

Fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina

Cafuta, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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:149:465413>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
PRIMIJEJENA KEMIJA

Andrea Cafuta

FOTOKATALITIČKA RAZGRADNJA NITROFURANTOINA
DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Sandra Babić

izv. prof. dr. sc. Irena Škorić

izv. prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić

Zagreb, rujan 2015.

Eksperimentalni dio rada odrađen je na Zavodu za opću i anorgansku kemiju na Institutu za kemiju u Veszprému, Mađarska. U to ime, zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Ottó Horváth i izv. prof. dr. sc. Erzsébet Szabó-Bárdos na ugodnoj dobrodošlici te uloženom trudu i vremenu.

Pismeni dio rada odrađen je na Zavodu za analitičku kemiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu. Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Sandri Babić na velikoj podršci za odlazak i rad u inozemstvu kao i posvećenom vremenu za izradu rada. Zahvaljujem se dr. sc. Martini Periša na uloženom trudu, volji i vremenu kojima je uvelike doprinijela kvaliteti ovog rada.

Naposljetku, zahvalila bih se svojim roditeljima, sestri i teti bez čije podrške, motivacije i ljubavi ovo sve ne bi bilo ostvareno. Također velika hvala mom partneru i uzoru, Marku koji je ovih pet godina fakulteta učinio predivnima.

Sadržaj

Sažetak

Summary

1. Uvod	1
2. Opći dio	2
2.1. Farmaceutici	2
2.1.1. Metabolizam farmaceutika	5
2.2. Farmaceutici u okolišu	7
2.2.1. Sudbina farmaceutika u okolišu	9
2.3. Primjena zračenja u razgradnji farmaceutika	10
2.3.1. Elektromagnetsko zračenje	11
2.3.2. Sunčevo zračenje	13
2.4. Fotolitička razgradnja farmaceutika	15
2.5. Napredni oksidacijski procesi	16
2.6. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika	17
2.6.1. Heterogena fotokatalitička razgradnja farmaceutika	18
2.6.2. Fotokatalizatori	20
2.6.3. Titanijev (IV) oksid	22
2.7. Toksičnost farmaceutika	25
3. Eksperimentalni dio	28
3.1. Materijali	28
3.1.1. Nitrofurantoin	28
3.1.2. Kemikalije	29
3.2. Instrumenti	30
3.2.1. Fotokemijski reaktor	30

3.2.2. Analitička vaga	32
3.2.3. pH-metar	33
3.2.4. Spektrofotometar.....	34
3.2.5. Ionski kromatograf	35
3.2.6. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti vezan sa spektrometrom masa	36
3.2.7. Uređaj za mjerenje toksičnosti.....	37
3.3. Metode rada	38
3.3.1. Priprema standardne otopine farmaceutika.....	38
3.3.2. Priprema fotokatalizatora.....	39
3.3.3. Ispitivanje adsorpcije nitrofurantoina na površinu fotokatalizatora	39
3.3.4. Osvjetljavanje otopine nitrofurantoina.....	39
3.3.5. Određivanje nitrita	41
3.3.6. Određivanje nitrata.....	43
3.3.7. Određivanje nitrofurantoina tekućinskom kromatografijom	44
3.3.8. Određivanje toksičnosti nitrofurantoina i njegovog razgradnog produkta	44
3.3.9. Određivanje mehanizma razgradnje farmaceutika.....	46
4. Rezultati i rasprava.....	47
4.1. Fotolitička razgradnja nitrofurantoina	49
4.2. Heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina titanijevim (IV) oksidom.....	55
4.3. Identifikacija produkata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina	63
4.4. Toksičnost nitrofurantoina i fotorazgradnog produkta	70
4.5. Mehanizam razgradnje farmaceutika.....	71
5. Zaključci.....	79
6. Literatura	81
Životopis.....	86

Sažetak

Mnogi farmaceutici i proizvodi za osobnu higijenu prepoznati su kao potencijalna zagađivala okoliša diljem svijeta. Skupina antibiotika, poznata kao nitrofurani (furaltadon, furazolidon, nitrofurantoin (NFT)) mogu se pronaći u okolišu zbog svoje velike proizvodnje i uporabe. Zbog sve veće prisutnosti u vodenim sustavima, primjena naprednih oksidacijskih procesa igra važnu ulogu u uklanjanju farmaceutika iz otpadnih voda.

U ovom radu istraživana je fotokemijska razgradnja antibiotika nitrofurantoina primjenom direktne fotolize kao i fotokatalitičke oksidacije s TiO_2 u UV/Vis području. Fotokemijski eksperimenti izvedeni su u laboratorijskom reaktoru s vanjskim izvorom svjetlosti. Heterogena reakcijska smjesa, TiO_2 suspenzija, miješana je pomoću kontinuiranog protoka kisika ili argona unutar reaktora. Razgradnja antibiotika praćena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti i spektrofotometrijski. Također su promatrani učinci valnih duljina zračenja i prisutnost kisika i argona u slučaju direktne fotolize.

Apsorpcijski spektri i kromatografski rezultati jasno upućuju na različite strukturne promjene početne molekule antibiotika tijekom direktne fotolize i fotokatalize s TiO_2 . Brzi, prvi stupanj direktne fotolize je fotoizomerizacija oko C-N dvostruke veze nakon kojeg slijedi spori drugi stupanj fotorazgradnje. Heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina znatno je brža od fotolitičke razgradnje koju prati značajno smanjenje pH-vrijednosti. Primjenom spektrometrije masa identificiran je glavni razgradni produkt fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina.

Ključne riječi: nitrofurantoin, farmaceutici, antibiotik, fotolitička razgradnja, fotokatalitička razgradnja, razgradni produkt

Summary

Many pharmaceuticals and personal care products have been detected as aquatic pollutants all over the world. The class of compounds, known as the nitrofurans antibiotics (furaladone, furazolidone, nitrofurantoin (NFT)) are expected to be found in environment based on their big production and use. Due to increasing presence in aquatic systems, application of advanced oxidation processes play important role in removal of pharmaceuticals from wastewaters.

In this work, the aquatic photochemical degradation of nitrofurantoin was investigated by application of direct photolysis as well as photocatalytic oxidation with TiO_2 in the UV/Vis range. Photochemical experiments were carried out in laboratory-scale reactor with external light source. The heterogeneous reaction mixture, TiO_2 suspension was circulated by continuously bubbling oxygen or argon within the reactor. Degradation of antibiotic was investigated by high-performance liquid chromatography and spectrometry. The effects of the irradiation wavelengths and the presence of oxygen and argon were also studied in the case of direct photolysis.

Spectral and chromatographic results clearly indicated that in direct photolysis the starting antibiotic compound underwent structural transformations strongly deviating from the reactions in the case of TiO_2 -mediated photocatalysis. The fast, first step of the direct photolysis is attributed to photoisomerization around the C-N double bond, followed by a slow second step of the photodegradation. Heterogeneous photocatalytic degradation of nitrofurantoin was much more faster than photolytic degradation accompanied by a considerable decrease of pH. The key degradation product of photolytic and photocatalytic degradation of nitrofurantoin was identified by application of mass spectrometry.

Keywords: nitrofurantoin, pharmaceuticals, antibiotic, photolitical degradation, photocatalytical degradation, degradation product

1. Uvod

Intenzivno istraživanje farmaceutski aktivnih tvari prisutnih u okolišu započelo je prije nešto više od dva desetljeća. Zajedno s proizvodima za osobnu higijenu klasificirani su kao potencijalna zagađivala okoliša, a očekuje se da će njihova potrošnja rasti zbog niza čimbenika kao što su porast broja stanovništva i potrošnje po glavi stanovnika, širenje potencijalnih tržišta, patentni, što stvara potrebu za većom proizvodnjom. Velike količine farmaceutika se kontinuirano unose u okoliš putem izlučevina iz ljudskih i životinjskih organizama, nepravilnog odlaganja farmaceutskih proizvoda, ispiranja odlagališta, komunalnih otpadnih voda te kao rezultat industrijske proizvodnje. Njihov unos, prisutnost te sudbina u okolišu bili su i jesu od velike važnosti u zaštiti okoliša [1].

Kao jedni od najvažnijih farmaceutika, antibiotici su široko primjenjivani, kako u humanoj tako i veterinarskoj medicini. Tragovi ovih zagađivala u površinskim, podzemnim i pitkim vodama izazivaju sve veću zabrinutost za zdravlje svih živih bića [2]. Budući da se velike količine farmaceutika unose u okoliš putem otpadnih voda, veliki problem se javlja pri njihovoj obradi. S obzirom da konvencionalni postupci nisu u potpunosti djelotvorni u uklanjanju farmaceutika potrebna su daljnja istraživanja novih tehnologija u obradi otpadnih voda.

Cilj ovoga rada je istražiti mogućnost fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina kao novih procesa koji bi se mogli primijeniti u obradi otpadnih voda. Ispitivanja vezana uz fotolitičku razgradnju s primjenom Sunčevog zračenja daju važne informacije ne samo o mogućnosti uklanjanja farmaceutika iz otpadnih voda ovim procesom, nego i o mogućnosti razgradnje farmaceutika u okolišu. Heterogena fotokatalitička razgradnja u prisustvu titanijevog (IV) oksida pokazala se kao ekološki siguran i brz način uklanjanja nitrofurantoina iz otpadnih voda. S obzirom da je poznato da prisutnost farmaceutika u okolišu može uzrokovati određene posljedice živom svijetu, određena je i toksičnost nitrofurantoina i njegovog razgradnog produkta.

