu iako se može koristiti i  $Fe^{3+}$  jer se reducira na površini katode. Kontinuirana (re)generacija  $Fe^{2+}$  i vodikova peroksida predstavlja značajnu prednost u usporedbi s klasičnim kemijskim Fenton procesom. Mana elektro-Fenton procesa dolazi do izražaja kada se primijeni na uklanjanje organske tvari jer kao krajnji nusprodukti se stvaraju Fe(III)-karboksilatni kompleksi koji su otporni na napade hidroksilnih radikala. Kako bi se riješio taj problem razvijen je fotoelektro-Fenton proces (engl. *photoelectro-Fenton*, PEF). On se sastoji od istovremenog zračenja otopine umjetnim UV zračenjem ili čak i Sunčevim zračenjem. Time se promiče fotoliza intermedijera poput Fe(III)-karboksilata i često se može postići veća mineralizacija [24].

Fotoelektro-Fenton proces uključuje [25]:

- 1) Stvaranje veće količine hidroksilnih radikala fotoredukcijom  $Fe(OH)^{2+}$ :



- 2) Stvaranje  $Fe^{2+}$  fotolizom  $Fe^{3+}$ :



### 2.2.5. UV/klor proces

UV/klor proces je napredni oksidacijski proces koji je još u razvitku. Ovim procesom dolazi do nastanka hidroksilnih radikala i klor radikala UV fotolizom hipoklorne kiseline i hipokloritnog iona. Klor radikal reagira i sa kloridnim ionima čime nastaju  $Cl_2^{\cdot -}$  radikali [26].

UV/klor proces se počeo razvijati zbog nedostataka UV/vodikov peroksid procesa koji je jedan od najčešće korištenih naprednih separacijskih procesa u praksi. Naime, vodikov peroksid ima nisku molarnu apsorbivnost u UV području ( $19,6 M^{-1} cm^{-1}$ ) i nizak kvantni prinos što dovodi do prekomjernog doziranja vodikova peroksida. Kako bi se taj proces pojednostavnio često se koristi doziranje klora kako bi se uklonio neizreagirani vodikov peroksid što dodatno poskupljuje ovaj proces. Zato se pojavljuje UV/klor proces. On također za razliku od UV/vodikov peroksid procesa učinkovitije razgrađuje mnoge onečišćujuće tvari zbog većih prinosa radikala [27].

Razni radikali koji nastaju UV/klor procesom su odgovorni za brzu razgradnju velikog broja strukturno različitih onečišćujućih tvari. Razgradnjom farmaceutika koji sadržavaju elektron odvlačeće funkcionalne skupine dominiraju hidroksilni radikali. To su primjerice ibuprofen, primidon, nalidiksična kiselina i dr. S druge strane, razgradnjom farmaceutika koji sadrže elektron donorske funkcionalne skupine dominiraju reaktivne vrste klora. Radi se o primjerice karbamazepinu, kofeinu, naproksenu, diklofenaku, trimetoprimu, sulfametoksazolu i dr [26].

### 2.2.6. UV/persulfat proces

UV/persulfat proces je još jedan napredni oksidacijski proces koji se počeo razvijati tek posljednjih godina zbog svoje velike sposobnosti i prilagodljivosti za razgradnju onečišćujućih tvari i zbog prikladnog transporta persulfata. Postoje dva tipa persulfata: persulfat  $S_2O_8^{2-}$  i peroksimonosulfat  $HSO_5^-$ . Oba su snažni oksidansi redoks potencijala 2,01 V za persulfat i 1,82 V za peroksimonosulfat. UV zračenje može aktivirati oba kako bi se stvorili sulfatni radikali  $SO_4^{\bullet-}$  koji su snažni oksidansi s oksidacijskim potencijalom u rasponu od 2,5 – 3,1 V što je usporedivo ili čak i veće od oksidacijskog potencijala hidroksilnih radikala (1,9 – 2,7 V) [24, 28].

### 2.3. Pregled literature

TiO<sub>2</sub> fotokataliza uspješno je primijenjena za oksidaciju raznih organskih onečišćujućih tvari pa tako i farmaceutika. Međutim, još uvijek postoje otvorena pitanja i mogućnosti poboljšanja ovog procesa u smislu poboljšanja učinkovitosti razgradnje te modifikacije katalizatora kako bi bio aktivan pri zračenju u vidljivom dijelu spektra. Preduvjet za unaprjeđenje fotokatalitičkih procesa je dobro poznavanje mehanizama i reakcija koje se odvijaju tijekom fotooksidacije. Glavne reaktivne vrste u TiO<sub>2</sub> fotokatalitičkim reakcijama su „zarobljeni“ elektroni, superoksidni radikal ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksilni radikal ( $\bullet OH$ ), vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) i singletni kisik ( $^1O_2$ ). Reakcije većine aktivnih vrsta detaljno su opisane u poglavlju 2.2.3, dok singletni kisik nastaje oksidacijom superoksidnog radikala prema reakciji (26) [29]:



Kako bi se istražila uloga pojedinih reaktivnih vrsta, u reakcijsku smjesu uobičajeno se dodaju tzv. „hvatači“ radikala. „Hvatač“ radikala (engl. *scavenger*) je kemijski spoj koji se dodaje smjesi kako bi se deaktivirale određene aktivne vrste. Na taj način je moguće procijeniti njihovu ulogu u razgradnji ispitivanih organskih onečišćujućih tvari. Stoga je u ovom dijelu prikazan pregled literature u kojoj je ispitivana razgradnja različitih farmaceutika pomoću različitih naprednih oksidacijskih procesa te istražen mehanizam razgradnje. U Tablicama 1. i 2. dan je popis aktivnih vrsta, njihovih „hvatača“ i literature u kojoj su provedena ispitivanja s istima. Svi navedeni radovi su detaljno obrađeni nakon tablice. Prvo su obrađeni radovi u kojima se kao napredni oksidacijski proces koristila fotokatalitička razgradnja, s naglaskom na prvi rad gdje je ispitivana razgradnja trimetoprima, a nakon njega su ispitivane razgradnje drugih farmaceutika. Zatim slijede radovi u kojima je ispitivana razgradnja trimetoprima, ali korištenjem drugih naprednih oksidacijskih procesa. Na kraju poglavlja nalaze se tablice s objedinjenim osnovnim podacima za svaki literaturni navod.

Tablica 1. „Hvatači“ hidroksilnih radikala

„HVATAČ“ HIDROKSILNIH RADIKALA	LITERATURA
izopropanol	[30]
	[31]
	[32]
	[36]
	[37]
D-manitol	[38]
bikarbonat	[39]
<i>tert</i> -butanol	[39]
	[33]
	[34]
	[35]
metanol	[28]
	[34]
natrijev fluorid	[31]
vodikov peroksid	[31]
L-histidin	[34]
mravlja kiselina	[35]
natrijev azid	[36]
kalijev jodid	[37]

Tablica 2. Aktivne vrste i njihovi „hvatači“

AKTIVNA VRSTA	„HVATAČ“ AKTIVNE VRSTE	LITERATURA
superoksidni radikal	amonijev oksalat	[30]
	benzokinon	[32]
		[33]
		[34]
		[35]
		[36]
		[37]
	tiron	[33]
superoksid dismutaza	[34]	
sulfatni radikal	metanol	[28]
kloridni radikal	bikarbonat	[39]
singletni kisik	natrijev azid	[38]
		[32]
		[33]
		[36]
	L-histidin	[34]
vodikov peroksid	katalaza	[34]
kisik	kalijev bromat	[37]
elektroni	vodikov peroksid	[31]
	bakrov(II) nitrat	[34]
šupljine	askorbinska kiselina	[30]
	vodikov peroksid	[31]
	mravlja kiselina	[32]
		[34]
		[35]
	izopropanol	[33]
	kalijev jodid	[33]
	oksalat	[33]
	EDTA-Na <sub>2</sub>	[36]
	kalijev jodid	[37]

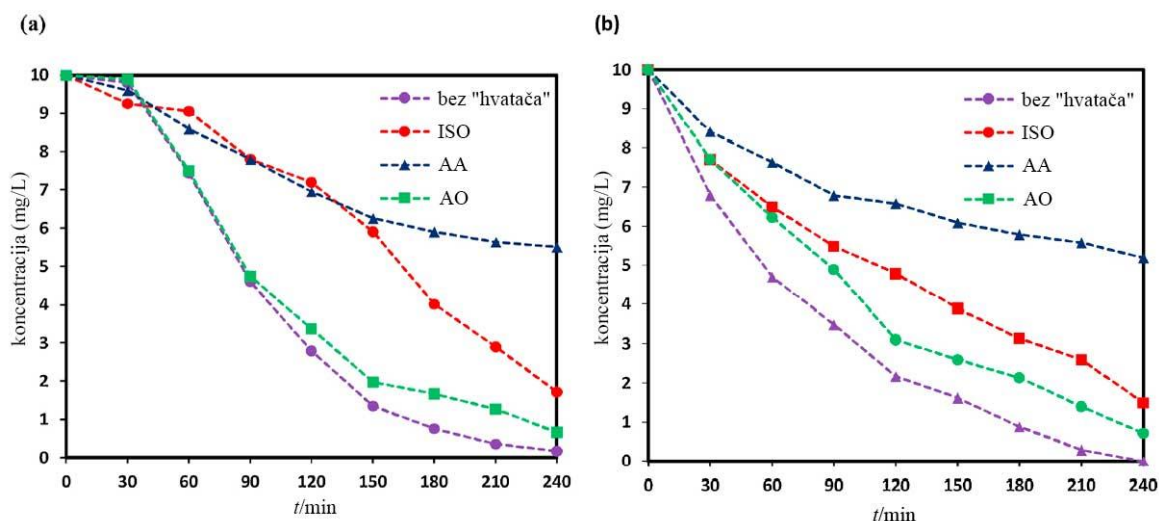
U istraživanju [30] ispitana je fotokatalitička razgradnja trimetoprima sintetiziranim katalizatorima S-TiO<sub>2</sub> i Ru/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub>. Oba fotokatalizatora su imobilizirana na kružnim aluminijskim pločama polisiloksanom. Kao izvor zračenja korištena je metalna halogenidna svjetiljka koja emitira vidljivo i UV zračenje. U preliminarnim ispitivanjima se pokazalo da

promjena pH-vrijednosti nema značajan utjecaj na razgradnju trimetoprima te su daljnji eksperimenti provedeni bez podešavanja pH-vrijednosti. Produkti transformacije nastali tijekom oksidacije trimetoprima detektirani su tekućinskom kromatografijom vezanom sa spektrometrijom masa (LC-MS).

Elektroni u vodljivoj vrpci reagiraju s kisikom čime nastaju superoksidni radikali, dok šupljine u valentnoj vrpci reagiraju s vodom ili hidroksilnim ionima čime nastaju hidroksilni radikali. Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- izopropanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- amonijev oksalat kao „hvatač“ superoksidnih radikala,
- askorbinska kiselina kao „hvatač“ šupljina.

Učinkovitost razgradnje 10 mg/L trimetoprima pomoću S-TiO<sub>2</sub> bila je 98,2 % bez dodatka „hvatača“ aktivnih vrsta. Dodatkom 1 mM izopropanola, amonijeva oksalata i askorbinske kiseline učinkovitost razgradnje smanjila se na redom 82,8 %, 93,3 % i 44,9 %. Učinkovitost razgradnje 10 mg/L trimetoprima pomoću Ru/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub> bila je 100 % bez dodatka „hvatača“ radikala te se dodatkom 1 mM izopropanola, amonijeva oksalata i askorbinske kiseline smanjila na 85 %, 92,9 % i 48 %. Ovi rezultati koji su vidljivi i na Slikama 8. a) i b), pokazuju da sve tri vrste, hidroksilni radikali, superoksidni radikali i šupljine, doprinose procesu razgradnje trimetoprima. Međutim, šupljine doprinose znatno više nego hidroksilni i superoksidni radikali.



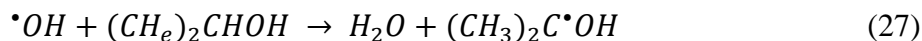
Slika 8. Utjecaj dodatka „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju s: a) S-TiO<sub>2</sub>, b) Ru/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub>; ISO – izopropanol, AA – askorbinska kiselina, AO – amonijev oksalat [30]

Dugandžić i sur. [31] istraživali su fotokatalitičku razgradnju nikosulfurona, koristeći  $\text{TiO}_2$  kao katalizator pod UV zračenjem. Dodatkom otopina NaOH ili HCl podešavana je pH-vrijednost uzoraka. Za identifikaciju razgradnih produkata tijekom fotokatalitičke razgradnje korištena je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC) vezana sa spektrometrijom masa (HPLC-MS). Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

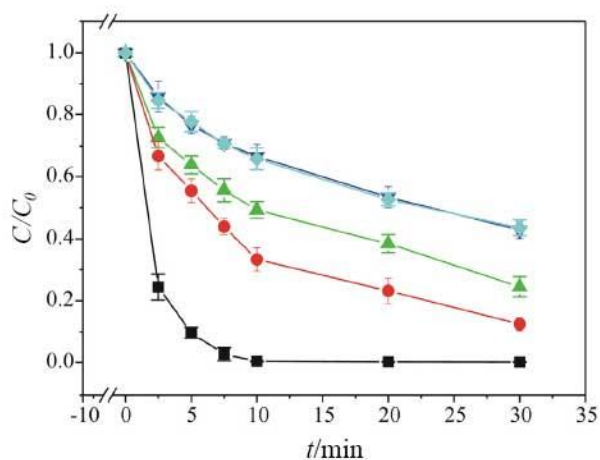
- izopropanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- natrijev fluorid koji se snažno adsorbira na površinu  $\text{TiO}_2$  i time sprječava nastajanje hidroksilnih radikala na površini fotokatalizatora,
- vodikov peroksid kao „hvatač“ hidroksilnih radikala, elektrona i šupljina.

Također, u radu je ispitan utjecaj acetona koji može djelovati kao fotosenzibilizator, pri čemu kroz niz reakcija nastaju hidroksilni radikali, ili kao inhibitor razgradnje s obzirom da se i sam razgrađuje pa dolazi do kompeticije između razgradnje acetona i organske molekule.

Izopropanol je relativno selektivan i rutinski se koristi kao „hvatač“ hidroksilnih radikala. Mehanizam reakcije prikazan je u reakciji (27):



Kako bi se ispitala uloga hidroksilnih radikala korištene su različite koncentracije izopropanola (0,1 – 20 mM). Dodatak male količine (0,1 mM) značajno usporava razgradnju nikosulfurona. Daljnje povećanje koncentracije još više usporava razgradnju. To ukazuje na to da hidroksilni radikali imaju bitnu ulogu u fotorazgradnji nikosulfurona. Značajno povećanje koncentracije, s 0,5 mM na 20 mM, ne pokazuje daljnju inhibiciju razgradnje, što je vidljivo i na Slici 9.

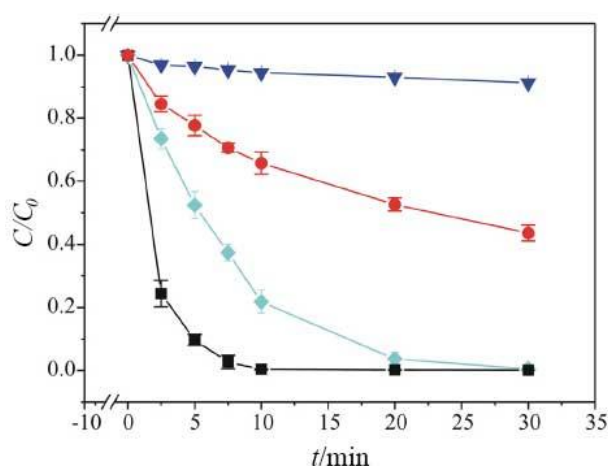


Slika 9. Utjecaj dodatka izopropanola na fotokatalitičku razgradnju nikosulfurona;

■ – 0 mM, ● – 0,1 mM, ▲ – 0,3 mM, ▼ – 0,5 mM, ◆ - 20 mM [31]



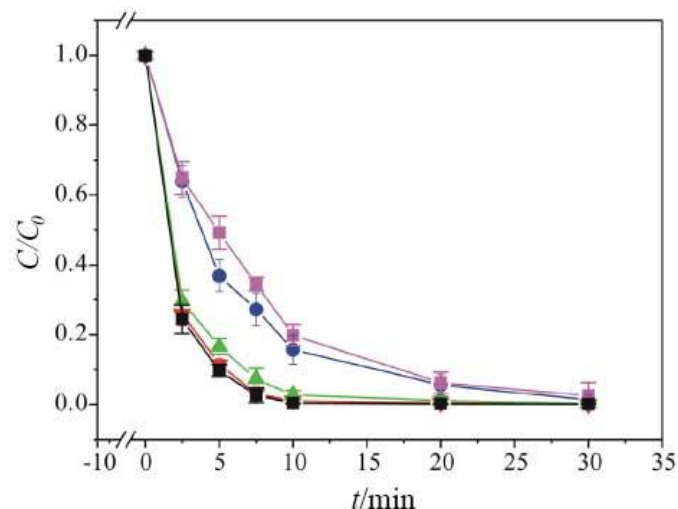
Na Slici 10. vidi se razlika u dodatku natrijeva fluorida i izopropanola. Izopropanol, kao „hvatač“ hidroksilnih radikala, uobičajeno se koristi kako bi se utvrdilo je li razgradnja rezultat izravne oksidacije pozitivnim šupljinama ili reakcije s hidroksilnim radikalima u otopini. S druge strane, fluoridni ioni se dobro adsorbiraju na površinu fotokatalizatora i na taj način inhibiraju stvaranje hidroksilnih radikala na površini  $\text{TiO}_2$ . Stoga, u prisutnosti fluoridnih iona, razgradnja je uglavnom rezultat reakcije s hidroksilnim radikalima prisutnim u reakcijskoj otopini. Dodatkom iste koncentracije izopropanola i natrijeva fluorida, veća inhibicija je vidljiva dodatkom izopropanola, što ukazuje na hidroksilne radikale u otopini kao primarne u procesu razgradnje. Istovremenim dodatkom natrijeva fluorida i izopropanola došlo je do potpune inhibicije razgradnje.



Slika 10. Utjecaj dodatka natrijeva fluorida i izopropanola;

- – bez dodatka, ◆ - 20 mM natrijeva fluorida, ● – 20 mM izopropanola,
- ▼ – 20 mM natrijeva fluorida i izopropanola [31]

Utjecaj acetona na razgradnju nikosulfurona proučavan je mijenjanjem koncentracije acetona od 0,1 mM – 1 mM. Na Slici 11. se može vidjeti da dodatkom male količine acetona (0,1 mM) dolazi do inhibicije razgradnje. Povećanjem koncentracije brzina reakcije raste te je brzina reakcije kada je koncentracija acetona 1 mM jednaka brzini reakcije u odsutnosti acetona. Očito je da mala količina acetona inhibira razgradnju nikosulfurona dok povećanje koncentracije povećava količinu hidroksilnih radikala i time povećava brzinu reakcije.

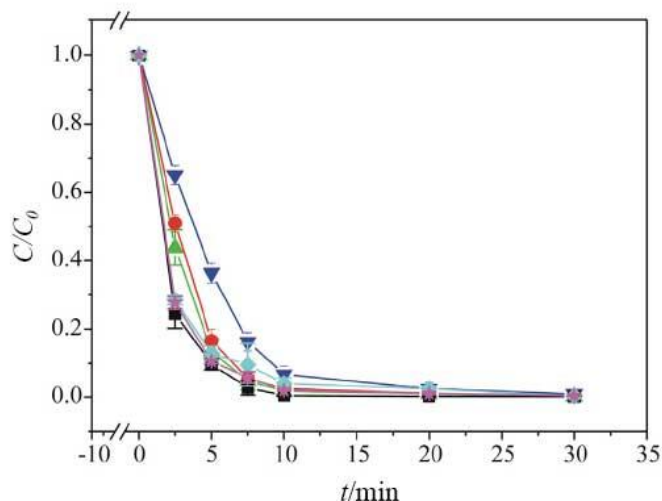


Slika 11. Utjecaj dodatka acetona na razgradnju nikosulfurina;

■ – bez acetona, ● – 1 mM, ▲ – 0,5 mM, ● – 0,3 mM, ■ – 0,1 mM [31]

Dodatak elektron akceptora, poput vodikova peroksida, može spriječiti rekombinaciju elektrona i šupljina. Elektron akceptori mogu povećati brzinu fotokatalitičke razgradnje onečišćujućih tvari. S druge strane, vodikov peroksid može biti „hvatač“ hidroksilnih radikala i šupljina valentne vrpce. Reakcijom vodikova peroksida s hidroksilnim radikalima ili sa šupljinama dolazi do nastanka hidroperoksid radikala koji je slabiji oksidans u odnosu na hidroksilne radikale. Osim toga, hidroperoksid radikal reagira s hidroksilnim radikalima čime se stvaraju voda i kisik.

Koncentracija dodanog vodikova peroksida povećavana je od 0 mM – 10 mM, a rezultati su vidljivi na Slici 12. Već dodatkom male koncentracije (0,1 mM) primjećuje se smanjenje brzine reakcije, dok se kod većih koncentracija jasno vidi inhibicija reakcije. To pokazuje da je vodikov peroksid inhibitor, a ne ubrzivač fotokatalitičke razgradnje nikosulfurona.



Slika 12. Utjecaj dodatka vodikova peroksida na razgradnju nikosulfurona;

- – bez vodikova peroksida, ◆ – 0,1 mM, ◆ – 0,25 mM, ▲ – 2,5 mM, ● – 5,0 mM,  
▼ – 10 mM [31]

Krajnji zaključak ovog rada je da hidroksilni radikali najviše doprinose fotorazgradnji nikosulfurona. Reakcija je inhibirana i dodatkom acetona i dodatkom vodikova peroksida. Također, istovremeni dodatak natrijevog fluorida i izopropanola je potpuno inhibirao fotokatalitičku reakciju.

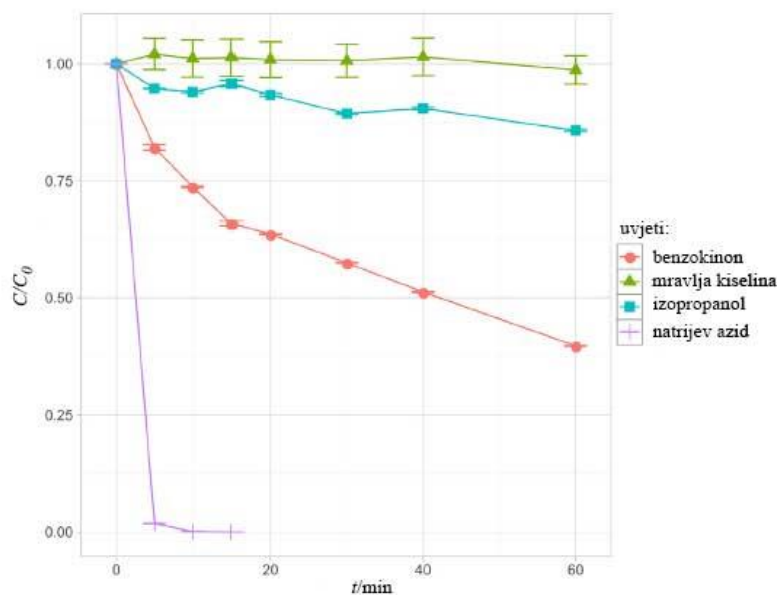
Trawiński i Skibiński [32] su proučavali fotokatalitičku razgradnju klozapina pod simuliranim Sunčevim zračenjem uz  $\text{TiO}_2$  kao fotokatalizator. Koristili su uglavnom P25- $\text{TiO}_2$ , koji se sastoji od 75 % anatasa i 25 % rutila. Proveli su eksperimente u ultračistoj te u riječnoj vodi. Za analizu uzoraka koristili su tekućinsku kromatografiju ultra visoke djelotvornosti pri čemu je korišten kvadripol vezan s analizatorom koji mjeri vrijeme leta (UHPLC-Q/TOF). Identificirali su trinaest razgradnih produkata te su njihove strukture odredili spektrometrijom masa visoke razlučivosti (HR-MS). Također su otkrili da su ti produkti uglavnom manje toksični i bolje biorazgradivi od klozapina.

U ispitivanju utjecaja različitih „hvatača“ aktivnih vrsta, pH-vrijednost je u gotovo svim slučajevima bila oko 7,0, osim kod ispitivanja „hvatača“ pozitivnih šupljina kada je pH-vrijednost bila 3,14 zbog dodatka mravlje kiseline. Kao „hvatači“ su korišteni:

- izopropanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala, koncentracije 1 M,
- benzokinon kao „hvatač“ superoksidnih radikala, koncentracije 1 mM,
- mravlja kiselina kao „hvatač“ šupljina, koncentracije 20 mM,

- natrijev azid kao „hvatač“ singletnog kisika, koncentracije 5 mM.

Na Slici 13. može se vidjeti da je dodatak izopropanola snažno inhibirao razgradnju klozapina, što je bilo i očekivano jer su hidroksilni radikali obično glavne vrste odgovorne za razgradnju onečišćujućih tvari tijekom naprednih oksidacijskih procesa. Nakon sat vremena eksperimenta razgradilo se samo 14 % klozapina.

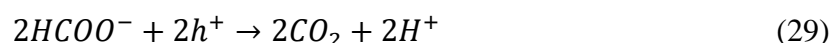


Slika 13. Utjecaj različitih „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju klozapina [32]

Dodatak benzokinona također je usporio razgradnju iako manje nego izopropanol što znači da su superoksidni radikali uključeni u proces razgradnje, ali ne u tolikoj mjeri. Reakcija je prikazana u reakciji (28):



Najzanimljiviji rezultat dobiven je dodatkom mravlje kiseline koja je „hvatač“ pozitivnih šupljina te je njihova reakcija prikazana u reakciji (29):



S obzirom da prisutnost mravlje kiseline utječe na sve procese ovisne o aktivnosti šupljina  $h^+$ , stvaranju hidroksilnih radikala, singletnog kisika te izravne oksidacije molekula na površini katalizatora, jasni su rezultati vidljivi na Slici 13. Razgradnja klozapina je gotovo u potpunosti zaustavljena, što znači da hidroksilni radikali nisu jedini odgovorni za proces razgradnje.

Uloga singletnog kisika ispitana je dodatkom natrijevog azida. Ioni  $N_3^-$  reagiraju sa singletnim kisikom prema reakciji (30):



Na Slici 13. vidljivo je da je dodatkom natrijeva azida razgradnja klozapina toliko brza da početni spoj gotovo nije bilo moguće detektirati već nakon 5 minuta ozračivanja. Brža razgradnja u odnosu na eksperiment bez natrijevog azida potencijalno se može objasniti aktivnošću superoksidnih radikala ili azidnih radikala ( $N_3^{\bullet}$ ). Prvo objašnjenje je manje vjerojatno jer klozapin nije jako osjetljiv na superoksidne radikale te je do ubrzane razgradnje vjerojatno došlo zbog djelovanja azidnih radikala koji su jaki oksidansi.

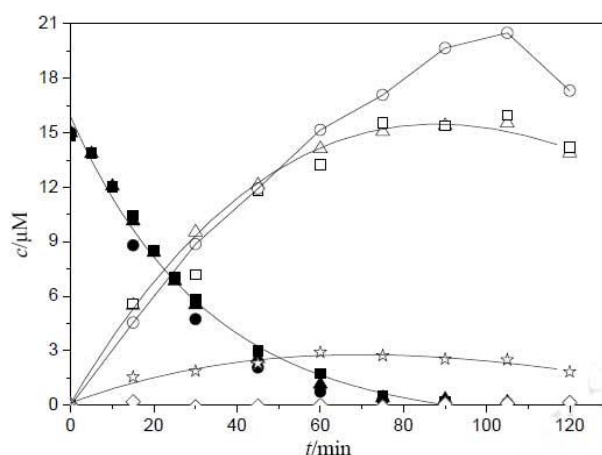
Sveukupni rezultati ukazuju da su u  $TiO_2$  fotokatalitičkoj razgradnji klozapina najvažnije aktivne vrste hidroksilni radikali te šupljine. Bitnu ulogu imaju i superoksidni radikali, a singletni kisik zapravo usporava razgradnju što je potvrđeno dodatkom njegova „hvatača“ pri čemu on prelazi u superoksidni radikal i razgradnja je brža.

Rodríguez i sur. [33] istraživali su utjecaj različitih „hvatača“ aktivnih vrsta na  $TiO_2$ /UVA fotokatalitičku razgradnju ofloksacina u vodi. Koncentracija ofloksacina određena je pomoću HPLC-DAD. Razgradni produkti određeni su tekućinskom kromatografijom vezanom sa spregnutom spektrometrijom masa pri čemu je korišten kvadripol vezan s analizatorom koji mjeri vrijeme leta uz ionizaciju elektroraspršenjem (LC-ESI-QTOF). Ispitivanja su provedena s 15  $\mu$ M ofloksacina uz 0,1 g/L  $TiO_2$ , pri pH-vrijednosti 7 sa  $HClO_4/ClO_4^-$  uz aeriranje reakcijske smjese. Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- *tert*-butanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- izopropanol, jodid i oksalat kao „hvatači“ šupljina,
- *p*-benzokinon i tiron (dinatrijev 4,5-dihidroksibenzen-1,3-disulfonat) kao „hvatači“ superoksidnih radikala,
- azid kao „hvatač“ singletnog kisika.

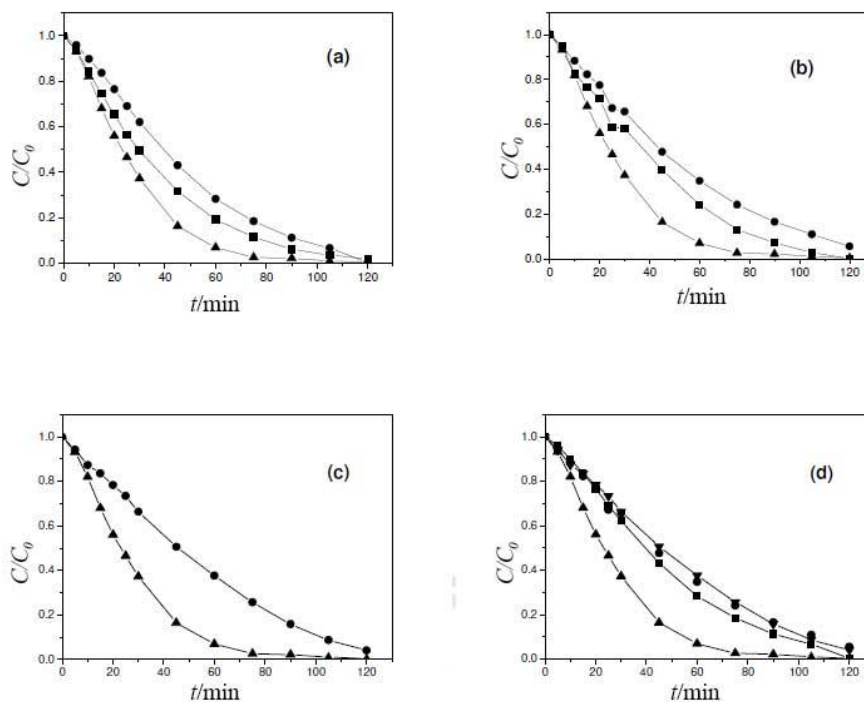
Na Slici 14. je prikazan učinak dodatka 0,01 M i 0,1 M *tert*-butanola na fotokatalitičku oksidaciju ofloksacina. Učinak je praktički zanemariv što je potvrdilo hipotezu znanstvenika da sudjelovanje hidroksilnih radikala u uklanjanju ofloksacina nije bitno. Vidi se i kako *tert*-butanol prvih 60 min nije utjecao na brzinu stvaranja vodikova peroksida. Međutim, nakon 60 min povećanje koncentracije *tert*-butanola vodi i do povećanja koncentracije vodikova peroksida. Vjerojatno objašnjenje tomu je potpuna razgradnja ofloksacina te

stvaranje hidroksilnih radikala i njihovo sudjelovanje u oksidaciji alkohola čime se stvara vodikov peroksid.