2. Opći dio

2.1. Farmaceutici

Farmaceutski aktivne tvari ili skraćeno farmaceutici su velike i kemijski složene organske molekule različitih fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava odgovornih za funkciju lijeka. Vrlo su kompleksna i raznolika skupina spojeva koja se razlikuje prema molekulskoj masi (200 do 1000 Da), kemijskoj strukturi, funkcionalnim grupama (kisele ili bazične) i djelovanju. Karakterizira ih farmakološko i fiziološko djelovanje već pri niskim koncentracijama; specifična biološka aktivnost; ionska priroda; topljivost u vodi te prisutnost u okolišu u niskim koncentracijama [3].

Ove molekule proizvedene su od strane čovjeka i jedne su od najprisutnijih u okolišu, u kojem su u posljednja dva desetljeća detektirani u različitim uzorcima: voda, tla, sedimenta te komunalnih i industrijskih otpadnih voda. Danas se ubrajaju u tzv. „nova zagađivala“ koja su povećala zabrinutost budući da njihovo ponašanje nije u potpunosti istraženo, a zakonska regulativa o njihovom ispuštanju u okoliš još uvijek nije propisana. Niz istraživanja potvrdilo je da čak i vrlo niske koncentracije antibiotika, koje se mogu pronaći u vodenim sustavima, mogu uzrokovati štetne posljedice na čovjeka i vodeni ekosustav [4].

Farmaceutski aktivne tvari imaju široku primjenu u humanoj i veterinarskoj medicini, poljoprivredi, biotehnologiji te kozmetici. Budući da igraju važnu ulogu u zdravlju svih živih bića jer sprječavaju širenje bolesti, ublažavaju bol, poboljšavaju kvalitetu života pa čak i spašavaju život očekuje se da će njihova upotreba kontinuirano rasti zbog porasta broja stanovništva i potrošnje po glavi stanovnika, širenja potencijalnih tržišta, patenata, što stvara potrebu za sve većom proizvodnjom.

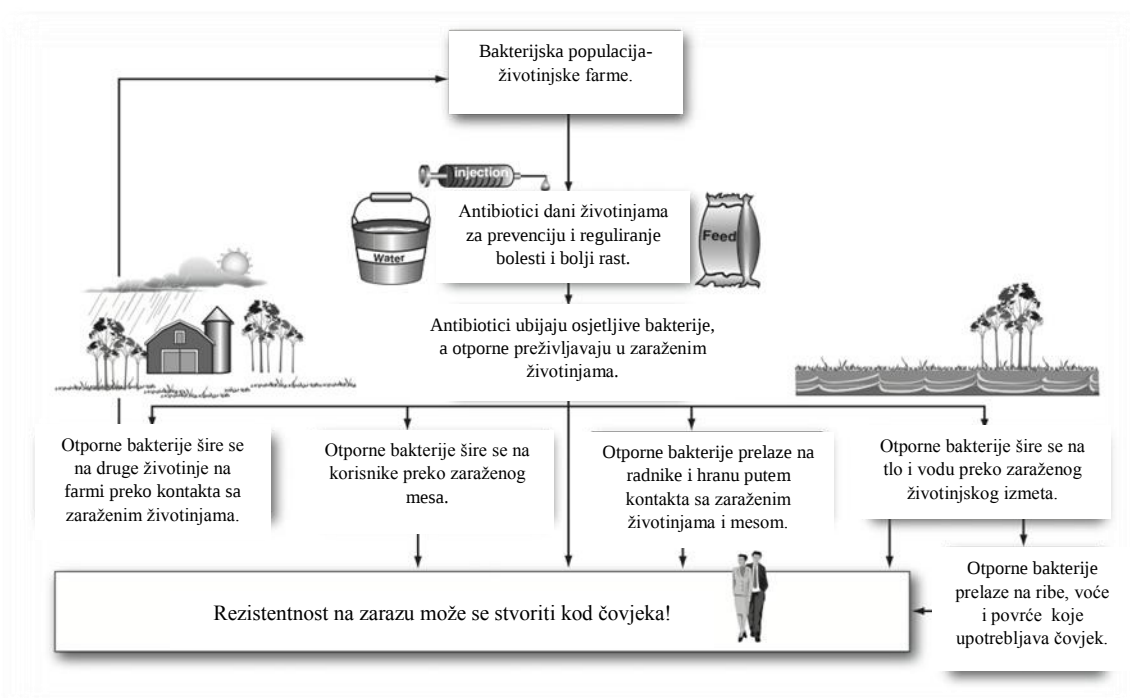
Prema svome djelovanju i kemijskoj strukturi, farmaceutici se mogu podijeliti na analgetike i protuupalne lijekove, antihistaminike, diuretike, antidepresive, antibiotike, antiepileptike, regulatore masnoća u krvi, regulatore tlaka, hormone, steroide, antitumorske lijekove te β -blokatore.

Antibiotici, kao jedna od vrlo raširenih skupina farmaceutika nalazi svoju primjenu u humanoj i veterinarskoj medicini, kao sredstvo za liječenje i prevenciju od bakterijskih infekcija kao i dodatak hrani za promociju rasta životinja. To su sintetske ili polusintetske molekule koje imaju sposobnost zaustaviti rast mikroorganizama ili njihovo repliciranje. Suvremena medicina snažno se oslanja na uporabu ovakvih kemijskih agensa u borbi protiv velikog broja zaraznih bolesti. Moguće ih je primjenjivati na dva načina, peroralno i parenteralno. Peroralna primjena koristi se u liječenju lakših infekcija imunokompetentnih organizama, a parenteralna u liječenju teških infekcija imunokompetentnih organizama. Infekcije imunodeficientnih jedinki liječe se bez obzira na težinu infekcije parenteralnim davanjem antibiotika [5].

U široku skupinu antibiotika pripadaju spojevi po imenu nitrofurani. Nitrofurani, sintetski antibakterijski lijekovi, širokog spektra djelovanja sadrže karakterističan furanski prsten s nitro grupom koji je odgovoran za biološku aktivnost. Ova skupina antibiotika pokazuje antibakterijsko djelovanje prema širokom broju organizama, a najviše prema sljedećim bakterijama: *Salmonella* sp., *E. coli* i *Shigella* sp.. Njihovo djelovanje također uključuje inhibiciju enzima kao što su piruvat oksidaza, glutation reduktaza i aldehid dehidrogenaza. Široku primjenu nalaze u humanoj i veterinarskoj medicini za liječenje urinarnih, želučanih i površinskih infekcija. U veterinarskoj medicini korišteni su i kao aditivi u hrani za brži rast životinja (najčešće stoke i riba). Posljedica velike primjene ovih spojeva su i relativno niske cijene te jednostavna nabava. Najpoznatiji nitrofurani su furazolidon, furaltadon, nitrofurantoin i nitrofurazon. U humanoj medicini, nitrofurantoin i nitrofurazon se koriste protiv velikog broja Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, najčešće za liječenje infekcija urinarnog trakta. Također, antibiotik iz skupine nitrofurana, furazolidon pronalazi široku primjenu u liječenju bakterijskih infekcija na ribljim farmama. Budući da je otkriveno da ovi spojevi sadrže kancerogena i mutagena svojstva u kasnim 1980-ima, porasla je zabrinutost za ljudsko zdravlje zbog velike upotrebe. Počevši s Europom, brojne zemlje 1995. godine zabranile su uporabu nitrofurana na životinjama koje se koriste za proizvodnju hrane.

Od svih farmaceutika najviše zabrinjavaju antibiotici koji pripadaju među vrlo djelotvorne i često upotrebljavane lijekove. Stalnom emisijom određene količine takvih molekula u okoliš, dolazi do razvoja rezistentnih mikroorganizama, što može dovesti do nepredvidivih posljedica. Budući da

bakterije imaju izvrsno razvijene mehanizme genetske prilagodbe, posljedica uporabe antibiotika je brži ili sporiji razvoj rezistencije bakterija na njih. Razlog povećanju brzine rezistencije je i specifična biološka aktivnost antibiotika [4]. Budući da prilikom liječenja infekcija antibiotici ne razlikuju patogene bakterije koje su uzrokovale infekciju od nepatogenih bakterija normalne flore, ta se rezistencija razvija i u bakterija normalne flore, stvarajući tako rezervoare gena rezistencije u prirodi. Na slici 1. mogu se vidjeti glavni tokovi bakterija u okolišu.