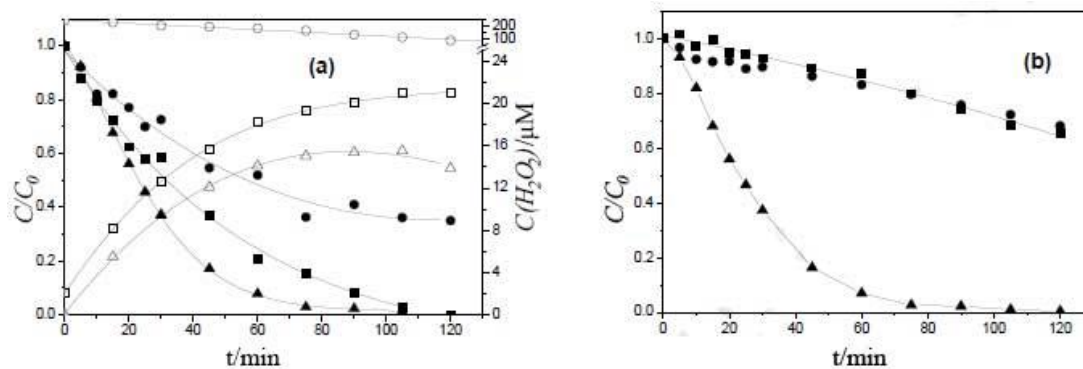
Slika 14. Utjecaj dodatka *tert*-butanola; ispunjeni simboli – utjecaj na ofloksacin, prazni simboli – utjecaj na vodikov peroksid; početna koncentracija ofloksacina 15  $\mu\text{M}$ ;  
 ▲, △ – kontrola s ofloksacinom, ■, □ – 0,01 M *tert*-butanol,  
 ●, ○ – 0,1 M *tert*-butanol, ☆ – 0,1 M *tert*-butanol bez ofloksacina [33]

Moguće sudjelovanje šupljina u fotokatalizi ofloksacina ispitano je u prisutnosti elektron donorskih molekula, izopropanola, jodida (kalijev jodid) i oksalata. Na Slici 15. a) prikazan je utjecaj dodatka 0,1 M i 0,25 M izopropanola. Izopropanol izaziva inhibiciju razgradnje ofloksacina te se inhibicija povećava s povećanjem koncentracije izopropanola. Vjerojatno objašnjenje je da se izopropanol adsorbira na  $\text{TiO}_2$  i/ili sudjeluje u reakciji sa šupljinama čime smanjuje interakciju između ofloksacina i fotoaktivnih centara. Na Slici 15. b) vidljiv je utjecaj dodatka  $3 \cdot 10^{-4}$  M kalijeva jodida u odsustvu i prisustvu 0,1 M *tert*-butanola. Dodatkom kalijeva jodida dolazi do inhibicije razgradnje ofloksacina, što je još više izraženo istovremenim dodatkom *tert*-butanola. Na Slici 15. c) prikazan je utjecaj dodatka  $10^{-3}$  M oksalata. Njegov dodatak također izaziva inhibiciju razgradnje što dodatno potvrđuje sudjelovanje pozitivnih šupljina u reakciji. Napravljena je i usporedba, na Slici 15. d), gdje je vidljiv utjecaj 0,25 M izopropanola,  $3 \cdot 10^{-4}$  M kalijeva jodida + 0,1 M *tert*-butanola te  $10^{-3}$  M oksalata. Vidi se da je razgradnja ofloksacina u sva 3 eksperimenta bila približno ista što znači da su u tim uvjetima sve pozitivne šupljine „zarobljene“.



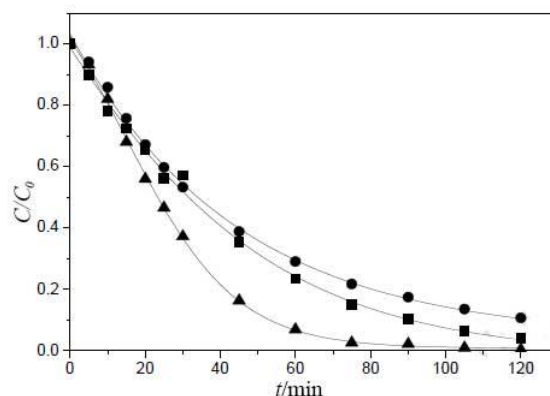
Slika 15. Utjecaj dodatka: a) izopropanola, ▲ kontrola, ■ 0,1 M, ● 0,25 M; b) kalijeva jodida, ▲ kontrola, ■  $3 \cdot 10^{-4}$  M, ●  $3 \cdot 10^{-4}$  M + 0,1 M *tert*-butanol; c) oksalata, ▲ kontrola, ●  $10^{-3}$  M; d) usporedba, ▲ kontrola, ■ 0,25 M izopropanol, ●  $3 \cdot 10^{-4}$  M + 0,1 M *tert*-butanol, ▼  $10^{-3}$  M oksalat [33]

Dodatak *p*-benzokinona i tirona (natrijev-1,2-dihidroksibenzen-3,5-disulfonat) prikazan je na Slici 16. Vidljivo je da dodatak  $20 \mu\text{M}$  and  $10^{-3}$  M *p*-benzokinona smanjuje razgradnju ofloksacina što ukazuje na to da superoksidni radikali sudjeluju u procesu razgradnje. Uz dodatak  $20 \mu\text{M}$  tirona dodano je ili 0,1 M *tert*-butanola ili 0,25 M izopropanola. Bez obzira na to koji je alkohol upotrijebljen, tiron značajno inhibira razgradnju ofloksacina što potvrđuje vrlo bitnu ulogu superoksidnih radikala u razgradnji.



Slika 16. Utjecaj dodatka: a) *p*-benzokinona, ▲ kontrola, ■ 20  $\mu M$ , ●  $10^{-3}$  M; b) tirona, ▲ kontrola, ■ 20  $\mu M$  tiron + 0,1 M *tert*-burtanol, ● 20  $\mu M$  tiron + 0,25 M izopropanol; ispunjeni simboli – utjecaj na ofloksacin, prazni simboli – utjecaj na vodikov peroksid [33]

Azid je vrlo reaktivan sa singletnim kisikom te njihova reakcija stvara azidni radikal i superoksidni radikal. Osim toga, azid je vrlo reaktivan i s hidroksilnim radikalima pri čemu se stvara azidni radikal i hidroksilni anion. Azidni ion se može adsorbirati na površinu  $TiO_2$  i ponašati se kao elektron donor u reakciji s pozitivnim šupljinama kako bi opet nastao azidni radikal. Stoga se negativan učinak natrijeva azida na fotokatalitičku razgradnju može pripisati „gašenju“ različitih vrsta, ne samo singletnog kisika. Kako bi se to izbjeglo ispitivanja dodatka 0,01 M natrijeva azida provedena su u odsustvu i prisustvu 0,25 M izopropanola. Rezultati su vidljivi na Slici 17. Tijekom prvih 10 min reakcije nema razlike u rezultatima u odnosu na kontrolno ispitivanje. Pri duljim reakcijskim vremenima dolazi do blage inhibicije razgradnje ofloksacina što se dodatno pojačava u prisutnosti izopropanola. Dakle, singletni kisik sudjeluje u razgradnji ofloksacina, međutim s obzirom na veliku reaktivnost natrijeva azida kao što je prethodno objašnjeno, postoji mogućnost da njegova uloga nije toliko bitna.



Slika 17. Utjecaj dodatka azida, ▲ kontrola, ■ 0,01 M azid, ● 0,01 M azid + 0,25 M izopropanol [33]



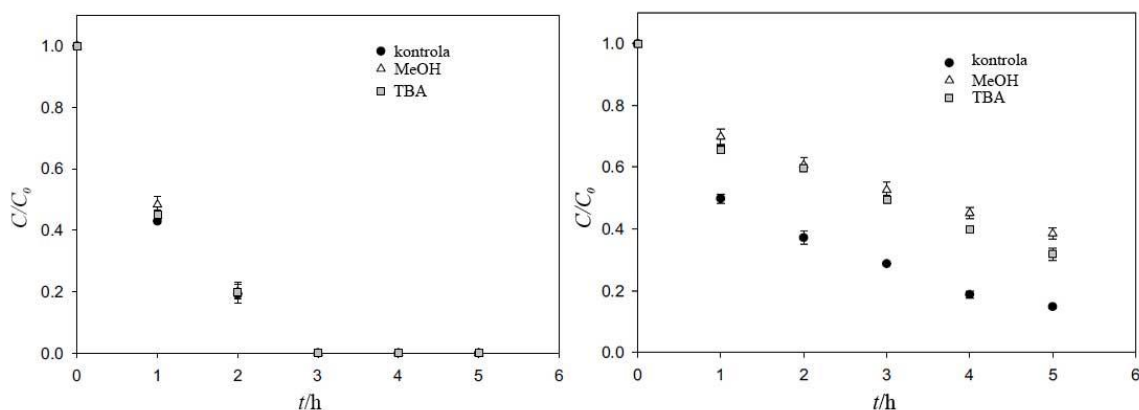
Zaključak rada je da su glavne vrste uključene u fotokatalitičku razgradnju ofloksacina superoksidni radikali i pozitivne šupljine.

Pelaez i sur. [34] su istraživali kako različiti „hvatači“ aktivnih vrsta utječu na različite reaktivne vrste kisika (eng. *reactive oxygen species*, ROS) pri razgradnji hepatotoksina, mikrocistina-LR (MC-LR) u vodi. Ispitivanja su provedena fotokatalizom aktiviranom zračenjem u vidljivom području koristeći TiO<sub>2</sub> modificiran dušikom i fluorom (NF-TiO<sub>2</sub>). Nitratna kiselina je korištena za podešavanje pH-vrijednosti u eksperimentima provedenim u kiselom pH-području, a kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- metanol i *tert*-butanol kao „hvatači“ hidroksilnih radikala,
- 1,4-benzokinon i superoksid dismutaza kao „hvatači“ superoksidnih radikala,
- bakrov(II) nitrat kao „hvatač“ elektrona,
- mravlja kiselina kao „hvatač“ šupljina,
- katalaza iz goveđe jetre kao „hvatač“ vodikova peroksida,
- L-histidin kao „hvatač“ singletnog kisika i hidroksilnih radikala.

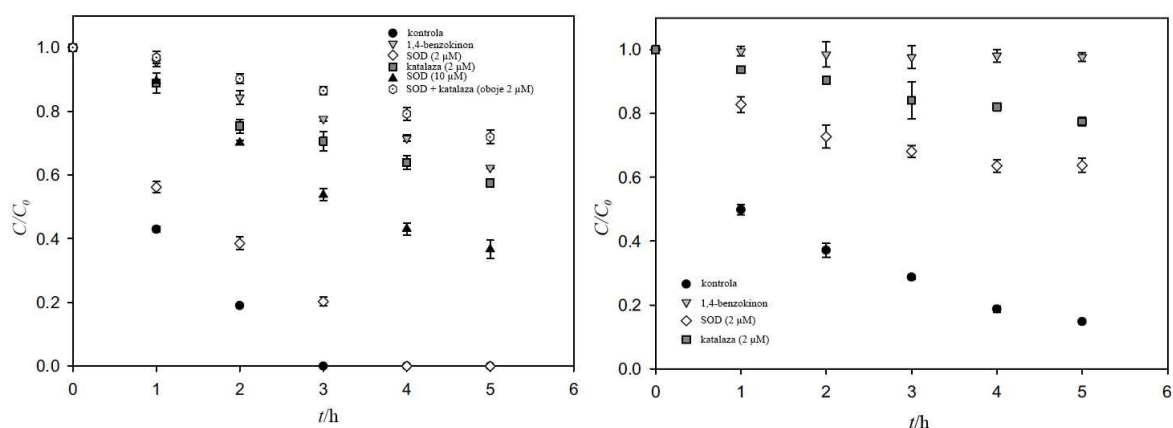
Nadalje, korišten je deuterijev oksid (D<sub>2</sub>O) za produljenje života singletnog kisika. Svi „hvatači“ su bili koncentracije 5000 μM, osim superoksid dismutaze i katalaze (2 μM i 10 μM). Koncentracija MC-LR bila je 0,5 ± 0,1 μM, a kao matrica je korištena Milli Q voda. Uzorci su analizirani tekućinskom kromatografijom.

Na Slici 18. prikazan je utjecaj dodatka metanola i *tert*-butanola čime je ispitana uloga hidroksilnih radikala. Ispitivanja su provedena pri pH-vrijednosti 3,0 i 5,7. Dodatak 5 mM metanola i *tert*-butanola pri pH-vrijednosti 3,0 nije doveo do značajne inhibicije razgradnje MC-LR što znači da hidroksilni radikali nemaju bitnu ulogu u razgradnji. Pri pH-vrijednosti 5,7 uočena je djelomična inhibicija razgradnje MC-LR te pri ovim uvjetima hidroksilni radikali imaju ulogu u razgradnji.



Slika 18. Utjecaj dodatka metanola i *tert*-butanola na razgradnju MC-LR pri pH-vrijednosti 3,0 (lijevo) i 5,7 (desno) [34]

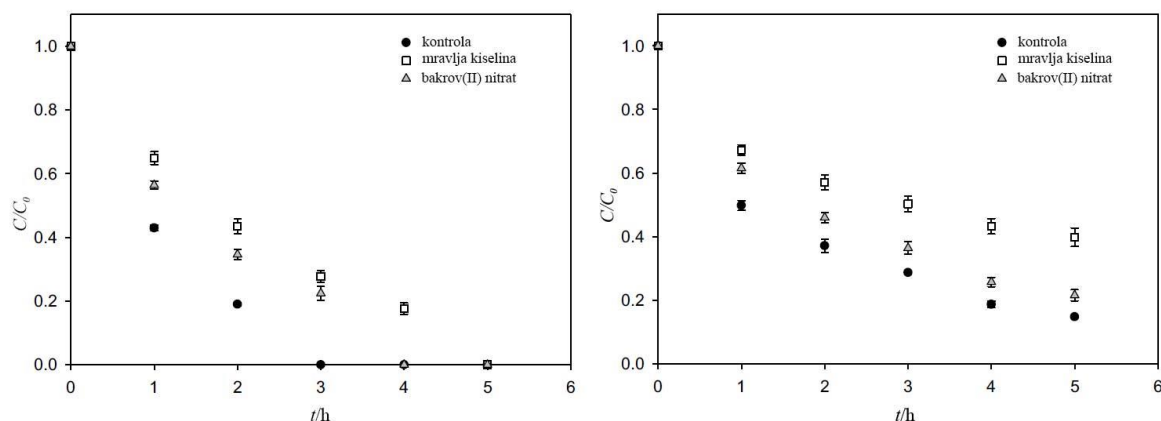
Inhibicija razgradnje MC-LR pri pH-vrijednosti 3,0 povećala se s povećanjem koncentracije superoksid dismutaze sa 2  $\mu\text{M}$  na 10  $\mu\text{M}$ , što je i vidljivo na Slici 19. Značajna inhibicija primjećena je i s dodatkom 1,4-benzokinona. Ovakvi rezultati ukazuju na bitnu ulogu superoksidnih radikala u ovoj fotokatalizi. Najveća inhibicija je postignuta istovremenim dodatkom superoksid dismutaze i katalaze, oboje koncentracije 2  $\mu\text{M}$ . Superoksid dismutaza katalizira pretvorbu superoksidnih radikala u vodikov peroksid i kisik, a katalaza pretvara vodikov peroksid u vodu i kisik. Pri pH-vrijednosti 5,7 uz dodatak 1,4-benzokinona došlo je do potpune inhibicije što je dodatna potvrda bitne uloge superoksidnih radikala. Dodatak superoksid dismutaze i katalaze također potiče veću inhibiciju pri pH-vrijednosti 5,7.