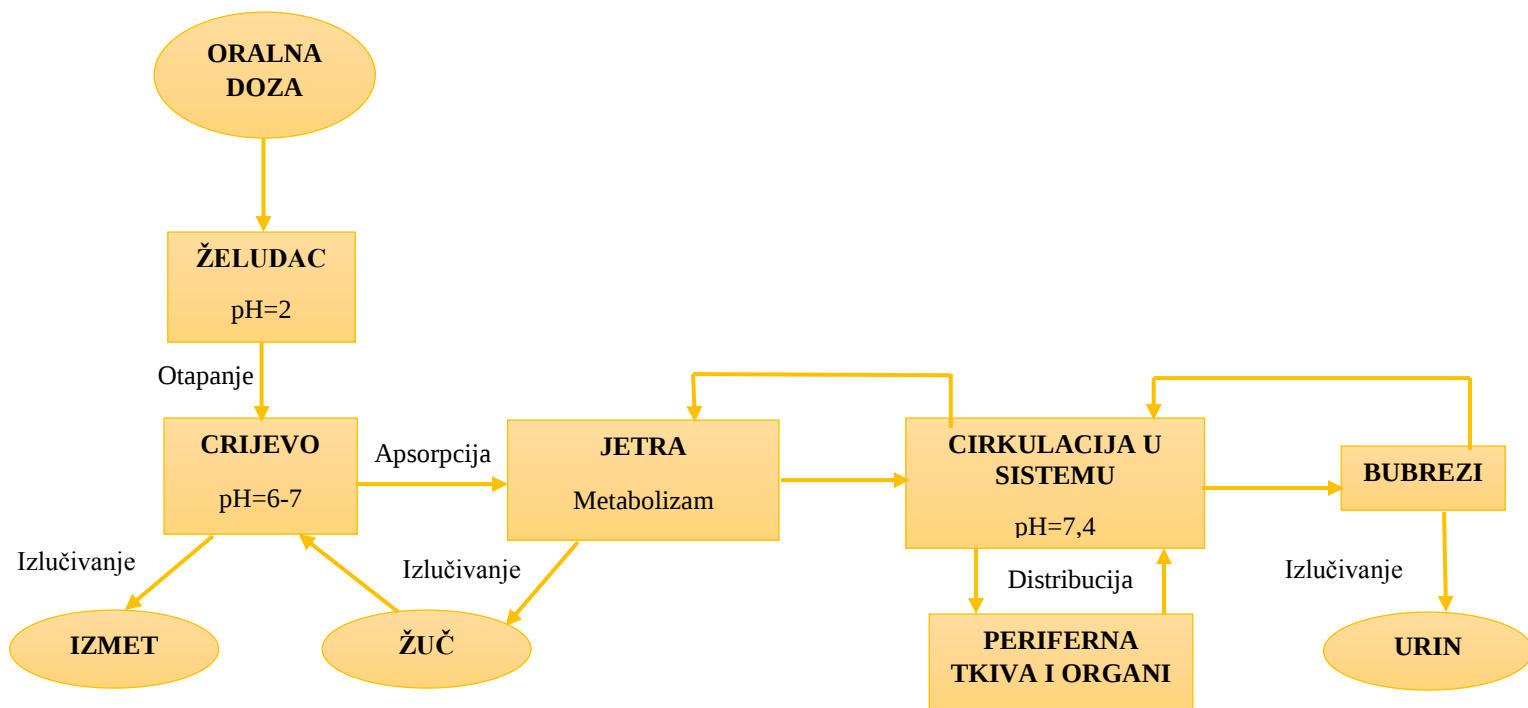
Slika 1. Glavni tokovi bakterija u okolišu [6]

Povijest antibiotika relativno je kratka, počeli su se upotrebljavati tek prije šezdesetak godina. Danas posjedujemo antibiotike kojima se mogu liječiti praktički sve bakterijske infekcije ali nažalost, neke bakterije (stafilokoki, enterokoki, pseudomonas, acinetobakter) postaju rezistentne na većinu antibiotika u primjeni. Uz antibiotike, također zabrinjavaju i njihovi biološki aktivni metaboliti koji također mogu nepovoljno utjecati na pojavu rezistentnosti bakterija na te spojeve. Ovaj problem je danas sve prisutniji u čitavom svijetu, pa se na njega obraća sve veća pozornost [7, 8].

2.1.1. Metabolizam farmaceutika

Posljednjih godina, došlo je do spoznaje da nisu samo farmaceutski aktivne tvari od velikoga značaja nego i molekule nastale strukturnim promjenama u tijelu čovjeka ili životinja [5]. Farmaceutski aktivna tvar, nakon što dospije u živi organizam podvrgnuta je procesima uklanjanja ili eliminacije. Eliminacija je ireverzibilno uklanjanje farmaceutski aktivne tvari iz organizma i sastoji se od dva procesa, metabolizma i izlučivanja. Dok se proces izlučivanja sastoji od eliminacije kemijski nepromijenjenog lijeka ili njegovih metabolita iz organizma, metabolizam uključuje pretvorbu jednog kemijskog oblika u drugi [9].

Metabolizam farmaceutika je proces u kojem molekule, kada dospiju u živi organizam, prolaze kroz niz biokemijskih reakcija te ga napuštaju u nepromijenjenom obliku (kao osnovni spoj), kao polarni metaboliti ili kao smjesa osnovnog spoja i metabolita [10]. Ovaj proces najčešće je uzrokovan enzimima u ljudskom metabolizmu ili mikroorganizmima u crijevima živog bića koji u konačnici pretvaraju manje polarne kemijske molekule u polarnije produkte. Prema tome, metaboliti su spojevi nastali strukturnom promjenom polaznog spoja u organizmu čovjeka ili životinja. U pojedinim slučajevima molekula farmaceutika postaje farmakološki aktivna tek kada se metabolizira. Trajanje i intenzitet farmakološke aktivnosti ovise o brzini metabolizma koja je ovisna o vrsti lijeka, starosti osobe itd. Na slici 2. mogu se vidjeti procesi i sudbina farmaceutika nakon oralne primjene.



Slika 2. Proces i sudbina farmaceutika nakon oralne primjene [3]

Metabolizam farmaceutika sadrži dvije vrste biokemijskih reakcija koje se najčešće odvijaju jedna za drugom, a podijeljene su u reakcije I. faze i reakcije II. faze. Reakcije I. faze su kataboličke reakcije kao što su hidroliza, oksidacija, redukcija, hidroksilacija ili ciklizacija. Produkti ovih reakcija su često kemijski reaktivniji te ponekad toksičniji i kancerogeniji od početnog farmaceutika. Reakcije II. faze su anaboličke (sintetičke) reakcije koje uključuju konjugaciju koja dovodi do stvaranja neaktivnog produkta. Reakcije II. faze su sporije od reakcija I. faze, a u ovu skupinu ubrajaju se reakcije metiliranja, acetiliranja, sulfo-konjugacije itd. Ove reakcije uobičajeno obuhvaćaju uvođenje reaktivne grupe u molekulu farmaceutika, kao što je hidroksilna grupa. Ta se funkcionalna grupa u reakciji konjugacije zamijeni glukuronskom, sulfatnom ili acetilnom grupom čime metabolit postaje dovoljno hidrofilan i topljiv u vodi kako bi se mogao izlučiti iz organizma putem urina [9]. Iako, u nekim je slučajevima potrebna kombinacija obiju vrsta reakcija za izlučivanje farmaceutika, promjena kemijske strukture molekule samo jednim enzimom dovoljna je da se stvori metabolit koji će se brzo izlučiti iz

organizma. Također, ovisno o enzimu odgovornom za reakciju, u većini slučajeva farmaceutiku se povećava polarnost te on u potpunosti ili djelomično gubi farmakološko djelovanje [3].

Budući da se nastali metaboliti ne zadržavaju u tjelesnoj masi čovjeka ili životinje nego se izlučuju putem urina ili izmeta oni dopijevaju u okoliš. Zbog stalne i često nekontrolirane uporabe farmaceutika, koncentracija tih molekula kontinuirano se povećava u okolišu. Farmaceutici kao i metaboliti lako mogu dospjeti u vodene sustave te se akumulirati u tlu ili sedimentu. Njihova prisutnost u okolišu može imati nepovoljan utjecaj na prirodne ekosustave te pogubne posljedice za sve žive organizme [11].

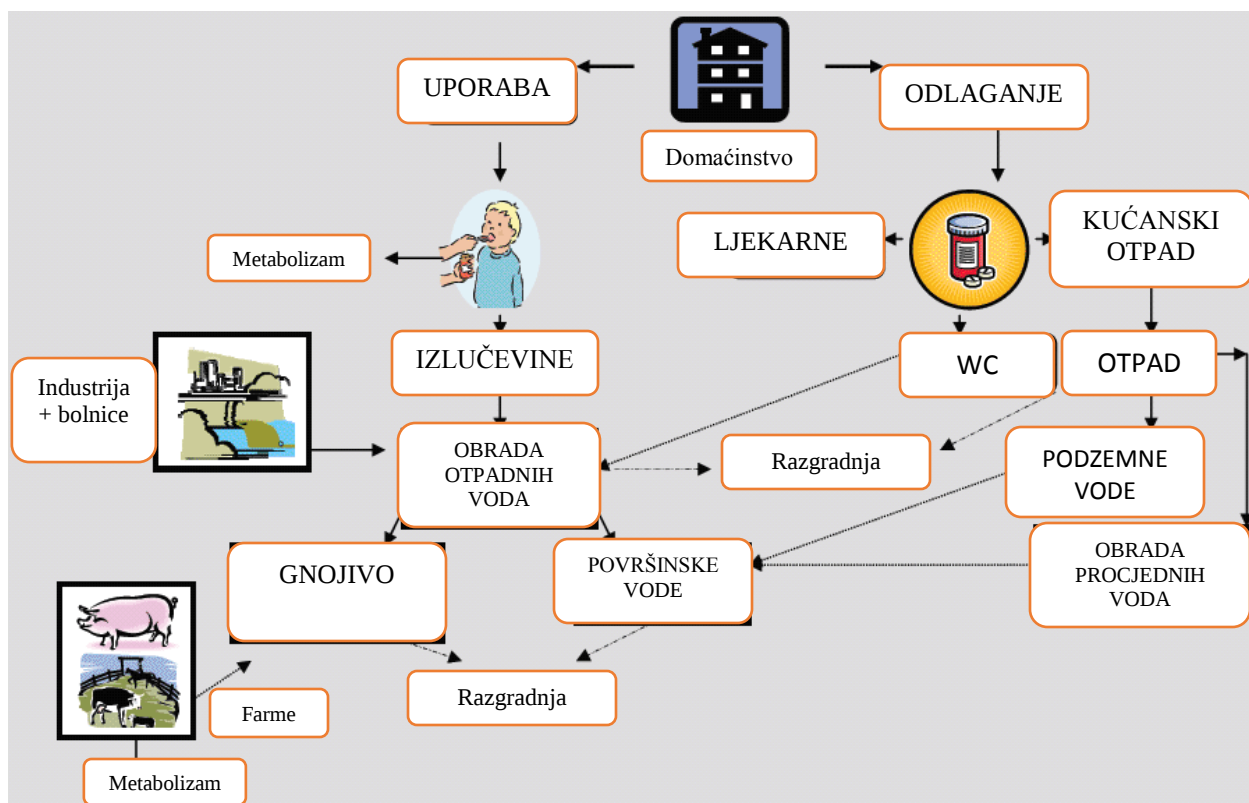
2.2. Farmaceutici u okolišu

Pojava i sudbina farmaceutika kao i proizvoda za osobnu higijenu postala je glavna tema istraživanja u 21-om stoljeću, ne zbog niskih koncentracija koje su pronađene u okolišu nego zbog same prirode ovih molekula. Brojni eksperimenti provedeni u razvijenim zemljama kao što su SAD, Kanada, Japan, Koreja, Australija te zemlje Europe rezultirali su pronalaskom više od 80 spojeva prisutnih u vodenom ekosustavu [12].