Slika 19. Utjecaj dodatka superoksid dismutaze (SOD) i 1,4-benzokinona na razgradnju MC-LR pri pH-vrijednosti 3,0 (lijevo) i 5,7 (desno) [34]

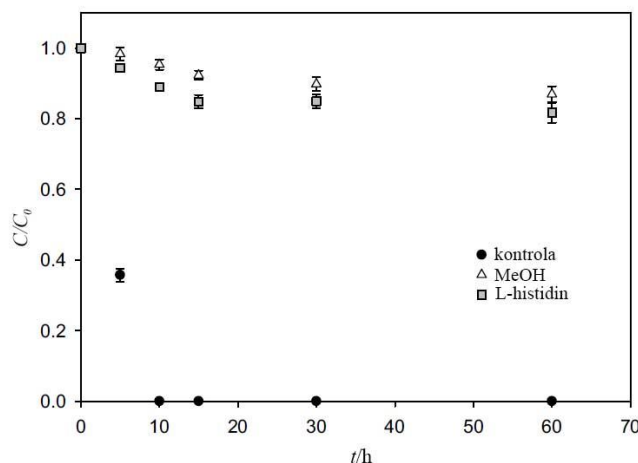
Kako bi se ispitala uloga singletnog kisika provedena su ispitivanja s deuterijevim oksidom kao otapalom. Reakcije singletnog kisika su značajno brže u deuterijevom oksidu nego u vodi. Razlika je u tome što je vrijeme života singletnog kisika u deuterijevom oksidu 55  $\mu\text{s}$ , a u vodi je 4,2  $\mu\text{s}$ . Učinkovitost fotokatalitičke razgradnje MC-LR bila je nešto bolja u deuterijevom oksidu nego u vodi.

Kako bi se odredila uloga elektrona i šupljina u fotokatalizi upotrijebljeni su bakrov(II) nitrat i mravlja kiselina, a rezultati su vidljivi na Slici 20. Primjećena je djelomična inhibicija razgradnje MC-LR kod obje ispitivane pH-vrijednosti. Dodatkom bakrova(II) nitrata dolazi do adsorpcije  $\text{Cu}^{2+}$  na NF-TiO<sub>2</sub> što smanjuje redukciju kisika i djelomično inhibira nastajanje reaktivnih vrsta kisika i uklanjanje MC-LR. Dodatak mravlje kiseline inhibirao je fotooksidaciju te je inhibicija razgradnje MC-LR bila manja nego u prisustvu bakrova(II) nitrata.



Slika 20. Utjecaj dodatka mravlje kiseline i bakrova(II) nitrata na razgradnju MC-LR pri pH-vrijednosti 3,0 (lijevo) i 5,7 (desno) [34]

Znanstvenici su proveli fotokatalitičku razgradnju i pod UV-vidljivim zračenjem (Slika 21.). Ispitivanje je provedeno pri pH-vrijednosti 5,7 te je upotrebom UV-vidljivog zračenja postignuto značajno brže uklanjanje MC-LR nego upotrebom samo zračenja u vidljivom području. Mogući razlog tome je potencijalno stvaranje hidroksilnih radikala pod UV-vidljivim zračenjem. Prisutnost metanola i L-histidina pokazala je vrlo visoku inhibiciju razgradnje, pri čemu je metanol „hvatač“ hidroksilnih radikala, a L-histidin „hvatač“ hidroksilnih radikala i singletnog kisika. Visoka inhibicija razgradnje upućuje na hidroksilne radikale kao primarne reaktivne vrste kisika sa NF-TiO<sub>2</sub> pod UV-vidljivim zračenjem.



Slika 21. Utjecaj dodatka metanola i L-histidina na razgradnju MC-LR pod UV-vidljivim zračenjem pri pH-vrijednosti 5,7 [34]

U ovom istraživanju se pokazalo da u razgradnji mikrocistina-LR pod djelovanjem zračenja u vidljivom području vrlo bitnu ulogu imaju superoksidni radikali. Međutim, ako se koristi UV zračenje bitniju ulogu imaju hidroksilni radikali.

Modificirani  $TiO_2$  katalizatori su vrlo zanimljivi jer mogu potaknuti učinkovitu separaciju elektrona i šupljina te značajno poboljšati fotokatalitička svojstva  $TiO_2$ . Uloga reaktivnih vrsta kisika ispitana je u radu [35] koristeći  $TiO_2$ ,  $TiO_2/Pt$  0,5 % (m/m) i  $TiO_2/Ag$  10 % (m/m). Ispitivanje je provedeno na dikloroctenoj kiselini. Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- benzokinon kao „hvatač“ superoksidnih radikala, 1 g/L,
- *tert*-butanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala, 46,5 g/L,
- mravlja kiselina kao „hvatač“ hidroksilnih radikala i pozitivnih šupljina, 4 g/L.

Sva tri „hvatača“ su dodana u 1000 mg/L dikloroctenu kiselinu koja sadrži 0,3 g/L sintetiziranog katalizatora. Upotrijebljeno je UV/vidljivo zračenje.

Nakon 480 min zračenja, koristeći  $TiO_2$  kao katalizator, razgradilo se 71,4 % dikloroctene kiseline. Dodatkom benzokinona nije došlo do inhibicije što znači da superoksidni radikali ne sudjeluju u fotokatalitičkoj razgradnji. S druge strane, dodatkom *tert*-butanola i mravlje kiseline došlo je do potpune inhibicije. S obzirom da uloga pozitivnih šupljina nije toliko bitna zbog njihove niske adsorpcije, kao i to da je ista inhibicija uočena i

izdvajanjem hidroksilnih radikala zaključeno je da hidroksilni radikali imaju najbitniju ulogu u razgradnji dikloroetene kiseline kada se kao katalizator koristi  $\text{TiO}_2$ .

Nakon 420 min zračenja, koristeći  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  kao katalizator, došlo je do potpune razgradnje dikloroetene kiseline što odgovara poboljšanju fotokatalitičke aktivnosti od oko 34,6 % u odnosu na nemodificirani  $\text{TiO}_2$ . U ovome je slučaju dodatkom benzokinona došlo do značajne inhibicije razgradnje što znači da superoksidni radikali imaju bitnu ulogu u razgradnji dikloroetene kiseline. Do inhibicije razgradnje došlo je i dodatkom *tert*-butanola te mravlje kiseline. Superoksidni radikali imaju kritičnu ulogu u razgradnji kroz disproporcioniranje u vodikov peroksid i stvaranje hidroksilnih radikala. Kao što je već spomenuto, uloga šupljina je isključena te je očito da vrlo važnu ulogu u razgradnji imaju hidroksilni radikali. Kako bi to dodatno potvrdili znanstvenici su kvantificirali hidroksilne radikale uz „hvatače“ aktivnih vrsta. Dodatkom benzokinona došlo je do značajnog smanjenja fotokatalitičkog stvaranja hidroksilnih radikala što potvrđuje da se superoksidni radikali transformiraju u hidroksilne radikale. Njegovim dodatkom u otopini ostaje malo hidroksilnih radikala, a isti rezultat se pokazao dodatkom mravlje kiseline što znači da do stvaranja hidroksilnih radikala ne dolazi dodatkom benzokinona niti mravlje kiseline. Također, ovim postupkom dolazi do stvaranja 60,6 % više hidroksilnih radikala nego korištenjem nemodificiranog  $\text{TiO}_2$ . Moguće objašnjenje je transformacija superoksidnih radikala u hidroksilne radikale jer platina djeluje kao „zarobljivač“ elektrona, odnosno omogućuje da više elektrona bude dostupno za fotokatalitičku razgradnju.

Provedeno je i ispitivanje sa  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  katalizatorom kako bi se usporedilo različite aktivne vrste uključene u razgradnju ovisno o tome koji se plemeniti metal koristi za modifikaciju. Nakon 480 min zračenja razgradilo se 79,3 % dikloroetene kiseline čime je usporedivši s nemodificiranim  $\text{TiO}_2$  došlo do poboljšanja brzine razgradnje, ali rezultati su lošiji nego korištenjem  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  katalizatora. Dodatkom benzokinona ili *tert*-butanola dolazi do značajne inhibicije fotokatalitičke aktivnosti što znači da bitnu ulogu u razgradnji imaju hidroksilni radikali nastali transformacijom superoksidnih radikala. Mravlja kiselina je korištena kao „hvatač“ hidroksilnih radikala i pozitivnih šupljina, međutim znanstvenici su njenim dodatkom zabilježili anomalijsko ponašanje kod razgradnje kloroetene kiseline. Naime, kloroetena kiselina detektirana je kao reakcijski intermedijar upotrebom  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ , što nije primjećeno korištenjem  $\text{TiO}_2$  ili  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$ . S obzirom da se dodatkom mravlje kiseline

modificira razgradni put dikloroetene kiseline ona se ne može koristiti kao „hvatač“ kada se kao katalizator koristi  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ .

Korištenjem  $\text{TiO}_2$  katalizatora 100 % razgradnje kloroetene kiseline je postignuto hidroksilnim radikalima stvorenim iz reakcije između molekula vode i pozitivnih šupljina valentne vrpce. Budući da platina djeluje kao „zarobljivač“ elektrona korištenjem  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  katalizatora 78,2 % razgradnje je postignuto hidroksilnim radikalima stvorenim iz fotogeneriranih superoksidnih radikala. Korištenjem  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  katalizatora 64,9 % razgradnje je postignuto hidroksilnim radikalima stvorenim transformacijom superoksidnih radikala.

Bez obzira na to koji je katalizator korišten, zaključak je da su hidroksilni radikali glavna reaktivna vrsta odgovorna za razgradnju dikloroetene kiseline. Međutim, razgradnja korištenjem  $\text{TiO}_2$  je provedena uglavnom preko hidroksilnih radikala generiranih kroz pozitivne šupljine, dok su  $\text{TiO}_2$  katalizatori modificirani plemenitim metalima generirali hidroksilne radikale kroz pretvorbu superoksidnih radikala. Kvantifikacija hidroksilnih radikala kada su iz otopine uklonjeni superoksidni radikali pokazala je značajno smanjenje stvaranja hidroksilnih radikala te je stoga pretpostavljeno da su superoksidni radikali kritični u stvaranju hidroksilnih radikala korištenjem  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  i  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  katalizatora.

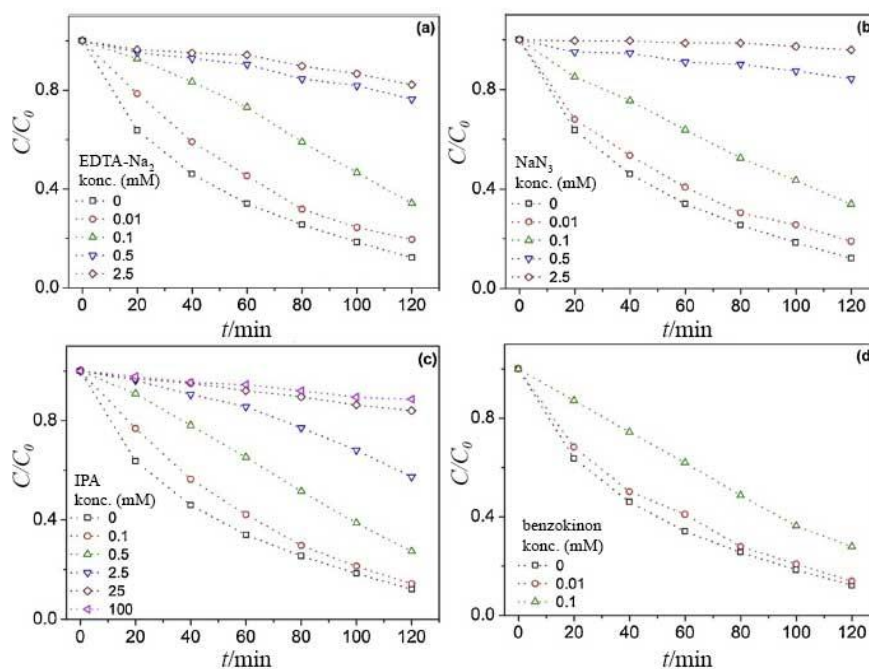
Znanstvenici su u radu [36] istraživali fotokatalitičku razgradnju metilenskog plavila i metiloranža nanočesticama. Iako se u ovome radu ne ispituje razgradnja farmaceutika, zanimljivo je vidjeti dobivene rezultate pogotovo jer se radi o fotokatalitičkoj razgradnji i modificiranom fotokatalizatoru. Također, ovakva istraživanja su jednostavnija u proučavanju rezultata jer dolazi do promjene u boji što je oku vidljiva promjena.

Poznato je da u procesu fotokatalize materijal fotokatalizatora ima vrlo važnu ulogu u iskorištenju svjetlosne energije za kemijske transformacije, bilo sinteze, bilo razgradnje molekule. Fotokatalizatori trebaju imati odgovarajuće položaje valentne i vodljive vrpce te zabranjenu zonu pogodnu za promicanje redoks reakcija kroz parove elektrona i šupljina. Te uvjete zadovoljavaju različiti oksidi prijelaznih metala pa tako i ZnO. Osim toga, metalne nanočestice stvaraju reaktivne vrste kisika s UV zračenjem čime promiču fotokatalitičke reakcije. Zato su u ovome radu znanstvenici odlučili koristiti *Au-ZnO core-shell* nanokompozitne čestice s kubičnom Au jezgrom i slojem ZnO kao fotokatalizatorom. Zračenje je provedeno korištenjem dvije UV svjetiljke i jedne ksenon svjetiljke.

Koncentracija boja bila je 40 – 50  $\mu\text{M}$ , a uzorci su pripremljeni u deioniziranoj vodi. Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- dinatrijeva sol EDTA ( $\text{EDTA-Na}_2$ ) kao „hvatač“ fotogeneriranih šupljina,
- natrijev azid kao „hvatač“ singletnog kisika i hidroksilnih radikala,
- izopropanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- *p*-benzokinon kao „hvatač“ superoksidnih radikala.

Na Slikama 22. a) – d) vidljiv je utjecaj svih dodanih „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju metilenskog plavila. Povećanjem koncentracije  $\text{EDTA-Na}_2$  sa 0,01 mM na 2,5 mM razgradnja boje se značajno smanjila, otprilike s 80 % na 20 %. To znači da fotogenerirane šupljine u valentnoj vrpici ZnO imaju važnu ulogu u procesu razgradnje boja. Šupljine mogu proizvesti hidroksilne radikale u reakciji s molekulama vode ili hidroksidnim ionima što znači da „hvatanje“ šupljina pomoću  $\text{EDTA-Na}_2$  može dovesti do suzbijanja stvaranja reaktivnih vrsta kisika. Ako je koncentracija  $\text{EDTA-Na}_2$  manja ili bliska koncentraciji boje, smanjenje učinkovitosti razgradnje je prilično nisko. Ako je pak koncentracija  $\text{EDTA-Na}_2$  jedan red veća nego koncentracija boje, učinkovitost razgradnje se znatno smanjuje i ograničena je na oko 20 %. Međutim, daljnje peterostruko povećanje koncentracije  $\text{EDTA-Na}_2$  pokazalo je samo malo veće smanjenje učinkovitosti razgradnje.