Povećana potrošnja farmaceutika u različitim područjima primjene rezultirala je kontinuiranim ispuštanjem ovih molekula i njihovih metabolita u okoliš, što u konačnici uzrokuje njihovo trajno zadržavanje. Procijenjena svjetska potrošnja farmaceutika iznosi više od 100 000 t godišnje te konstantno raste. Razlog otkrivanja sve većih koncentracija farmaceutika u okolišu je i razvoj naprednih analitičkih instrumenata koji omogućavaju analizu tragova različitih spojeva s vrlo niskom granicom detekcije i visokom osjetljivosti [13, 14].

Zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava kao što su npr. hidrofilnost, farmaceutici i njihovi metaboliti imaju sposobnost prolaska kroz sve prirodne filtre i postrojenja za obradu otpadnih voda ugrožavajući tako sustav opskrbe pitkom vodom.

Mogući putevi unosa farmaceutika u okoliš prikazani su na slici 3.



Slika 3. Putevi unosa farmaceutika u okolišu [15]

Nakon primjene farmaceutici se ne zadržavaju u tjelesnoj masi čovjeka ili životinje nego se izlučuju putem urina ili izmeta. Kao što je prikazano na slici 3., životinjske izlučevine su veliki izvor farmaceutika u okolišu. Razlog toga je što se većina farmaceutika koji se koristi u veterinarskoj medicini završava u gnojivu za poljoprivredna dobra. Prilikom raspršivanja i nanošenja gnojiva farmaceutici ili njihovi metaboliti prisutni u gnojivu zbog svoje dobre topljivosti predstavljaju prijetnju podzemnim, površinskim te pitkim vodama. Ujedno, zbog velikog razvoja farmaceutske industrije njihov broj i koncentracija u površinskim, podzemnim i otpadnim vodama se iz dana u dan drastično povećavaju. Problem se također javlja pri ispuštanju komunalnih otpadnih voda, a u manjoj mjeri i kod industrijske proizvodnje gdje može doći do nedovoljne obrade otpadnih voda koje također mogu zagađati pitke vode što predstavlja veliki put njihova ispuštanja u okoliš. Također, jedan od puteva kontinuiranog unosa i širenja humanih i veterinarskih farmaceutika u okolišu je odlaganje neiskorištenih ili farmaceutika kojima je istekao rok trajanja te kao rezultat proizvodnih procesa. Neprikladno odlaganje antibiotika, kao i

prekomjerna upotreba uzrok je stvaranja rezistentnosti na antibiotike, što može biti vrlo opasno za ljudsko zdravlje [5].

Brojna istraživanja pokazala su da farmaceutici i njihovi metaboliti ostavljaju štetne posljedice na vodene i kopnene organizme zbog same prirode molekule. Postoje dvije vrste utjecaja farmaceutika na okoliš, a to su kratkoročni i dugoročni. Takvi utjecaji najčešće se proučavaju na organizmima kao što se alge, rakovi i ribe. Dokazano je da 10-15% farmaceutika ima dugoročnu toksičnost za određene biološke vrste, a podaci su dostupni za manje od 15% farmaceutika od ukupnog broja koji dospijevaju u okoliš. Također kao veliki problem, osim za vodenu floru i faunu, su dugoročne ekotoksikološke posljedice na čovjeka [16, 17]. Procjenjuje se da se čak oko 70% antibiotika izravno unosi u vodene ekosustave. Jednom kada se unesu u okoliš, ove molekule mogu biti podvrgnute različitim procesima koji vode njihovoj transformaciji i razgradnji [17].

2.2.1. Sudbina farmaceutika u okolišu

Sudbina farmaceutika u okolišu ovisi o nizu različitih čimbenika kao što su fizikalno-kemijska svojstva samog spoja te uvjeti u okolišu (npr. pH-vrijednost te sastav matice uzorka). Brojni uvjeti u okolišu: klima, pH-vrijednost, redoks potencijal, komponente u vodi i sedimentu također utječu na ponašanje ovih molekula u vodenom i kopnenom ekosustavu [3].

Nakon primjene, farmaceutik se izlučuje iz tijela kao osnovna molekula, njegov metabolit ili smjesa osnovne molekule i metabolita. Kao takav dolazi u okoliš u kojem može biti podvrgnut različitim procesima koji mogu rezultirati strukturnim promjenama farmaceutika, pri čemu nastaju novi spojevi različitih fizikalno-kemijskih svojstava te farmaceutske aktivnosti. Ti procesi mogu biti abiotički ili biotički. Biotički procesi obuhvaćaju djelovanje različitih organizama kao što su bakterije, gljivice i alge. Abiotička razgradnja ili razgradnja kemijskim reakcijama najčešće uključuje hidrolizu, fotolizu, oksidaciju i redukciju. Rezultat ovih procesa je smanjenje koncentracije osnovne komponente te nastanak novih spojeva koji mogu imati drugačija fizikalno-kemijska svojstva te biti toksičniji od osnovne komponente. Neki farmaceutici pokazuju

izrazitu tendenciju sorpcije na krute matice (tlo, sediment, suspendirane čestice) pa se tako mogu akumulirati u tlu i sedimentu te se time smanjuje njihova farmaceutska aktivnost u okolišu [3, 4].

Biotička razgradnja, kao važan proces za farmaceutike u vodenom okolišu, može dovesti do djelomične ili potpune transformacije početne molekule. Vrlo je poželjan zbog toga što bakterije i gljivice razgrađuju organsku tvar do anorganskih soli, ugljikovog dioksida i vode pri aerobnim uvjetima. Biološkim putem može se razgraditi samo mali dio antibiotika dok je većina njih otporna na djelovanje mikroorganizama [4]. U brojnim slučajevima, metaboliti nastali procesom biotičke razgradnje su polarniji nego početna molekula. Velika polarnost u kombinaciji s niskom biorazgradivosti može rezultirati slabom razgradnjom ovakvih spojeva [3]. Čimbenici koji su važni za rezultat biotičke razgradnje su temperatura, sastav matice, geografska širina itd. [4].

Za sudbinu farmaceutika u vodenim ekosustavima, hidroliza je značajan proces abiotičke razgradnje [3]. Hidroliza je bitna samo za neke farmaceutike u vodenim sustavima, budući da nisu svi podložni hidrolitičkoj razgradnji. Ona ovisi o pH-vrijednosti vode, temperaturi, brzini toka vode i intenzitetu svjetlosti [4]. Tijekom hidrolize dolazi do cijepanja molekula složenih kemijskih spojeva u reakciji s vodom, kidanja kovalentnih veza, pri čemu se vodikov atom vode spaja s jednim, a hidroksilna grupa s drugim produktom razgradnje. Također, ovaj proces je jedan od važnijih fizioloških procesa u organizmu (razgradnja bjelančevina, masti, ugljikohidrata itd.) [18].

2.3. Primjena zračenja u razgradnji farmaceutika

Procesi razgradnje farmaceutika kao što su fotoliza i fotokataliza koriste visokoenergetske izvore zračenja poput elektronskih snopova, ultraljubičastog (UV) zračenja i ultrazvučnih valova. Navedene vrste zračenja upotrebljavaju se za pokretanje procesa oksidacijske razgradnje različitih neželjenih farmaceutika prisutnih u vodi.

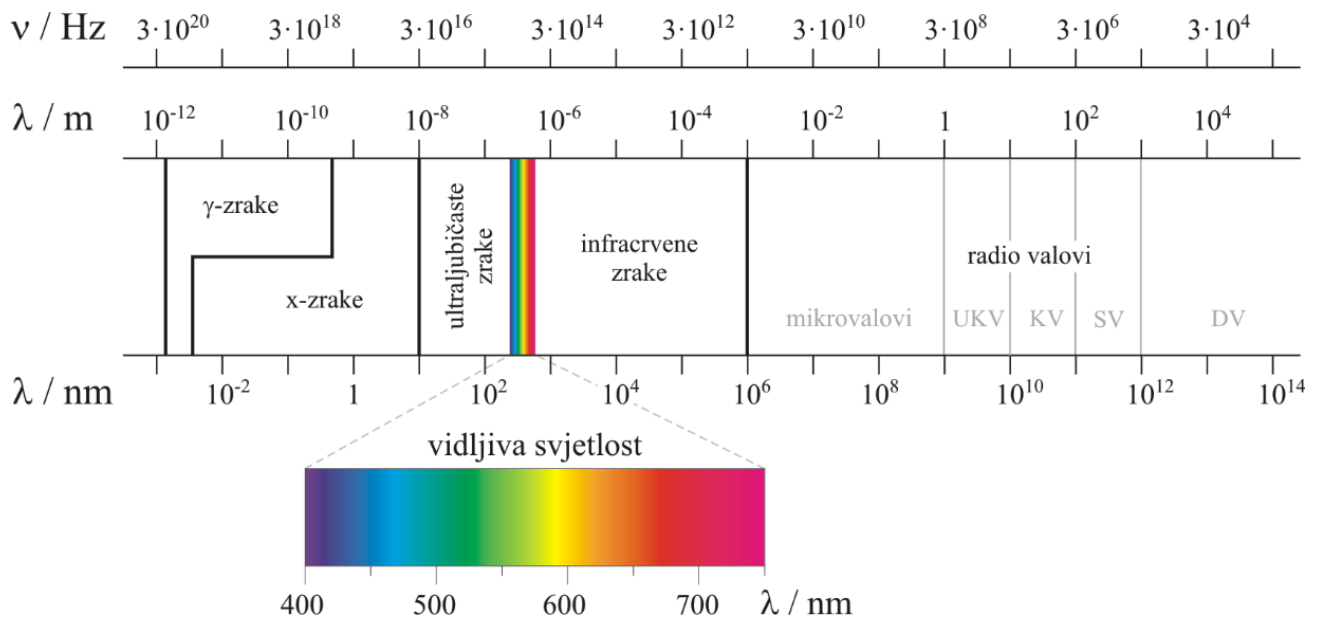
Veliku primjenu ovakvi procesi pronalaze u obradi voda, a upotreba takvih oblika zračenja dovela je do razvoja novih tehnologija za uklanjanje farmaceutika iz otpadnih voda. Najčešće korišteni oblik zračenja je UV zračenje koje se najčešće primjenjuje za fotorazgradnju farmaceutika. Proučavanje procesa razgradnje farmaceutika djelovanjem zračenja zaokuplja

znanstvene krugove i, posebno u posljednjih 10 godina, uočava se snažna težnja za pronalaskom novih izvora UV zračenja, konstrukcijskih rješenja fotokemijskih reaktora i proučavanje novih fotokatalizatora s ciljem povećanja učinkovitosti procesa [19].

2.3.1. Elektromagnetsko zračenje

Elektromagnetsko zračenje (EMZ) je oblik energije zračenja koja je oslobođena određenim elektromagnetskim procesima, a sastoji se od valova koji su sinkronizacija titranja električnih i magnetskih valova. To je vrsta energije koja se prenosi kroz prostor velikom brzinom, a karakteriziraju je dualna svojstva (valna i čestična). EMZ možemo predložiti kao roj ultrasitnih čestica koje se nazivaju fotoni. Svaki foton nosi određenu količinu energije (kvant energije EMZ) [20]. Općenito, to su elementarne čestice bez mase koje se gibaju brzinom svjetlosti. Sva ugrijana tijela zrače elektromagnetske valove, pa prilikom grijanja nekog tijela, ono prima energiju te atomi počinju titrati jer prelaze iz osnovnog u pobuđeno stanje.

Valne duljine elektromagnetskih valova možemo prikazati pomoću spektra elektromagnetskog zračenja (slika 4.).



Slika 4. Spektar elektromagnetskog zračenja [20]

Spektar EMZ podijeljen je na ionizirajuće i neionizirajuće zračenje. Zrake velike energije mogu iz ljuske atoma izbaciti elektrone i time ionizirati atom te se zbog toga nazivaju ionizirajuće zrake. Ovoj skupini pripadaju rendgenske (X-zrake), gama zrake (γ -zrake) i kozmičke zrake. Neionizirajuće, zrake manje energije su radiovalovi, mikrovalovi, vidljiva svjetlost, infracrvene i ultraljubičaste zrake. Ljudsko oko vidi samo uski dio elektromagnetskog spektra, a to je vidljivo zračenje [21].

Čestična svojstva opisuju EMZ kao česticu - foton. Količina energije kvanta zračenja ili fotona dana je Planckovom jednadžbom, a prikazana je izrazom:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} \left[\frac{J}{\text{foton}} \right] \quad (1)$$

pri čemu je:

h – Planckova konstanta ($6,62608 \cdot 10^{-34}$ J·s/foton)

ν – frekvencija zračenja (s^{-1})

c – brzina svjetlosti ($2,9979 \cdot 10^8$ m·s $^{-1}$)

λ – valna duljina zračenja (m)

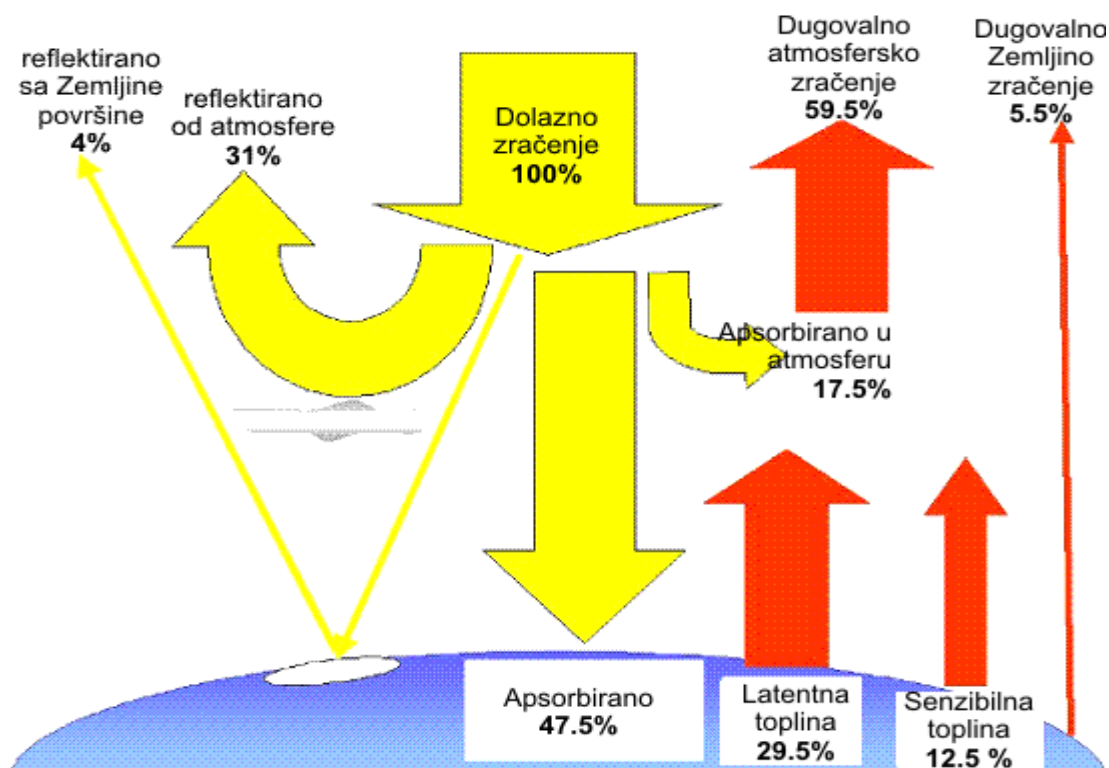
Elektromagnetski valovi sadrže četiri važna svojstva, a to su:

1. Za razliku od ostalih valova koji se šire nekim sredstvom, oni se mogu širiti vakuumom.
2. Titrajuća električna i magnetska polja u linearno polariziranom elektromagnetskom valu su u fazi.
3. Smjerovi električnog i magnetskog polja su okomiti jedan na drugi i oba su okomita na smjer širenja vala.
4. Brzina elektromagnetskih valova ovisi o električnim i magnetskim svojstvima medija kojim se šire, a ne o amplitudi elektromagnetskog polja [22].

2.3.2. Sunčevo zračenje

Sunčevo zračenje je cjelokupan spektar EMZ koje nastaje u jezgri Sunca kao rezultat nuklearne fuzije [23]. To je količina energije izražena u kalorijama, koja u jednoj minuti dopiye na horizontalnu površinu Zemlje po 1 cm^2 [24]. Sunčevo zračenje koje dolazi do Zemljine atmosfere naziva se ekstraterestičkim zračenjem, a količina tog zračenja koja dopiyeva na njezinu površinu iznosi $3 \cdot 10^{24} \text{ J/god}$, što je 10^4 puta veća količina od trenutne svjetske potrošnje. Sva ta energija koja dolazi sa Sunca pokreće razne sustave na Zemlji [25].

Sunčeva svjetlost se filtrira i prigušuje kroz Zemljinu atmosferu te je najveća na gornjoj granici atmosfere, a na Zemljinu površinu dolazi u obliku izravnog i raspršenog zračenja (slika 5.). Raspršenje se događa na česticama vode (oblaci) i prašine, te na molekulama plinova u atmosferi (Rayleighovo raspršenje).