Slika 22. Utjecaj dodatka različitih „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju metilenskog plavila pod UV zračenjem, a)  $\text{EDTA-Na}_2$ , b) natrijev azid, c) izopropanol, d) benzokinon [36]

Utjecaj dodatka natrijeva azida vidljiv je na Slici 22. b). Povećanjem koncentracije natrijeva azida razgradnja boje je značajno smanjena. Takva inhibicija može biti posljedica sposobnosti azida da ukloni i singletni kisik i hidroksilne radikale. Kao i kod EDTA- $\text{Na}_2$  kada je koncentracija azida otprilike za jedan red veća od koncentracije boje dolazi do značajne inhibicije razgradnje.

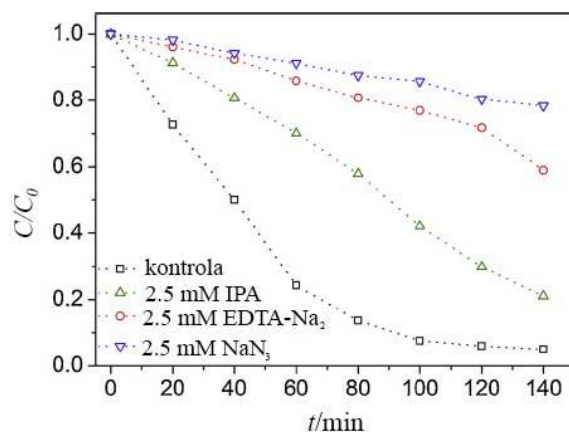
Sljedeći „hvatač“ čiji je utjecaj prikazan na Slici 22. c) je izopropanol. Njegov dodatak je rezultirao manjim utjecajem na smanjenje učinkovitosti razgradnje boja u usporedbi s EDTA- $\text{Na}_2$  i natrijevim azidom. Naime, pri koncentraciji od 2,5 mM učinkovitost razgradnje boja bila je ograničena na oko 40 %. Zbog toga su znanstvenici ispitali i učinak još veće koncentracije izopropanola te se pokazalo da kod viših koncentracija, 25 mM i 100 mM, izopropanol uzrokuje značajno smanjenje razgradnje boja.

Na zadnjoj slici, Slici 22. d), vidljiv je utjecaj dodatka benzokinona. Primjećeno je da se pri višim koncentracijama benzokinona (0,5 mM ili više) boja otopine boje s nanočesticama promijenila unutar 20 min zračenja. Zbog toga su rezultati dodatka ovog „hvatača“ prikazani samo do koncentracije 0,1 mM. Pri toj koncentraciji učinkovitost razgradnje se smanjila za 15 %.

Prema ovim rezultatima vidljivo je da hidroksilni radikali imaju vrlo važnu ulogu u razgradnji boja. Dodatkom EDTA- $\text{Na}_2$  koja „hvata“ šupljine dolazi do suzbijanja stvaranja hidroksilnih radikala. Natrijev azid i izopropanol mogu direktno „hvatati“ hidroksilne radikale te je njihovim dodatkom došlo do značajne inhibicije razgradnje.

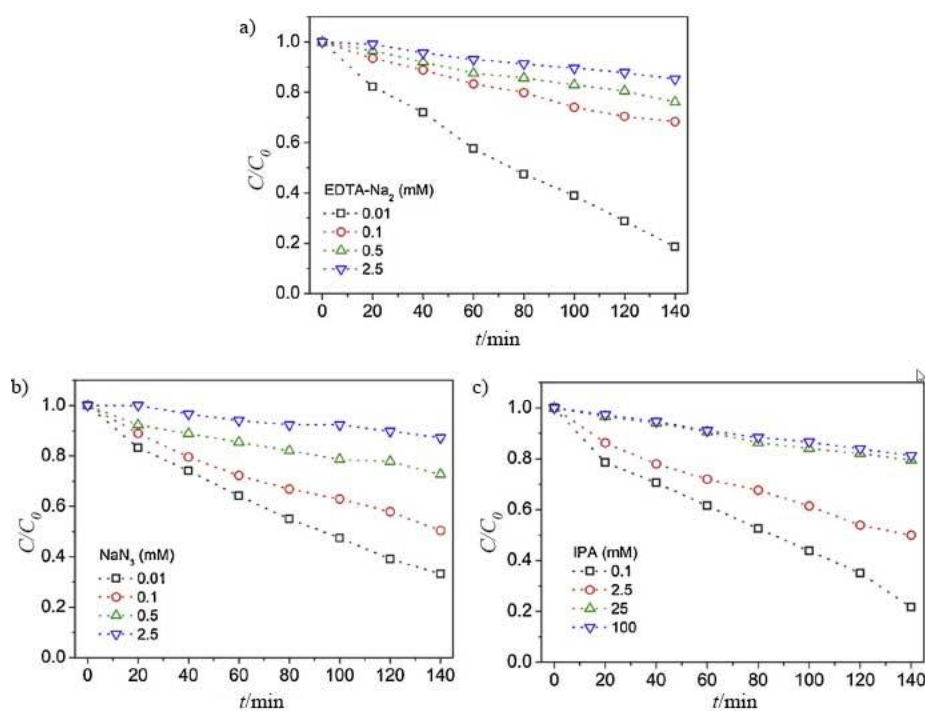
Za usporedbu su znanstvenici ispitali i fotokatalitičku razgradnju boje pod ksenonovom svjetiljkom što je vidljivo na Slici 23. Brzina razgradnje bez prisustva „hvatača“ bila je 1,5 puta veća nego korištenjem UV zračenja. Na istoj slici je prikazan i utjecaj različitih „hvatača“ koncentracije 2,5 mM. Dodatkom natrijeva azida, EDTA- $\text{Na}_2$  i izopropanola učinkovitost razgradnje boje je smanjena s 95 % na redom 12 %, 41 % i 80 %. Dakle, dodatkom azida je došlo do značajne inhibicije razgradnje, dok je učinak izopropanola bio nizak. Takav rezultat je sličan rezultatima dobivenim pod UV zračenjem. Usporedivši ove rezultate s rezultatima na Slici 22. vidljivo je da za istu koncentraciju „hvatača“ pod ksenonovom svjetiljkom dolazi do nešto manje inhibicije razgradnje nego kod UV svjetiljke.





Slika 23. Utjecaj dodatka „hvatača“ aktivnih vrsta na 50  $\mu\text{M}$  metilenskog plavila pod ksenonovom svjetiljkom; IPA – izopropanol,  $\text{NaN}_3$  – natrijev azid [36]

Na Slikama 24. a) – c) prikazan je utjecaj „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju metiloranža. EDTA- $\text{Na}_2$  i natrijev azid pokazali su jači utjecaj na inhibiciju razgradnje nego izopropanol. Pokazalo se da su učinci dodatka ovih „hvatača“ bili slični učincima opaženim za metilensko plavilo. Tako je zaključeno da je uloga reaktivnih vrsta kisika u razgradnji boja slična i za metilensko plavilo i za metiloranž, odnosno ključnu ulogu u procesu razgradnje obje boje imaju hidroksilni radikali.

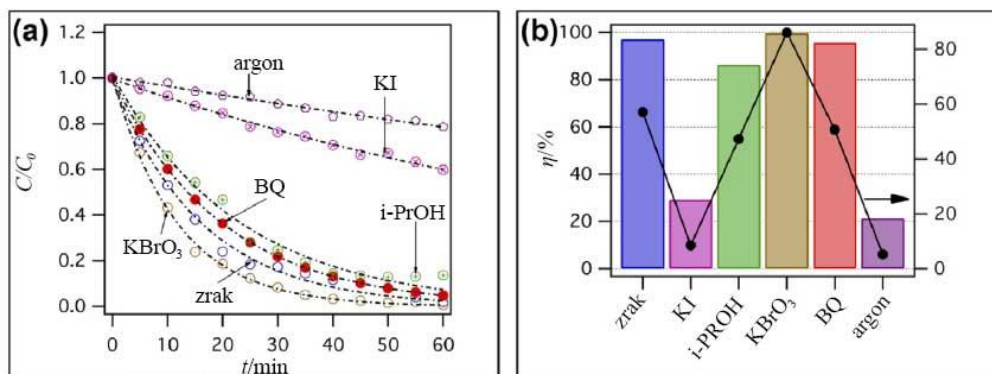


Slika 24. Utjecaj dodatka različitih „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju metiloranža;  $\text{NaN}_3$  – natrijev azid, IPA – izopropanol [36]

Makama i sur. [37] su proveli fotokatalitičku razgradnju ciprofloksacina koristeći porozni ZnO/SnS<sub>2</sub> fotokatalizator. Istražili su utjecaj različitih parametara na razgradnju, uključujući dodatak različitih „hvatača“ aktivnih vrsta. Otopine su pripravljene s deioniziranom vodom. Razgradni produkti su identificirani tekućinskom kromatografijom vezanom sa spregnutom spektrometrijom masa (LC-MS/MS). Doprinos elektrona, šupljina i reaktivnih vrsta kisika fotokatalitičkoj razgradnji ciprofloksacina određen je dodatkom „hvatača“ aktivnih vrsta u otopinu koja sadržava 40 mg/L ciprofloksacina:

- kalijev jodid kao „hvatač“ hidroksilnih radikala i pozitivnih šupljina,
- izopropanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- kalijev bromat kao „hvatač“ kisika,
- benzokinon kao „hvatač“ superoksidnih radikala.

Na Slici 25. a) vidi se kako je dodatak 10 mM kalijeva jodida značajno smanjio razgradnju ciprofloksacina (za 85,1 %) što znači da pozitivne šupljine i/ili hidroksilni radikali imaju ključnu ulogu u razgradnji. Dodatkom 0,01 M izopropanola dolazi do smanjenja razgradnje, ali ne u značajnoj mjeri što znači da hidroksilni radikali imaju manju ulogu u razgradnji. Očekivano je da će prisutnost otopljenog kisika tijekom fotokatalitičke oksidacije pospešiti transformaciju nekih tvari jer kisik „hvata“ fotogenerirane elektrone za nastajanje superoksidnih radikala. Da bi se istražili učinci otopljenog kisika, fotokatalitička oksidacija je proučavana sa i bez otopljenog kisika. Na Slici 25. a) se vidi utjecaj zasićenja zrakom i argonom te je očito kako otopljeni kisik ima vrlo važnu ulogu u razgradnji ciprofloksacina. Dodatak 1,0 mM kalijeva bromata u otopinu bez kisika uzrokuje poboljšanje razgradnje za 50,8 % što je vidljivo na Slici 25. b). Učinkovitost uklanjanja ciprofloksacina dosegla je 99,9 % nakon 40 min što ukazuje na to da kalijev bromat ima koristan učinak na razgradnju. To isključuje izravno sudjelovanje elektrona u procesu razgradnje i ukazuje na to da superoksidni radikali nemaju ključnu ulogu u razgradnji. Dodatkom 10 mM 1,4-benzokinona dolazi do djelomične inhibicije razgradnje što znači da superoksidni radikali imaju manju ulogu u razgradnji.



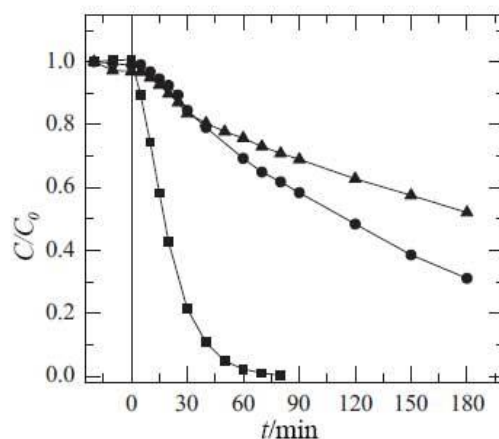
Slika 25. Utjecaj dodatka različitih „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju ciprofloksacina pod vidljivim zračenjem: a) promjena u koncentracijskom profilu ciprofloksacina i b) odstupanje u učinkovitosti uklanjanja nakon 60 min zračenja [37]

Prema ovim rezultatima moguće je da se oksidacijska razgradnja ciprofloksacina s poroznim  $\text{ZnO}/\text{SnS}_2$  katalizatorom može pripisati kombiniranom djelovanju izravne oksidacije šupljina i u manjoj mjeri oksidaciji površinskih hidroksilnih radikala i superoksidnih radikala. Veća inhibicija reakcije dodatkom kalijeva jodida u usporedbi s izopropanolom ukazuje na to da fotogenerirane šupljine imaju važniju ulogu u procesu od ostalih aktivnih vrsta.

Moreira i sur. [38] su istraživali uklanjanje trimetoprima iz vode primjenom UVA fotoelektro-Fenton procesa uz  $\text{Fe(III)}$  karboksilatne komplekse. Koristili su laboratorijski protočni reaktor, volumena 2,2 L, opremljen s dvostrukim složenim paraboličnim kolektorom i elektrokemijskom ćelijom koja se sastoji od dijamanta dopiranog borom (anoda) i ugljik-politetrafluoretilen katode. Uzorci su analizirani spektrofotometrijski. Korištena je otopina trimetoprima koncentracije  $68,9 \mu\text{M}$  ( $20,0 \text{ mg/L}$ ) u  $50 \text{ nM}$  natrijevom sulfatu. Kao „hvatači“ aktivnih vrsta korišteni su:

- D-manitol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala,
- natrijev azid kao „hvatač“ singletnog kisika.

Oba „hvatača“ su dodana u koncentraciji  $2 \text{ mM}$  u prethodno pripremljenu otopinu trimetoprima u natrijevu sulfatu, s  $35,8 \mu\text{M Fe}^{3+}$ , pri pH-vrijednosti 4,5. Rezultati, vidljivi na Slici 26., su pokazali da hidroksilni radikali imaju veoma važnu ulogu u razgradnji trimetoprima jer je dodatkom D-manitola značajno smanjena razgradnja. Dodatkom natrijeva azida primjećeno je još veće smanjenje razgradnje što znači i bitnu ulogu singletnog kisika.

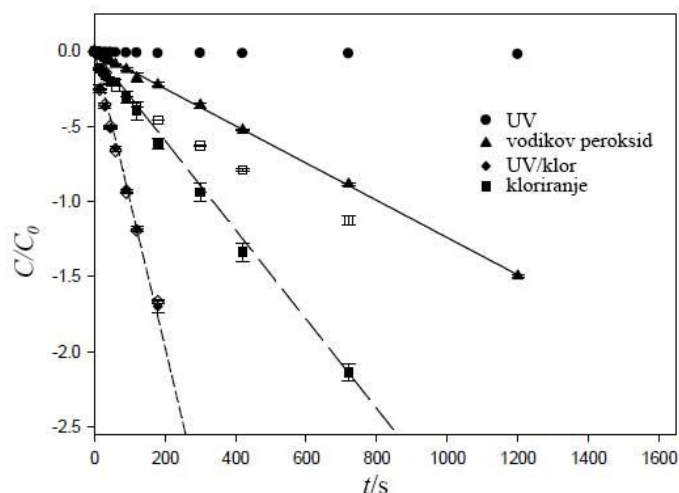


Slika 26. Utjecaj dodatka „hvatača“ aktivnih vrsta na razgradnju trimetoprima;

■ – bez prisustva „hvatača“, ● – uz D-manitol, ► – uz natrijev azid [38]

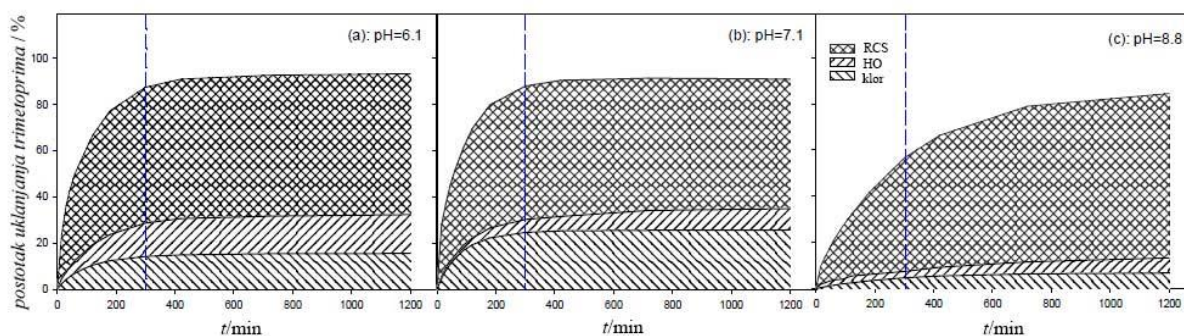
U istraživanju [39] ispitan je mehanizam razgradnje trimetoprima UV/klor procesom. UV/klor proces je napredni oksidacijski proces koji uključuje djelovanje nekoliko reaktivnih vrsta poput hidroksilnih radikala i reaktivnih vrsta klora (engl. *reactive chlorine species*, RCS). Doprinos reaktivnih vrsta klora, uključujući radikale  $\text{Cl}^\bullet$ ,  $\text{Cl}_2^{\bullet-}$  i  $\text{ClO}^\bullet$ , u razgradnji se pokazao većim od doprinosa hidroksilnih radikala. Razgradnja se povećala sa 67 % na 87 % s povećanjem pH-vrijednosti sa 6,1 na 8,8. Veći doprinos razgradnji s povećanjem pH-vrijednosti pripisan je povećanju koncentracije  $\text{ClO}^\bullet$  radikala.

Uzorci su pripremljeni u ultračistoj vodi pročišćenoj kroz Milli-Q sustav. Koncentracija trimetoprima praćena je s HPLC-DAD, a razgradni produkti su identificirani HPLC-om vezanim sa spregnutom spektrometrijom masa. Korišćeni su analizatori ionska klopka (eng. *ion trap*, IT) i analizator koji mjeri vrijeme leta (HPLC-IT-TOF). Prvo su usporedili razgradnju trimetoprima različitim procesima (Slika 27.): kloriranje, izravna UV fotoliza, UV/klor proces i UV/vodikov peroksid proces pri pH-vrijednosti 7,1 te uz početnu koncentraciju trimetoprima  $10 \mu\text{M}$ . Izravnom UV fotolizom trimetoprim je razgrađen za 20 min što potvrđuje njegovu fotostabilnost. Do puno brže razgradnje pomoću UV/klor procesa vjerojatno dolazi zbog jaćeg napada radikala nego u procesu koji kombinira UV zraćenje i vodikov peroksid.



Slika 27. Usporedba razgradnje trimetoprima različitim procesima [39]

I daljnja ispitivanja su provedena pri pH-vrijednosti 7,1. Povećanjem koncentracije kloru s 20  $\mu\text{M}$  na 200  $\mu\text{M}$  dolazi do linearnog povećanja u razgradnji trimetoprima što znači da dolazi do reakcije između trimetoprima i  $\text{ClO}^\bullet$  radikala. Na Slikama 28. a) – c) prikazani su postoci uklanjanja trimetoprima (engl. *removal rates*, R), koji se pripisuju kloru, hidroksilnim radikalima i reaktivnim vrstama kloru, kao funkcija vremena pri pH-vrijednostima 6,1, 7,1 i 8,8. Reaktivne vrste kloru su najviše doprinjele razgradnji trimetoprima pri sve tri pH-vrijednosti, dok su hidroksilni radikali i klor doprinjeli manje.



Slika 28. Postotak uklanjanja trimetoprima: RCS – reaktivnim vrstama kloru, HO – hidroksilnim radikalima te klorom [39]

Početna koncentracija trimetoprima bila je 10  $\mu\text{M}$ , a koncentracija kloru 50  $\mu\text{M}$ . Pri pH-vrijednostima 6,1 i 7,1 postotak razgradnje reaktivnim vrstama kloru je gotovo isti, a daljnjim povećanjem pH-vrijednosti se povećava. Postotak razgradnje hidroksilnim radikalima se smanjio povećanjem pH-vrijednosti, a postotak razgradnje klorom se

povećanjem pH-vrijednosti sa 6,1 na 7,1 povećao. Postotak razgradnje pri različitim pH-vrijednostima prikazan je u Tablici 3.

Tablica 3. Postotak razgradnje trimetoprima (R) za različite aktivne vrste [39]

pH-vrijednost	R <sub>klor</sub> / %	R <sub>hidroksilni radikali</sub> / %	R <sub>reaktivne vrste klora</sub> / %	R <sub>ukupni</sub> / %
6,1	14,2	14,3	59,0	87,5
7,1	24,5	5,7	57,7	87,9
8,8	4,7	2,7	49,2	56,6

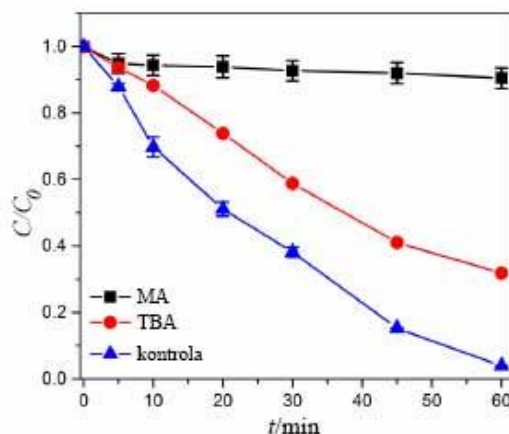
Kako bi se ispitaio utjecaj „hvatača“ aktivnih vrsta dodani su bikarbonat i *tert*-butanol, a ispitivanje je provedeno pri pH-vrijednosti 8,8. Dodatkom 50 mM bikarbonata razgradnja trimetoprima se neznatno smanjila, ali se dodatkom 0,5 mM *tert*-butanola razgradnja smanjila za 50 %. Bikarbonat „hvata“ hidroksilne i kloridne radikale, ali je utjecaj na ClO<sup>•</sup> radikale neznatan. Ovi rezultati potvrđuju značajnu ulogu ClO<sup>•</sup> radikala u razgradnji trimetoprima.

U radu [28] napravljena je sinteza kompozita na bazi ugljika i kobalta (CS-Co) karbonizacijskim postupkom iz zasićene smole. CS-Co je pokazao povoljne katalitičke aktivnosti u aktivaciji peroksimonosulfata u stvaranju sulfatnih i hidroksilnih radikala za razgradnju trimetoprima. Razgradnja trimetoprima je provedena pri različitim eksperimentalnim uvjetima (pH-vrijednost, količina katalizatora, količina peroksimonosulfata, koncentracija trimetoprima i temperatura). Početna pH-vrijednost otopine trimetoprima bila je oko  $7,00 \pm 0,15$ , a po potrebi se prilagođavala dodavanjem 0,1 M sulfatne kiseline ili natrijeva hidroksida. Koncentracija trimetoprima je praćena HPLC-om s UV detektorom, a produkti razgradnje identificirani su HPLC-om vezanim sa spregnutom spektrometrijom masa (HPLC-MS/MS).

Povećanjem koncentracije peroksimonosulfata od 0,1 – 0,5 mM učinkovitost razgradnje trimetoprima se poboljšala sa 66,6 % do 96,5 %. Daljnjim povećanjem koncentracije peroksimonosulfata dolazi do smanjenja učinkovitosti razgradnje zbog „gašenja“ (eng. *self-quenching*) između sulfatnih i hidroksilnih radikala. Kao „hvatači“ radikala korišteni su:

- metanol kao „hvatač“ sulfatnih i hidroksilnih radikala,
- *tert*-butanol kao „hvatač“ hidroksilnih radikala.

Bez prisutnosti „hvatača“ radikala došlo je do razgradnje oko 96,1 % trimetoprima. Slika 29. pokazuje učinkovitost razgradnje trimetoprima u prisutnosti oba „hvatača“ te je vidljiva značajna inhibicija razgradnje njihovim dodatkom. Učinkovitost razgradnje je bila 68,2 % nakon dodatka 50 mM *tert*-butanola, dok je dodatkom 50 mM metanola učinkovitost bila tek 9,5 %. Vidljivo je da su sulfatni i hidroksilni radikali dominantni reaktivni radikali u ovom postupku razgradnje trimetoprima.



Slika 29. Utjecaj dodatka metanola (MA) i *tert*-butanola (TBA) na učinkovitost razgradnje trimetoprima [28]

Najvažniji podaci vezani uz obrađenu literaturu objedinjeni su u Tablicama 4. i 5. U Tablici 4. prikazani su podaci iz literature u kojoj je istraživana razgradnja trimetoprima različitim naprednim oksidacijskim procesima. Istraživanja razgradnje drugih farmaceutika pomoću fotokatalitičke razgradnje sažeta su u Tablici 5.

Tablica 4. Pregled razgradnje trimetoprima i aktivnih vrsta uključenih u razgradnju

NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCES	KONCENTRACIJA FARMACEUTIKA	MATRICA	AKTIVNA VRSTA	„HVATAČ“	KONCENTRACIJA AKTIVNE VRSTE	pH	LITERATURA
fotokatalitička razgradnja uz katalizatore S-TiO <sub>2</sub> i Ru/WO <sub>3</sub> /ZrO <sub>2</sub>	10 mg/L 34,44 μM	/	hidroksilni radikal	izopropanol	1 mM	7,0	[30]
			superoksidni radikal	amonijev oksalat	1 mM		
			šupljine	askorbinska kiselina	1 mM		
UVA fotoelektro-Fenton proces	20,0 mg/L 68,9 μM	ultračista voda	hidroksilni radikal	D-manitol	2 mM	4,5	[38]
			singletni kisik	natrijev azid	2 mM		
UV/klor proces	10 μM 34,44 μM	ultračista voda	hidroksilni radikal i kloridni radikal	bikarbonat	50 mM	8,8	[39]
			hidroksilni radikal	<i>tert</i> -butanol	0,5 mM		
UV/persulfat proces	5-20 mg/L 17,22-68,9 μM	/	sulfatni radikal i hidroksilni radikal	metanol	50 mM	7,00 ± 0,15	[28]
			hidroksilni radikal	<i>tert</i> -butanol	50 mM		
			hidroksilni radikal	<i>tert</i> -butanol	50 mM		



Tablica 5. Pregled razgradnje različitih farmaceutika i aktivnih vrsta uključenih u razgradnju

FARMACEUTIK	NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCES	KONCENTRACIJA FARMACEUTIKA	MATRICA	AKTIVNA VRSTA	„HVATAČ“	KONCENTRACIJA AKTIVNE VRSTE	pH	LITERATURA
nikosulfuron	fotokatalitička razgradnja uz katalizator TiO <sub>2</sub>	20 mg/L 48,73 μM	deionizirana voda	hidroksilni radikal	izopropanol	0,1 – 20 mM	5,0	[31]
					natrijev fluorid	20 mM		
					acetone	0,1 – 1 mM		
				hidroksilni radikal, elektroni i šupljine	vodikov peroksid	0,1 – 10 mM		
klozapin	fotokatalitička razgradnja uz katalizator P25-TiO <sub>2</sub>	5 mg/L 15,3 μM	ultračista voda i riječna voda	hidroksilni radikal	izopropanol	1 M	7,00	[32]
				superoksidni radikal	benzokinon	1 mM		
				singletni kisik	natrijev azid	5 mM		
				šupljine	mravlja kiselina	20 mM	3,14	
ofloksacin	UVA fotokatalitička razgradnja uz katalizator TiO <sub>2</sub>	5,42 mg/L 15 μM	/	hidroksilni radikal	<i>tert</i> -butanol	0,01 – 0,1 M	7,00	[33]
				šupljine	izopropanol	0,1 – 0,25 M		
					kalijev jodid	3 x 10 <sup>-4</sup> M		
					oksalat	10 <sup>-3</sup> M		
				superoksidni radikal	<i>p</i> -benzokinon	20 μM i 10 <sup>-3</sup> M		
singletni kisik	natrijev azid	0,01 M						
mikrocistin-LR	fotokatalitička razgradnja uz katalizator NF-TiO <sub>2</sub>	0,4976 ± 0,0995 mg/L 0,5 ± 0,1 μM	milli Q voda	hidroksilni radikal	metanol	5000 μM	3,0 – 5,7	[34]
					<i>tert</i> -butanol	5000 μM		
				superoksidni radikal	1,4-benzokinon	5000 μM		
					superoksid dismutaza	2 – 10 μM		
				elektroni	bakrov(II) nitrat	5000 μM		
				šupljine	mravlja kiselina	5000 μM		
				vodikov peroksid	katalaza	2 – 10 μM		
singletni kisik i hidroksilni radikal	L-histidin	5000 μM						

FARMACEUTIK	NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCES	KONCENTRACIJA FARMACEUTIKA	MATRICA	AKTIVNA VRSTA	„HVATAČ“	KONCENTRACIJA AKTIVNE VRSTE	pH	LITERATURA
dikloroctena kiselina	fotokatalitička razgradnja uz katalizatore TiO <sub>2</sub> , TiO <sub>2</sub> /Pt i TiO <sub>2</sub> /Ag	1000 mg/L 7755,42 μM	/	superoksidni radikal	benzokinon	1 g/L	/	[35]
				hidroksilni radikal	<i>tert</i> -butanol	46,5 g/L		
				hidroksilni radikal i šupljine	mravlja kiselina	4 g/L		
metilensko plavilo i metiloranž	fotokatalitička razgradnja uz katalizator Au-ZnO	40 – 50 μM metilensko plavilo: 12,79 – 15,99 mg/L metiloranž: 13,09 – 16,37 mg/L	/	šupljine	EDTA-Na <sub>2</sub>	0,01 – 2,5 mM	3-12	[36]
				singletni kisik i hidroksilni radikal	natrijev azid	0,01 – 2,5 mM		
				hidroksilni radikal	izopropanol	0,1 – 100 mM		
				superoksidni radikal	<i>p</i> -benzokinon	0,01 – 0,1 mM		
ciprofloksacin	fotokatalitička razgradnja uz katalizator ZnO/SnS <sub>2</sub>	40 mg/L 120,72 μM	deionizirana voda	hidroksilni radikal i šupljine	kalijev jodid	10 mM	4,0 – 11,0	[37]
				hidroksilni radikal	izopropanol	0,01 M		
				kisik	kalijev bromat	1,0 mM		
				superoksidni radikal	benzokinon	10 mM		

## 2.4. Kromatografija

Kromatografija je metoda razdvajanja koja se zasniva na različitoj raspodjeli komponenti uzoraka između dviju faza. Jedna faza je nepokretna (stacionarna) i može biti čvrsta ili tekuća, a druga faza je pokretna (mobilna) i može biti tekuća (tekućinska kromatografija) ili plinovita (plinska kromatografija). Komponente uzoraka se razdvajaju na temelju različite brzine prolaska kroz kromatografski sustav [40]. Ova tehnika se koristi za odvajanje plinova, tekućina ili otopljenih tvari. Nakon odvajanja, pojedinačni sastojci se mogu identificirati i kvantificirati.