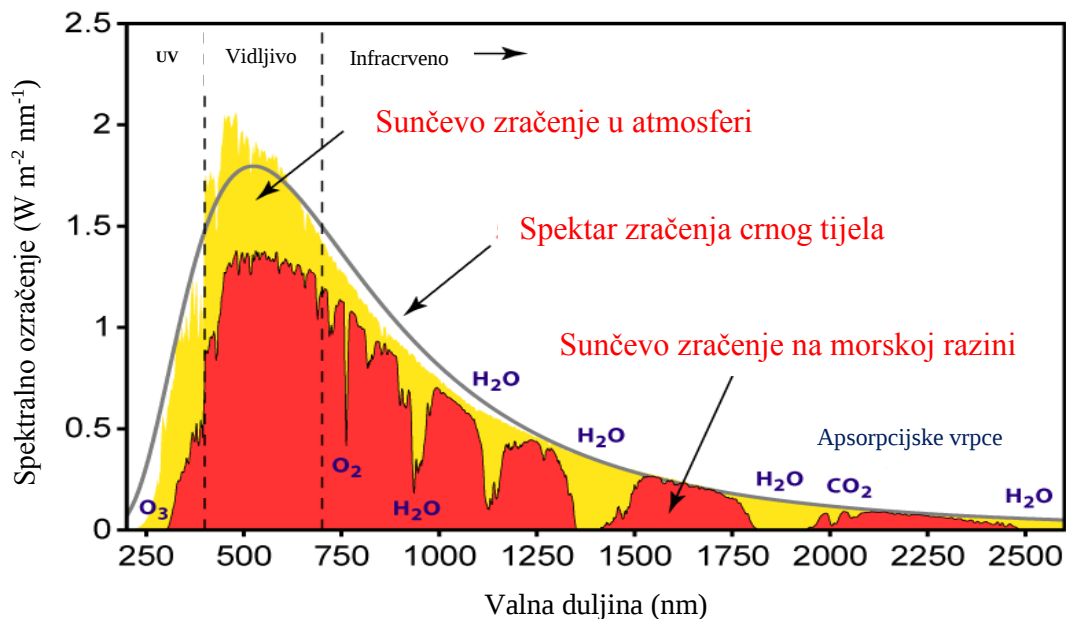


Slika 5. Raspodjela Sunčevog zračenja u atmosferi [26]

Za razgradnju farmaceutika značajno je prizemno Sunčevo zračenje, odnosno ono koje kroz atmosferu dopiye do površine Zemlje. Ono je, naravno, slabije nego zračenje na ulasku u

Zemljinu atmosferu, jer na tom putu izgubi od 25% do čak 50% energije zbog raspršenja i apsorpcije. Ukupna ozračenost uvelike ovisi o trajanju insolacije (sijanja Sunca) koje jako ovisi o godišnjem dobu.

Osim toga, Sunčevo zračenje je različito na različitim mjestima na Zemlji, ovisi o klimatskim uvjetima i mijenja se tijekom sata, dana, mjeseca i godine. Zbog toga se i oblik spektra Sunčeva zračenja na površini Zemlje mijenja što se može vidjeti na slici 6. [19].



Slika 6. Spektar Sunčevog zračenja [27]

Spektar Sunčevog zračenja je gotovo jednak toplinskom zračenju idealnog crnog tijela s temperaturom od 5505 °C. Čitav spektar koji dopijeva na površinu Zemlje je u intervalu valnih duljina 100 nm do 1 mm. Dakle, prema podjelama spektra EMZ, Sunce površinu zemlje ozračuje:

a) Ultraljubičastim C zračenjem (UVC) - raspon od 100 do 280 nm, ima valne duljine manje od vidljive svjetlosti i zato je nevidljivo za ljudsko oko. Zahvaljujući Zemljinoj litosferi, gotovo neznatna količina stigne na tlo. UVC zračenje uništava najveći broj mikroorganizama jer uništava DNA.

- b) Ultraljubičastim B zračenjem (UVB) - raspon od 280 do 315 nm. Veći dio tog zračenja upija Zemljina atmosfera i zajedno s UVC zračenjem omogućuje fotokemijsku reakciju, koja stvara ozonski omotač.
- c) Ultraljubičastim A zračenjem (UVA) - raspon od 315 do 400 nm. Stvara spontanu i neposrednu pigmentaciju kože povećanom proizvodnjom melanina.
- d) Vidljivom svjetlosti (VID)- raspon od 400 do 700 nm. Svjetlost vidljiva ljudskom oku, čiji spektar čine ljubičasta, plava, zelena, žuta, narančasta i crvena boja.
- e) Infracrvenim zračenjem (IC) - raspon od 700 nm do 1 mm. Važan je dio zračenja jer doprinosi zagrijavanju Zemlje, te se može podijeliti na IC-A, IC-B i IC-C [23].

Ultraljubičasti dio Sunčeva spektra koji dopiše na Zemljinu površinu čini 3-5% ukupnog Sunčeva zračenja na horizontalnu plohu. Takav oblik zračenja koristi se u raznim procesima razgradnje farmaceutika, kao što su fotoliza i fotokataliza. Ta dva procesa nalaze veliku primjenu u svim područjima obrade voda gdje je potrebno ukloniti razna zagađivala, a među njima i farmaceutski aktivne tvari.

Samo Sunčevo zračenje, odnosno njegov UV dio spektra, uglavnom nije dovoljno da se postigne potpuna razgradnja farmaceutika u vodi. Međutim, u međudjelovanju s određenim tvarima (katalizatori, H_2O_2 , O_3) ubrzava se proces razgradnje te je moguće postići potpunu razgradnju u prihvatljivom vremenskom periodu, i to putem različitih mehanizama [19].

2.4. Fotolitička razgradnja farmaceutika

Brojna istraživanja pokazala su da se farmaceutici ne mogu u potpunosti ukloniti konvencionalnim postupcima obrade otpadnih voda te mogu ući u prirodne tokove i potencijalno štetno djelovati na vodeni i kopneni svijet, a time i ljude koji koriste onečišćenu vodu. Stoga je razvoj naprednih postupaka obrade otpadnih voda koje sadrže farmaceutike cilj brojnih istraživanja u zadnjih nekoliko desetljeća. Veliki značaj pridaje se istraživanjima fotolitičke i

fotokatalitičke razgradnje uz primjenu Sunčevog zračenja kao dostupnog i jeftinog izvora zračenja.

Da bi farmaceutik bio podložan fotolitičkoj razgradnji, mora apsorbirati Sunčevu svjetlost, a kod farmaceutika tu sposobnost najčešće imaju spojevi koji sadrže aromatske prstene [27]. Dakle, razgradnja molekula prilikom njihovog osvjetljavanja uzrokovana je apsorpcijom UV zračenja te kvantnim iskorištenjem određene molekulske vrste. Apsorpcija UV zračenja izražena je kao molarni ekscitacijski koeficijent, koji pokazuje koliko određena kemijska vrsta apsorbira svjetlost pri valnoj duljini koja se koristi za njegovu razgradnju. Količina i vrsta UV zračenja te kontaktno vrijeme smatraju se bitnim čimbenicima za učinkovitost uklanjanja farmaceutika iz okoliša [28, 29]. S obzirom da brojni farmaceutici ne apsorbiraju Sunčevo zračenje i stoga nisu podložni fotolitičkoj razgradnji, potrebno je ispitati mogućnosti njihove fotokatalitičke razgradnje.

2.5. Napredni oksidacijski procesi

Napredni oksidacijski proces (engl. *advanced oxidation processes*, AOPs) su procesi u kojima pod utjecajem energije, bilo kemijske, električne ili energije zračenja, dolazi do stvaranja vrlo reaktivnih hidroksilnih radikala koji se odlikuju mogućnošću brze i djelotvorne razgradnje organskih onečišćivala prisutnih u otpadnoj vodi u uvjetima atmosferskog tlaka i temperature. Ovi procesi koriste zračenja visokih energija poput UV zračenja, elektronskih snopova kako bi došlo do razgradnje farmaceutika. Kada u nekoj reakciji oksidacije nastanu reaktivni slobodni radikali, slijede oksidacijske reakcije između nastalih radikala i drugih reaktanata sve dok se ne formiraju termodinamički stabilni oksidacijski produkti. Općenito, oksidacija se odvija posredstvom hidroksilnih radikala, koji su vrlo jaka oksidirajuća vrsta u vrlo blagim eksperimentalnim uvjetima. Hidroksilni radikal kao neselektivni oksidans sa svojim oksidacijskim potencijalom gotovo potpuno pretvara organsku tvar u CO₂ i vodu [30].

Napredni oksidacijski procesi koji su najčešće u uporabi uključuju različite izvedbe procesa s obzirom na način njihovog provođenja:

- procese koji se provode uz prisutnost UV zračenja (fotoliza),
- procese koji se zasnivaju na primjeni ozona, O₃ (ozonoliza),

- procese koji se zasnivaju na kombinaciji fotolize i ozonolize (UV/O₃),
- fotokatalitičke procese koji se zasnivaju na primjeni titanijevog (IV) oksida (UV/TiO₂),
- fotokatalitičke procese uz prisutnost vodikovog peroksida (UV/H₂O₂),
- Fentonove procese (oksidacija s H₂O₂ katalizirana Fe solima, Fe(II)/H₂O₂),
- Fentonu slični procesi (Fe(III)/H₂O₂, Fe(0)/H₂O₂) i dr. [49].

Takvo kombiniranje procesa je vrlo povoljno za procese uklanjanja farmaceutika, jer se mane pojedinačnih procesa smanjuju, a učinkovitost razgradnje organskih molekula se povećava [3].

Napredni oksidacijski procesi predstavljaju alternativu tradicionalnim biološkim, fizikalnim i kemijskim metodama pročišćavanja otpadnih voda. Budući da su pokazali dobar učinak na uklanjanje farmaceutika, pronašli su veliku primjenu u industrijama za pročišćavanje otpadnih voda.

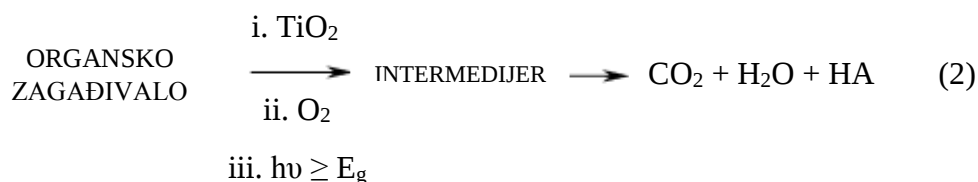
2.6. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika

Novija istraživanja u području tehnologija obrada pitkih i otpadnih voda sve više se usmjeravaju na poboljšanje ekonomičnosti postojećih procesa i njihovu ekološku prihvatljivost. Pritom, utrošena energija i sporedni produkti koji nastaju kao rezultat primjene odgovarajuće tehnologije postaju ključni parametri u ocjenjivanju prihvatljivosti odgovarajuće tehnologije [31]. Fotokatalitička razgradnja, kao jedan od AOP-a smatra se obećavajućom tehnologijom kojom se učinkovito može pretvoriti Sunčevu energiju u održivu „zelenu“ energiju premda su teorijska istraživanja molekulskog mehanizma fotokatalitičkih reakcija vrlo rijetka [32].