Svrha primjene kromatografije, koja se koristi kao metoda kvantitativne analize, je postići zadovoljavajuće razdvajanje u odgovarajućem vremenskom intervalu. Zato su razvijene različite kromatografske tehnike, koje uključuju kolonsku kromatografiju, tankoslojnu kromatografiju, plinsku kromatografiju, HPLC i mnoge druge [41].

Kod HPLC-a, pokretna faza je otapalo ili smjesa otapala koja prolazi kroz kromatografsku kolonu pod visokim tlakom. One molekule koje imaju veći afinitet prema nepokretnoj fazi zaostaju za onima koje imaju veći afinitet prema pokretnoj fazi. Kao rezultat, sastojci uzorka uvedenog na početku kolone razdvojit će se što ćemo na kromatogramu vidjeti kao zasebne pikove. Pri tome će se najprije pojaviti komponente koje imaju najmanji afinitet prema nepokretnoj fazi i zbog toga su brzo putovale kroz kolonu. Posljednje će se pojaviti komponente koje imaju najveći afinitet prema nepokretnoj fazi i zbog toga su putovale najsporije kroz kolonu. Na kraju kolone nalazi se detektor koji detektira komponente koje eluiraju [44]. Neki od detektora koji se mogu koristiti su:

- UV detektor: koristi sposobnost molekula da apsorbiraju ultraljubičasto zračenje pri čemu mogu koristiti jednu valnu duljinu ili mijenjati valne duljine ako je potrebna veća osjetljivost. Propuštanjem UV zračenja kroz pojedine komponente u otopini i mjereći količinu UV zračenja koju svaka komponenta apsorbira, može se odrediti pojedinačne količine svake komponente [45].
- DAD: detektor na osnovi niza dioda (engl. *diode-array detector*, DAD): detektira apsorpciju od UV do vidljivog područja. Za razliku od UV detektora koji koristi zračenje samo jedne valne duljine, DAD ima više nizova fotodioda za dobivanje informacija u širokom rasponu valnih duljina odjednom, što je velika prednost [46].

Tekućinska kromatografija ultra visoke djelotvornosti (engl. *ultra high-performance liquid chromatography*, UHPLC) je napredna verzija HPLC-a. Ona koristi kolone s promjerom čestica punjenja manjim od 2  $\mu\text{m}$  čime se postiže bolje razdvajanje, kraće vrijeme analize i veća osjetljivost u odnosu na HPLC. Osim toga, UHPLC daje uže pikove na kromatogramu čime se postiže bolje kromatografsko razlučivanje te je u kraćem vremenu moguća analiza uzoraka koji sadrže veliki broj analita. Tome doprinosi to što su UHPLC kolone punjene zrnima malog promjera čime je smanjena difuzija. Usljed toga, UHPLC uređaji rade pri visokim tlakovima do 1000 bar, a HPLC uređaji samo pri 400 – 600 bar. Otapala koja se koriste za pripremu pokretne faze moraju biti ultra visokog stupnja čistoće, a otopine uzorka se pripremaju tako da se spriječi potencijalno začepljenje kolone s obzirom da su uže u usporedbi s kolonom u HPLC uređaju. Još jedna prednost je i smanjena potrošnja reagensa [47].

Za praćenje farmaceutika u uzorcima iz okoliša kao i za praćenje razgradnje tijekom istraživanja naprednih postupaka obrade otpadnih voda najčešće se koriste kromatografske tehnike. Pri tome, prednosti ima tekućinska kromatografija koja je za razliku od plinske kromatografije pogodna za razdvajanje termički nestabilnih molekula. Također, razvojem analitičkih instrumenata danas je tekućinski kromatograf moguće jednostavno vezati sa spektrometrom masa što omogućava određivanje niskih koncentracija farmaceutika kao i njihovih metabolita i razgradnih produkata. Izvor iona, analizator i detektor biraju se ovisno o vrsti analize [42].

Tekućinski kromatograf i spektrometar masa povezani su međuspojem koji ima više uloga: otparavanje tekućine, ionizacija neutralnih molekula, uvođenje analita u analizator. Ionizacija elektroraspršenjem (engl. *electrospray ionization*, ESI) je jedan od načina ionizacije u vezanom sustavu LC-MS koji je kompatibilan sa svim analizatorima. Ionizacija se odvija tako da pokretna faza i analit ulaze u ionizator kroz kapilaru (elektrodu) na čijem se vrhu formira maglica sastavljena od niza kapljica otapala. Tako elektroda privlači nabijene kapljice i daje im dodatno ubrzanje te se one smanjuju kako se otapalo otparava. Kad se dovoljno smanje otparavaju se ili razbiju na manje kapljice. Analit prelazi u plinsku fazu [42].

Ovisno o izabranom načinu ionizacije te kasnijem odabiru detektora potrebno je odabrati vrstu analizatora. Analizator je dio spektrometra masa koji razdvaja ione različitog omjera mase i naboja. Jedan od najzastupljenijih analizatora je kvadripol (engl. *quadrupole*,

Q) koji se sastoji od četiri dijagonalno povezane elektrode pri čemu je jedan par pozitivnog polariteta, a drugi negativnog. Kada ioni uđu u analizator u ovisnosti o primijenjenoj struji i polju mogu zadržati stabilnu putanju i proći kroz analizator ili mogu dotaknuti elektrode i postati neutralne molekule [42].

Još jedna vrsta analizatora je analizator koji mjeri vrijeme leta (engl. *time of flight*, TOF). S obzirom da svi ioni koji ulaze u analizator imaju različitu brzinu ovisno o svojoj masi, razdvajanje iona se vrši ovisno o njihovoj brzini. Ioni u analizator mogu ući aksijalno ili ortogonalno te ih *pusher* sakuplja u određenom vremenu, a onda istovremeno otpušta te se u tom trenutku uključuje mjerenje vremena leta do detektora. TOF analizatori se često kombiniraju s kvadripolnim analizatorima te na taj način imaju mogućnost analize poput MS/MS [42].

Ionska klopka je vrsta analizatora (engl. *ion trap*, IT) u kojem dolazi do izoliranja iona koji se zatim akumuliraju zbog posebnog rasporeda hiperboličkih i prstenastih elektrona te oscilirajućih električnih polja. Nakon toga dolazi do fragmentacije iona. Međutim, IT ne može pružiti informacije visoke razlučivosti i ne može osigurati dobru selektivnost iona prekursora. Zato se razvila kombinacija IT i TOF čime je nastala spregnuta IT-TOF spektrometrija masa. Kada se ova kombinacija koristi uz HPLC dobivaju se rezultati bolje osjetljivosti i točnosti nego korištenjem pojedinih analizatora [43].

Tekućinska kromatografija sa spregnutom spektrometrijom masa, LC-MS/MS, još se naziva i tandemskom spektrometrijom masa. Ona se koristi kada se želi unaprijediti separacija ili izazvati dodatna fragmentacija kako bi se struktura analiziranih iona mogla odrediti točnije [42].

U Tablici 6. prikazan je pregled kromatografskih metoda koje su korištene u literaturi koja je obrađena u prethodnom poglavlju. U dijelu literature nije točno navedeno koja je kromatografska metoda korištena te iz tog razloga u tablici nisu spomenuti svi radovi.

Tablica 6. Kromatografske metode korištene u literaturi

KROMATOGRAFSKA METODA	FARMACEUTIK	NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCES	LITERATURA
LC	mikrocistin-LR	fotokatalitička razgradnja	[34]
LC-UV i LC-MS	trimetoprim	fotokatalitička razgradnja	[30]
LC-MS/MS	ciprofloksacin	fotokatalitička razgradnja	[37]
HPLC-DAD i LC-ESI-Q/TOF	ofloksacin	fotokatalitička razgradnja	[33]
HPLC-ESI-IT	nikosulfuron	fotokatalitička razgradnja	[31]
HPLC-UV i HPLC-QqQ	trimetoprim	UV/persulfat proces	[28]
HPLC-DAD i HPLC-IT/TOF	trimetoprim	UV/klor proces	[39]
UHPLC-Q/TOF	klozapin	fotokatalitička razgradnja	[32]

### **3. OSVRT**

Pregledom literature u kojoj je kao napredni oksidacijski proces korištena fotokatalitička razgradnja vidljivo je da su u većini radova najveću ulogu u razgradnji farmaceutika imali hidroksilni radikali i šupljine te u nešto manjem broju radova i superoksidni radikali.

Kod fotokatalitičke razgradnje trimetoprima modificiranim katalizatorima S-TiO<sub>2</sub> i Ru/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub> [30] pokazalo se da određenu ulogu u razgradnji imaju šupljine, hidroksilni radikali i superoksidni radikali. Dodatkom askorbinske kiseline učinkovitost razgradnje se smanjila upola što bi značilo da šupljine imaju puno veću ulogu. Međutim, šupljine mogu reagirati s vodom ili hidroksilnim ionima čime nastaju hidroksilni radikali. Iz toga bi se potencijalno moglo zaključiti da „zarobljavanjem“ šupljina dolazi do smanjenja nastanka hidroksilnih radikala te zbog toga do smanjenja razgradnje.

U pregledu drugih radova gdje je korištena fotokatalitička razgradnja ispitivani su različiti farmaceutici i boje. U dijelu radova kao katalizator je korišten TiO<sub>2</sub>, a u nekim radovima je ispitano i korištenje drugih katalizatora ili modificiranih TiO<sub>2</sub> katalizatora. Korištenjem nemodificiranog TiO<sub>2</sub> katalizatora u radu [31] pokazalo se da glavnu ulogu u razgradnji nikosulfurona imaju hidroksilni radikali. U nastavku, korištenjem P25 TiO<sub>2</sub> kao katalizatora, koji se sastoji od 75 % anatasa i 25 % rutila, u radu [32] se pokazalo da glavnu ulogu u razgradnji klozapina imaju šupljine i hidroksilni radikali. Dodatkom mravlje kiseline koja je korištena kao „hvatač“ šupljina razgradnja je bila gotovo u potpunosti zaustavljena. Međutim, kao što je već ranije spomenuto, o aktivnosti šupljina ovisi više procesa. To su primjerice nastajanje hidroksilnih radikala i singletnog kisika. Vrlo velika inhibicija bila je vidljiva dodatkom izopropanola i „gašenjem“ hidroksilnih radikala. Osim ove dvije vrste, pokazalo se da bitnu ulogu imaju i superoksidni radikali. U radu [33] je također korišten nemodificirani TiO<sub>2</sub> kao katalizator, a kao glavne vrste u razgradnji ofloksacina su se pokazali superoksidni radikali i šupljine. Utjecaj šupljina ispitan je dodatkom čak tri spoja, izopropanola, kalijeva jodida i oksalata. Sva tri su izazvala približno istu inhibiciju razgradnje ofloksacina, čime je sigurno potvrđena bitna uloga šupljina. Izopropanol se može koristiti i kao „hvatač“ hidroksilnih radikala, međutim, ta je opcija u ovom slučaju isključena jer je proveden eksperiment s dodatkom *tert*-butanola koji nije utjecao na razgradnju čime je potvrđeno da hidroksilni radikali nemaju ulogu u razgradnji.



Kako bi se poboljšala fotokatalitička svojstva  $\text{TiO}_2$  uvedene su razne modifikacije. Tako je u radu [34] kao katalizator korišten  $\text{TiO}_2$  modificiran dušikom i fluorom (NF- $\text{TiO}_2$ ). Ovdje su provedena dva različita ispitivanja, jedno zračenjem u vidljivom području, a drugo pod UV zračenjem. Korištenjem zračenja u vidljivom području pokazalo se da najveću ulogu u razgradnji mikrocistina-LR imaju superoksidni radikali. U eksperimentu provedenom pod UV zračenjem pokazalo se da je razgradnja mikrocistina-LR puno brža nego upotrebom zračenja u vidljivom području. Osim toga, pokazalo se da u ovom slučaju najveću ulogu u razgradnji imaju hidroksilni radikali. U sljedećem radu [35] je ispitana uloga aktivnih vrsta u razgradnji dikloroctene kiseline koristeći tri katalizatora, nemodificirani  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  i  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ . Korištenjem  $\text{TiO}_2$  katalizatora pokazalo se da najbitniju ulogu u razgradnji imaju hidroksilni radikali. Međutim, u razgradnji korištenjem  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  i  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$  katalizatora najbitniju ulogu su imali superoksidni radikali. Dodatkom *tert*-butanola pokazalo se da ulogu u razgradnji imaju i hidroksilni radikali. Razgradnja je zapravo provedena hidroksilnim radikalima, ali kroz pretvorbu superoksidnih radikala koji su iz tog razloga kritični za ovu vrstu razgradnje. Osim toga, pokazalo se da je razgradnja najbrže provedena uz  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$ , zatim uz  $\text{TiO}_2/\text{Ag}$ , a tek onda uz  $\text{TiO}_2$ . Sljedećim istraživanjem [36] je ispitana fotokatalitička razgradnja metilenskog plavila i metiloranža uz Au-ZnO katalizator. Rezultati su bili slični za obje vrste boja te se pokazalo da hidroksilni radikali imaju najvažniju ulogu u njihovoj razgradnji. Za usporedbu, znanstvenici su proveli i ispitivanje pod ksenonovom svjetiljkom čime je brzina razgradnje bila 1,5 puta veća nego korištenjem UV zračenja. Rezultati dodatka „hvatača“ aktivnih vrsta bili su vrlo slični onima rađenim pod UV zračenjem. Zadnji obrađeni rad [37] u kojem je kao napredni oksidacijski proces korištena fotokatalitička razgradnja je ispitivao razgradnju ciprofloksacina korištenjem ZnO/SnS<sub>2</sub> katalizatora. Ovdje u razgradnji sudjeluju šupljine i hidroksilni radikali, pri čemu važniju ulogu imaju šupljine.

U radovima koji su slijedili dalje ispitivana je razgradnja trimetoprima drugim postupcima od fotokatalitičke razgradnje. Moreira i sur. [38] su koristili UVA fotoelektro-Fenton proces te su kao primarna vrsta u razgradnji određeni hidroksilni radikali. U sljedećem istraživanju [39] korišten je UV/klor proces pri čemu se pokazalo da do veće razgradnje dolazi pri većim pH-vrijednostima. S obzirom na korišteni proces bitnu ulogu u razgradnji imaju  $\text{ClO}^\bullet$  radikali, a nešto manju ulogu imaju hidroksilni radikali. Zadnji obrađeni rad [28] je koristio UV/persulfat proces te se pokazalo da su u razgradnji trimetoprima ovdje najbitniji sulfatni radikali i hidroksilni radikali. Dodatak metanola kao „hvatača“ sulfatnih i hidroksilnih radikala doveo je do gotovo potpune inhibicije razgradnje.

S obzirom na pregledane radove očito je da u razgradnji trimetoprima bitnu ulogu imaju hidroksilni radikali. Vidljivo je da oni nisu jedina aktivna vrsta koje sudjeluje u razgradnji te bi trebalo provesti nova istraživanja kojima bi se ispitalo koje druge aktivne vrste sudjeluju u razgradnji. U ranije spomenutoj fotokatalitičkoj razgradnji trimetoprima [30] u razgradnji su sudjelovale i šupljine i superoksidni radikali. Općenito u fotokatalitičkoj razgradnji farmaceutika se pokazalo da najbitniju ulogu imaju hidroksilni radikali, vrlo često šupljine, a ponekad i superoksidni radikali. Utjecaj šupljina je zapravo vrlo često povezan s hidroksilnim radikalima. Kao što je već spomenuto, u reakciji šupljina s vodom ili hidroksidnim ionima nastaju hidroksilni radikali. Međutim, to i dalje znači da šupljine imaju bitnu ulogu jer ako su šupljine „zarobljene“ tada ne nastaju novi hidroksilni radikali i razgradnja je sporija uz one već postojeće u otopini. Korištenje drugih naprednih oksidacijskih procesa u razgradnji trimetoprima uz reaktivne vrste kisika kao aktivne vrste pojavile su se i druge, poput  $\text{ClO}^{\bullet}$  radikala i sulfatnih radikala. Ove su vrste ograničene samo na procese gdje i sudjeluju klor i persulfati.