Fotokatalitički procesi su procesi razgradnje organskih molekula koji obuhvaćaju početnu apsorpciju fotona u molekuli neke tvari koja se želi razgraditi ili na površini fotokatalizatora. Ako se apsorpcija fotona dogodila u molekuli neke tvari, ona prelazi u reaktivna elektronski pobuđena stanja kojima se pokreću primarne fotokemijske reakcije. Prije pobude molekula se nalazi u stanju najniže energije, uobičajeno nazivanom nepobuđeno stanje. To stanje je karakterizirano distribucijom elektrona u molekulskoj orbitali (MO) najniže energije. Svaka MO sadrži najviše dva elektrona sa suprotnim spinom. Da bi se ostvarilo elektronski pobuđeno stanje, molekula

mora apsorbirati foton s energijom većom ili jednakom razlici energija između najniže nepopunjene molekularne orbitale LUMO (engl. *lowest unoccupied molecular orbital*) i najviše popunjene molekularne orbitale HOMO (engl. *highest occupied molecular orbital*). U trenutku apsorpcije fotona određene energije dolazi do prebacivanja elektrona iz HOMO u LUMO. Takvo pobuđeno stanje posjeduje energiju, strukturu i trajanje koji su ovisni o samoj tvari koja apsorbira kao i o interakcijama s okolišem [33, 34].

Fotokataliza ima vrlo široku primjenu, a najznačajnija područja primjene odnose se na pročišćavanje zraka, obradu otpadnih voda, razgradnju neželjenih organskih i anorganskih spojeva, uklanjanje metala u tragovima (iz voda) te razgradnju prirodnih organskih spojeva (npr. humusnih tvari) [35]. Vezano uz pročišćavanje zraka potrebno je istaknuti da se fotokatalitičkim procesima mogu razgraditi različiti hlapljivi organski spojevi. Velike su mogućnosti primjene fotokatalize pri obradi otpadnih voda gdje se mogu ukloniti različiti teško razgradljivi organski spojevi, teški metali te ulja. Također, uklanjanje metalnih iona kao što su Ag(I), Cr(VI), Hg(II), Pt(II)) provodi se reakcijama redukcije pomoću fotogeneriranih elektrona u vodljivoj vrpici fotokatalizatora te se na taj način metalni ioni prevode u manje toksične ili netoksične tvari. Naposljetku, fotokatalitičkom razgradnjom dolazi do stvaranja reaktivnih intermedijera, te kroz brze reakcije konačno do ugljikova dioksida, vode i jednostavnih mineralnih kiselina (HA), što je prikazano shemom:



2.6.1. Heterogena fotokatalitička razgradnja farmaceutika

Proces heterogene fotokatalitičke razgradnje uključuje dvofazni ili višefazni sustav u kojem se reakcije odigravaju na graničnoj površini između fotokatalizatora i tekuće ili plinovite faze, pri čemu se fotokatalizator nalazi u čvrstom stanju na stabilnoj podlozi. Za iniciranje reakcije koristi se odgovarajući izvor svjetlosti te poluvodički materijal. Kada započne pobuđivanje elektrona, djelovanjem energije zračenja, nastali parovi elektron-šupljina mogu sudjelovati u prijenosu

naboja na adsorbirane komponente na spomenutoj graničnoj površini što rezultira fotooksidacijom ili fotoredukcijom reaktanata. Ukoliko poluvodički katalizator ostane nepromijenjen za vrijeme reakcije, tj. ako je inertan, a prijenos naboja je stalan dolazi do procesa koji se naziva heterogena fotokataliza. Na granici faza, gdje se odigrava fotokemijska reakcija, može doći do neposredne razgradnje tvari ili do nastajanja radikala koji uzrokuju daljnju razgradnju. U prisutnosti vode dolazi do nastajanja reaktivnih oblika kisika (eng. *reactive oxygen species*, ROS), kao što su superoksid (O_2^-), peroksid (O_2^{2-}), singletni kisik (1O_2) te hidroksil radikal ($OH^\bullet$). Ovi spojevi sudjeluju u redoks reakcijama, koje su iznimno učinkovite za razgradnju farmaceutski aktivnih tvari [36].

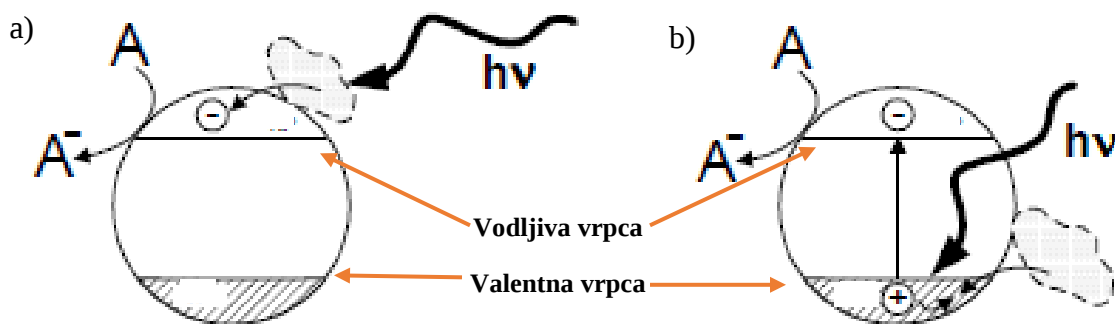
Učinkovitost heterogene fotokatalize ovisi o nizu čimbenika koji upravljaju kinetikom, kao što je koncentracija katalizatora, pH otopine, dodatak oksidansa te početna koncentracija ispitivanog spoja. Poboljšanja se mogu postići kombiniranjem UV zračenja s različitim vrstama fotokatalizatora. Reakcije heterogene fotokatalize najčešće prate Langmuir–Hinshelwood kinetički model, koji se odnosi na prvi ili nulti red kinetike, ovisno o uvjetima rada [3].

Fotokatalitičke reakcije na čvrstom poluvodiču privukle su veliku pozornost zbog svoje primjenjivosti u procesima za uklanjanje raznih farmaceutika uz upotrebu Sunčevog zračenja. Da bi došlo do fotokatalitičke reakcije na površini katalizatora mora doći do apsorpcije svjetla dovoljne energije da pobudi prelazak elektrona iz valentne u vodljivu vrpcu, pri čemu se u valentnoj vrpici stvara oksidativna šupljina. Fotogenerirani elektroni (e^-) i šupljine (h^+) su sposobni za oksidaciju i redukciju adsorbiranih tvari na njegovoj površini, ali i sudjelovati u redukciji prvotno pobuđenih molekula.

Poluvodički katalizatori u fotokemijskim reakcijama mogu sudjelovati na dva načina, direktno i indirektno [37]. Odnosno, u ovisnosti o tome gdje se početna pobuda odvija, fotokemijski procesi se dijele u dvije vrste procesa prikazanih na slici 7.:

- a) ako se početna pobuda dogodila u molekuli koja se adsorbirala na česticu katalizatora i koja reagira s nepobuđenim katalizatorom predajući preko njega elektron kroz vodljivu vrpcu na druge adsorbirane tvari, proces se naziva *katalizirana fotoreakcija*, slika 7a.;

- b) ako se početna pobuda događa u česticama fotokatalizatora i pobuđeni katalizator prenosi elektrone ili energiju u nepobuđenu adsorbiranu molekulu neke tvari proces se tada naziva *pobuđena fotoreakcija*, slika 7b.



Slika 7. Osnovni oblici fotokatalitičkih procesa: katalizirana fotoreakcija (a) i pobuđena fotoreakcija (b) [19]

Heterogena fotokataliza pokazala se kao vrlo uspješna metoda u procesima razgradnje organskih zagađivala u vodi i atmosferi. Konačni produkt razgradnje organskih tvari su ugljikov dioksid i voda. U dosadašnjim brojnim istraživanjima na području razgradnje organskih tvari iz vodenih otopina pomoću fotokatalizatora, kao tvar koja najbolje ispunjava navedene uvjete pokazao se titanijev (IV) oksid, TiO_2 [3].

2.6.2. Fotokatalizatori

Kristalna rešetka metala sadrži veliki broj atoma koji tvore molekulske orbitale unutar određene elektronske vrpce, koje se neznatno razlikuju u energiji. Elektronske vrpce obično su međusobno odijeljene energijskim procjepima ili zabranjenim zonama (E_g). U zabranjenoj zoni se ne nalaze elektroni jer ona ne sadrži dopuštene energijske nivoe, a njezina energija onemogućava slobodan prijelaz elektrona iz energijski niže u energijski višu vrpcu. Djelomično popunjena vrpca sadrži valentne elektrone i naziva se valentnom vrpcom, a prazna vrpca naziva se vodljivom vrpcom. Elektroni potpuno popunjene vrpce ne mogu sudjelovati u električnoj vodljivosti, jer nemaju slobodne energijske nivoe, a zabranjena zona sprječava prijelaz u višu vrpcu [38]. Električna i

toplinska vodljivost zasniva se na prijelazu visoko energijskih elektrona jedne vrpce u slobodne energijske nivoe druge vrpce. Neke čvrste tvari imaju malu električnu vodljivost pri sobnoj temperaturi, koja znatno poraste s dovođenjem energije (toplinska energija, energija zračenja). Takve tvari nazivaju se poluvodiči. Poluvodiči imaju praznu vodljivu vrpcu i potpuno popunjenu valentnu vrpcu koje su međusobno odvojene uskom zabranjenom zonom. Pri sobnoj temperaturi vrlo je malo elektrona termički dovoljno pobuđeno da bi bio moguć prijelaz iz valentne u vodljivu vrpcu. Dovođenjem energije, u obliku topline ili energije zračenja, raste energija elektrona te oni mogu preko zabranjene zone prelaziti iz valentne u vodljivu vrpcu. Energija potrebna za pobuđivanje elektrona iz valentne vrpce u vodljivu vrpcu ovisi o širini zabranjene zone [39].