U pregledu kromatografskih metoda korištenih u obrađenim radovima vidljivo je da je u svima korištena tekućinska kromatografija. Vrlo često je bila vezana sa spektrometrijom masa ili čak spregnutom spektrometrijom masa. U UV/klor i UV/persulfat procesima korištena je tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti.

Nedostatak nekih radova pokazao se u nenavođenju svih podataka. Primjerice, u nekim radovima nije navedena pH-vrijednost pri kojoj je provođen eksperiment s „hvatačima“ već je samo provedeno ispitivanje učinka razgradnje pri različitim pH-vrijednostima ili čak u cijelom radu nije spomenuta pH-vrijednost. Također, u nekim radovima nema napomene o matrici u kojoj su pripremljene otopine. Ovi podaci su bitni kako bi se moglo doći do točnih spoznaja o razgradnji farmaceutika te bi u svakom radu trebali biti navedeni svi uvjeti eksperimenta.

## **4. ZAKLJUČAK**

Kako bi se bolje ispitala razgradnja trimetoprima i njegovi razgradni putevi trebalo bi provesti fotokatalitičku razgradnju korištenjem  $\text{TiO}_2$  katalizatora uz dodatak „hvatača“ aktivnih vrsta poput:

- izopropanola, *tert*-butanola i metanola kao „hvatača“ hidroksilnih radikala,
- benzokinona kao „hvatača“ superoksidnih radikala,
- mravlje kiseline kao „hvatača“ šupljina.

Time bi se potvrdile uloge aktivnih vrsta u razgradnji trimetoprima. Uz to, bilo bi zanimljivo provesti ista ispitivanja, ali korištenjem modificiranog  $\text{TiO}_2$  katalizatora, poput  $\text{TiO}_2/\text{Pt}$  katalizatora. U pregledu literature je bilo vidljivo da se korištenjem nekih modificiranih katalizatora razgradnja nekih farmaceutika ubrzava pa bi trebalo provjeriti da li to vrijedi i za razgradnju trimetoprima.

Kao kromatografska metoda za analizu uzoraka mogla bi se koristiti tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti vezana sa spregnutom spektrometrijom masa (HPLC-MS/MS).

Također, trebalo bi zabilježiti sve uvjete eksperimenta, matricu uzoraka, pH-vrijednost, temperaturu, koncentracije uzorka i „hvatača“ aktivnih vrsta. Na taj način se može osigurati točne informacije o razgradnji trimetoprima koje će biti korisne i za daljnja istraživanja.

## **5. LITERATURA**

- [1] S. Dey, F. Bano, A. Malik, Pharmaceuticals and personal care product (PPCP) contamination – a global discharge inventory, u M. Prasad, M. Vithanage, A. Kapley (ur.), Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology. 1. izdanje, Elsevier, Kidlington, 2019, str. 1-26.
- [2] V. C. Kalia, Pharmaceutical and personal care product contamination: a global scenario, u M. Prasad, M. Vithanage, A. Kapley (ur.), Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology, 1. izdanje, Elsevier, Kidlington, 2019, str. 27-61.
- [3] A. B. A. Boxall, M. A. Rudd, B. W. Brooks, D. J. Caldwell, K. Choi, S. Hickmann, E. Innes, K. Ostapyk, J. P. Staveley, T. Verslycke, G. T. Ankley, K. F. Beazley, S. E. Belanger, J. P. Berninger, P. Carriquiriborde, A. Coors, P. C. DeLeo, S. D. Dyer, J. F. Ericson, F. Gagné, J. P. Giesy, T. Gouin, L. Hallstrom, M. V. Karlsson, D. G. J. Larsson, J. M. Lazorchak, F. Mastrocco, A. McLaughlin, M. E. McMaster, R. D. Meyerhoff, R. Moore, J. L. Parrott, J. R. Snape, R. Murray-Smith, M. R. Servos, P. K. Sibley, J. O. Straub, N. D. Szabo, E. Topp, G. R. Tetreault, V. L. Trudeau, G. Van Der Kraak, Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions?, Environmental Health Perspectives 120 (9) (2012) 1221-1229.
- [4] A. J. Ebele, M. A.-E. Abdallah, S. Harrad, Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment, Emerging Contaminants 3 (1) (2016) 1-16.
- [5] R. S. Dhodapkar, K. N. Gandhi, Pharmaceuticals and personal care products in aquatic environment: chemicals of emerging concern?, u M. Prasad, M. Vithanage, A. Kapley (ur.), Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology, 1. izdanje, Elsevier, Kidlington, 2019, str. 63-85.
- [6] K. Kümmerer, Pharmaceuticals in the Environment – A Brief Summary, u K. Kümmerer (ur.), Pharmaceuticals in the Environment, Sources, Fate, Effects and Risks, 3. izdanje, Springer, Berlin, 2008, str. 3-21.
- [7] M. Periša, S. Babić, Farmaceutici u okolišu, Kemija u industriji 65 (9-10) (2016) 471-482.
- [8] S. Zrnčević, Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, Hrvatske vode 24 (2016) 96 119-136.
- [9] T. Aus der Beek, F.-A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, A. Küster, Pharmaceuticals in the environment – global occurrences and perspectives, Environmental Toxicology and Chemistry 35 (4) (2016) 823-835.

- [10] D. Dolar, T. Ignjatić Zokić, K. Košutić, D. Ašperger, D. Mutavdžić Pavlović, RO/NF membrane treatment of veterinary pharmaceutical wastewater: comparison of results obtained on a laboratory and a pilot scale, *Environmental Science and Pollution Research* 19 (2012) 1033-1042.
- [11] K. Kümmerer, *Antibiotics in the Environment*, u K. Kümmerer (ur.), *Pharmaceuticals in the Environment, Sources, Fate, Effects and Risks*, 3. izdanje, Springer, Berlin, 2008, str. 75-93.
- [12] P. K. Jjemba, *Pharma-Ecology: The Occurrence and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*, 2. izdanje, John Wiley & Sons, Hoboken, 2019, str. 119-176.
- [13] K. Kümmerer, *Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I*, *Chemosphere* 75 (2009) 417-434.
- [14] A. Wróbel, D. Maliszewski, M. Baradyn, D. Drozdowska, Trimethoprim: An Old Antibacterial Drug as a Template to Search for New Targets. Synthesis, Biological Activity and Molecular Modeling Study of Novel Trimethoprim Analogs, *Molecules* 25 (116) (2020) 1-15.
- [15] Q. Wang, W. Pang, Y. Mao, Q. Sun, P. Zhang, Q. Ke, H. Yu, C. Dai, M. Zhao, Study of the Degradation of Trimethoprim Using Photo-Fenton Oxidation Technology, *Water* 11 (207) (2019) 1-14.
- [16] URL: <https://www.drugs.com/pro/trimethoprim.html> (pristup 01.05.2020.)
- [17] S. Oros-Ruiz, R. Zanella, B. Prado, Photocatalytic degradation of trimethoprim by metallic nanoparticles supported on TiO<sub>2</sub>-P25, *Journal of Hazardous Materials* 263 (2013) 28-35.
- [18] G. Yilmaz, Y. Kaya, I. Vergili, Z. Beril Gönder, G. Özhan, B. Ozbek Celik, S. M. Altinkum, Y. Bagdatli, A. Boegers, J. Tuerk, Characterization and toxicity of hospital wastewaters in Turkey, *Environmental Monitoring and Assessment* 189 (2):55 (2017).
- [19] C. G. Joseph, G. L. Puma, A. Bono, D. Krishnaiah, Sonophotocatalysis in advanced oxidation process: A short review, *Ultrasonics Sonochemistry* 16 (2009) 583–589.
- [20] S. Zhu, D. Wang, Photocatalysis: Basic Principles, Diverse Forms of Implementations and Emerging Scientific Opportunities, *Advanced Energy Materials* 7 (1700841) (2017) 1-24.
- [21] A. R. Khataee, M. Fathinia, *Recent Advances in Photocatalytic Processes by Nanomaterials*, u S. Suib (ur.), *New and Future Developments in Catalysis*, 1. izdanje, Elsevier, Kidlington, 2013, str. 267-288.

- [22] R. Rienzie, S. Ramanayaka, N. A. Adassooriya, Nanotechnology applications for the removal of environmental contaminants from pharmaceuticals and personal care products, u M. Prasad, M. Vithanage, A. Kapley, *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology*, 1. izdanje, Elsevier, Kidlington, 2019, str. 279-296.
- [23] J. Rabani, S. Goldstein, *Mechanisms of Reactions Induced by Photocatalysis of Titanium Dioxide Nanoparticles*, u D. W. Bahnemann, P. K. J. Robertson (ur.), *Environmental Photochemistry Part III*, 1. izdanje, Springer, Berlin, 2015, str. 115-157.
- [24] I. Sirés, E. Brillas, *The Use of Nanomaterials in Electro-Fenton and Photoelectro-Fenton Processes* u J. Filip, T. Cajthaml, P. Najmanová, M. Černík, R. Zbořil (ur.), *Advanced Nano-Bio Technologies for Water and Soil Treatment*, 1. izdanje, Springer, Švicarska, 2018, str. 257-288.
- [25] A. Babuponnusamia, K. Muthukumarb, Advanced oxidation of phenol: A comparison between Fenton, electro-Fenton, sono-electro-Fenton and photo-electro-Fenton processes, *Chemical Engineering Journal* 183 (2012) 1–9.
- [26] K. Guo, Z. Wu, J. Fang, UV-based advanced oxidation process for the treatment of pharmaceuticals and personal care products, u: A. J. Hernández-Maldonado L. Blaney (ur.), *Contaminants of Emerging Concern in Water and Wastewater: Advanced Treatment Processes*, Elsevier, Kidlington, 1. izdanje, 2019, 367-408.
- [27] J. Sun, D. Kong, E. Aghdam, J. Fang, Q. Wu, J. Liu, Y. Du, X. Yang, C. Shang, The influence of the UV/chlorine advanced oxidation of natural organic matter for micropollutant degradation on the formation of DBPs and toxicity during post-chlorination, *Chemical Engineering Journal* 373 (2019) 870-879.
- [28] Y. Liu, H. Guo, Y. Zhang, X. Cheng, P. Zhou, J. Deng, J. Wang, W. Li, Highly efficient removal of trimethoprim based on peroxymonosulfate activation by carbonized resin with Co doping: performance, mechanism and degradation pathway, *Chemical Engineering Journal* 365 (2019) 717-726.
- [29] Y. Nosaka, A. Y. Nosaka, Identification and roles of the active species generated on various photocatalysts, u P. Pichat (ur.), *Photocatalysis and Water Purification - From Fundamentals to Recent Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2013, str. 3-24.
- [30] M. Samy, M. G. Ibrahim, M. G. Alalm, M. Fujii, S. Ookawara, T. Ohno, Photocatalytic degradation of trimethoprim using S-TiO<sub>2</sub> and Ru/WO<sub>3</sub>/ZrO<sub>2</sub>



- immobilized on reusable fixed plates, *Journal of Water Process Engineering* 33 (2020) 101023.
- [31] A. M. Dugandžić, A. V. Tomašević, M. M. Radišić, N. Ž. Šekuljica, D. Ž. Mijin, S. D. Petrović, Effect of inorganic ions, photosensitisers and scavengers on the photocatalytic degradation of nicosulfuron, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 336 (2017) 146–155.
- [32] J. Trawiński, R. Skibiński, Rapid degradation of clozapine by heterogeneous photocatalysis. Comparison with direct photolysis, kinetics, identification of transformation products and scavenger study, *Science of the Total Environment* 665 (2019) 557–567.
- [33] E. M. Rodríguez, G. Márquez, M. Tena, P. M. Álvarez, F. J. Beltrán, Determination of main species involved in the first steps of TiO<sub>2</sub> photocatalytic degradation of organics with the use of scavengers: The case of ofloxacin, *Applied Catalysis B: Environmental* 178 (2015) 44-53.
- [34] M. Pelaez, P. Falaras, V. Likodimos, K. O'Shea, A. A. de la Cruz, P. S. M. Dunlop, J. A. Byrne, D. D. Dionysiou, Use of selected scavengers for the determination of NF-TiO<sub>2</sub> reactive oxygen species during the degradation of microcystin-LR under visible light irradiation, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 425 (2016) 183–189.
- [35] P. Ribao, J. Corredor, M. J. Rivero, I. Ortiz, Role of reactive oxygen species on the activity of noble metal-doped TiO<sub>2</sub> photocatalysts, *Journal of Hazardous Materials* 372 (2019) 45-51.
- [36] S. Verma, B. Tirumala Rao, J. Jayabalan, S. K. Rai, D. M. Phase, A. K. Srivastava, R. Kaul, Studies on growth of Au cube-ZnO core-shell nanoparticles for photocatalytic degradation of methylene blue and methyl orange dyes in aqueous media and in presence of different scavengers, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 7 (2019) 103209.
- [37] A. B. Makama, A. Salmiaton, T. S. Y. Choong, M. R. A. Hamid, N. Abdullah, E. Saion, Influence of parameters and radical scavengers on the visible-light-induced degradation of ciprofloxacin in ZnO/SnS<sub>2</sub> nanocomposite suspension: Identification of transformation products, *Chemosphere* 253 (2020) 126689.
- [38] F. C. Moreira, R. A. R. Boaventura, E. Brillas, V. J. P. Vilar, Degradation of trimethoprim antibiotic by UVA photoelectro-Fenton process mediated by Fe(III)-carboxylate complexes, *Applied Catalysis B: Environmental* 162 (2015) 34-44.

- [39] Z. Wu, J. Fang, Y. Xiang, C. Shang, X. Li, F. Meng, X. Yang, Roles of reactive chlorine species in trimethoprim degradation in the UV/chlorine process: Kinetics and transformation pathways, *Water Research* 104 (2016) 272-282.
- [40] E. Generalić, *Kromatografija, Englesko-hrvatski kemijski rječnik & glosar*. KTF-Split. <https://glossary.periodni.com> (pristup 03.05.2020.)
- [41] O. Coskun, Separation techniques: Chromatography, *Northern Clinics of Istanbul* 3 (2) (2016) 156-160.
- [42] M. Cindrić, A. Marković, A. Horvatić, Sprengnute tehnike tekućinski kromatograf – spektrometar masa: osnove metodologije i primjene, *Medicina* 45 (3) (2009) 218-232.
- [43] X.-F. Chen, H.-T. Wu, G.-G. Tan, Z.-Y. Zhu, Y.-F., Chai, Liquid chromatography coupled with time-of-flight and ion trap mass spectrometry for qualitative analysis of herbal medicines, *Journal of Pharmaceutical Analysis* 1(4) (2011) 235–245.
- [44] URL: <http://www.justchromatography.com/chromatography/hplc> (pristup 02.05.2020.)
- [45] URL: <https://www.chromatographytoday.com/news/hplc-uhplc/31/breaking-news/what-is-hplc-uv/47696> (pristup 20.06.2020.)
- [46] URL: <https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/lc/basic/course7.html> (pristup 20.06.2020.)
- [47] M. Taleuzzaman, S. Ali, S. J. Gilani, S. S. Imam, A. Hafeez, Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) - A Review, *Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry* 2(6) (2015) 1056.

## **6. ŽIVOTOPIS**