Fotokatalitička svojstva određenih materijala primjenjuju se za pretvaranje energije zračenja u kemijsku energiju koja onda uzrokuje oksidaciju odnosno redukciju tvari u svrhu dobivanja korisnih materijala ili u cilju uklanjanja zagađivala prisutnih u vodi i zraku [40]. Kao katalizatori u fotokatalitičkom procesu mogu se primijeniti različiti poluvodiči: TiO_2 , ZnO , MgO , WO_3 , Fe_2O_3 , CdS itd. Da bi neka tvar (npr. poluvodič) bila uspješan fotokatalizator mora zadovoljavati nekoliko osnovnih principa za primjenu:

- mora imati što je moguće niži energijski procjep E_g ;
- mora biti kemijski i biološki inertan;
- mora biti netopljiv u vodi;
- mora biti pogodan za aktivaciju što je moguće jeftinijim i standardnijim izvorima zračenja;
- mora biti otporan na koroziju;
- mora biti prihvatljiv cijenom.

Broj istraživanja u području fotokatalitičke razgradnje naglo je porastao nakon otkrića svojstava TiO_2 te nakon utvrđivanja njegove učinkovitosti pri stvaranju hidroksilnih radikala u prisutnosti UV zračenja [41].

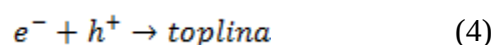
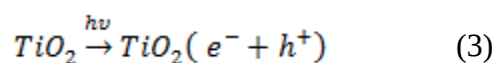
2.6.3. Titanijev (IV) oksid

Među naprednim oksidacijskim procesima, fotokatalitička oksidacija s titanijevim (IV) oksidom čini se kao obećavajuća alternativa u konvencionalnim procesima obrade voda. TiO_2 je kemijski i biološki inertan, fotokatalitički stabilan materijal koji se relativno lako proizvodi i koristi. Učinkovito ubrzava reakcije, nije opasan po ljude ni okoliš, a cijenom je pristupačan. Primjenjiv je u širokom rasponu koncentracija zagađivala, osigurava potpunu mineralizaciju gotovo svih organskih zagađivala te omogućava uklanjanje toksičnih spojeva i štetnih metala. Nadalje, fotokataliza koja se zasniva na uporabi titanijevog (IV) oksida ne dovodi do nastajanja sporednih produkata za razliku od nekih kemijskih procesa oksidacije organskih zagađivala [41].

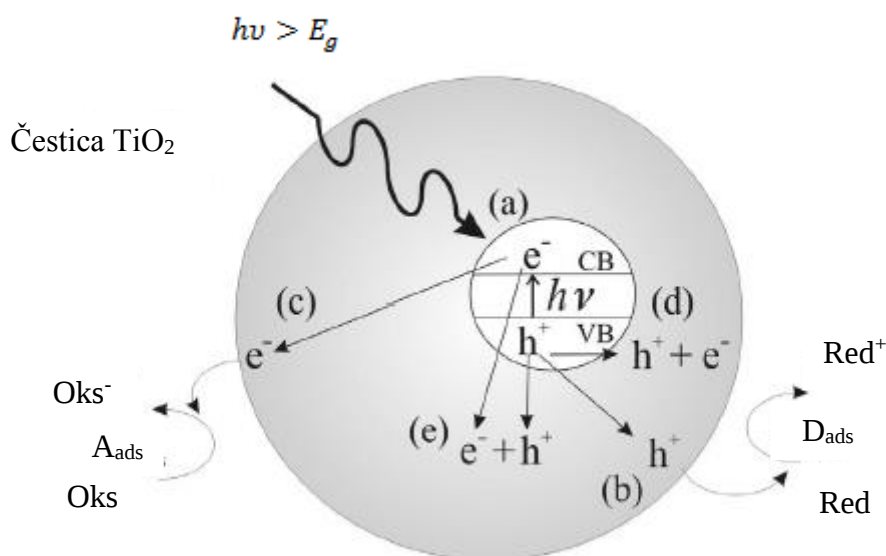
Spektralna apsorpcijska karakteristika TiO_2 omogućuje njegovu aktivaciju u svim UV područjima, od UVA do UVC, što znači da se za njegovo korištenje kao fotokatalizatora može primijeniti dijelom i Sunčevo zračenje, kao i umjetni UV izvori zračenja. Također se proces može voditi kombinacijom oba izvora zračenja. TiO_2 je atraktivan poluvodički materijal koji se primjenjuje u raznim područjima. Valentna vrpca mu je u potpunosti popunjena, a vodljiva vrpca je prazna. Ima veliki energetske procjep, $E_g = 3.2 \text{ eV}$ koji zahtjeva energiju pobuđivanja valnih duljina kraćih od 400 nm. Elektromagnetsko zračenje valnih duljina ispod 400 nm pri ozračivanju čestice TiO_2 pokreće prijelaz elektrona iz valentne vrpce u vodljivu.

Elementarni TiO_2 pojavljuje se u tri kristalna oblika, kao anatas, rutil i brukit, a u fotokatalitičkim procesima najčešće se primjenjuju prva dva. Većina eksperimenata potvrđuje činjenicu da je kristalni oblik anatas učinkovitiji u razgradnji organskih tvari u vodi, stoga je TiO_2 P25 Degussa najčešće korišten fotokatalizator koji se sastoji od anatasa i rutila u omjeru 70:30. Poznati su i po svojim optičkim i elektronskim svojstvima koja ovise o obliku, veličini, sastavu te izgledu molekule. Svaka struktura razlikuje se po fizikalnim i kemijskim svojstvima. Osim učinka sastava TiO_2 poluvodiča na fotokatalitičku aktivnost, mezoporozni nanostrukturni TiO_2 također se pokazao kao odličan fotokatalizator. Ipak, u većini slučajeva, mezoporoznost je rezultat aglomeracije TiO_2 nanočestica [42]. Dva najvažnija faktora koja utječu na fotokatalitičku aktivnost TiO_2 su njegova specifična površina te kristaliničnost. Zbog kontinuirane strukture olakšan je prijenos elektrona unutar materijala, što rezultira visokom aktivnošću. Iako TiO_2 u suspenziji postiže visoku aktivnost, obnavljanje katalizatora nakon upotrebe je problem.

Osvjetljavanjem poluvodiča energijom jednakom ili većom od energije zabranjene zone dolazi do pobuđivanja elektrona iz valentne vrpce u vodljivu unutar 10 fs, pri čemu se stvaraju pobuđeni elektron (e^-) i šupljina (h^+). Šupljine putuju u suprotnom pravcu od pravca gibanja elektrona. Većina nastalih parova elektron-šupljina se ili rekombinira u masi otopine ili difundira na površinu TiO_2 gdje dolazi do rekombinacije i oslobađanja topline [39, 41].



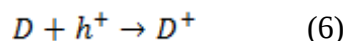
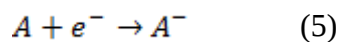
Pobuđeni elektroni u vodljivoj vrpici i zaostale šupljine mogu reagirati s elektron-donorima i elektron-akceptorima adsorbiranim na površini poluvodiča ili unutar elektrokemijskog dvosloja [43].



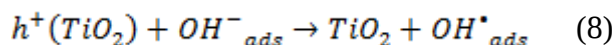
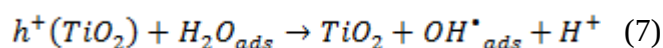
Slika 8. Glavni procesi u čestici poluvodiča TiO_2 : nastajanje para elektron-šupljina (a), oksidacija adsorbirane molekule D (b), redukcija adsorbirane molekule A (c), rekombinacija na površini čestice (d) i rekombinacija u unutrašnjosti čestice (e) [43]

Neki od parova elektron-šupljina mogu difundirati na površinu fotokatalizatora i sudjelovati u redoks reakcijama, unatoč njihovom kratkom vijeku trajanja (reda veličine nanosekunde) [41, 43]. Pobuđeni elektron može difundirati na površinu, gdje dolazi do redukcije elektron akceptora

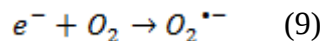
A, izraz 5, a u međuvremenu generirana šupljina također difundira na površinu fotokatalizatora gdje dolazi do oksidacije elektron donora D, izraz 6.



Na površini poluvodiča elektron može reducirati elektron-akceptore (kisik ili voda), a šupljina može primiti elektron od molekule donora koja se oksidira (voda). Hidroksilni radikali ($OH^{\bullet}$) mogu nastati na dva načina: fotogenerirane šupljine difundiraju na površinu fotokatalizatora i reagiraju ili s molekulom adsorbirane vode (7) ili s hidroksidnim ionom (8) na površini TiO_2 .



U međuvremenu, elektroni u vodljivoj vrpici sudjeluju u procesu redukcije (9), reagirajući s molekularnim kisikom u otopini pri čemu nastaje superoksidni radikal ($O_2^{\bullet-}$) [43].



Hidroksilni radikal, primarni oksidans u reakcijama fotokatalitičke oksidacije, inicira lančanu reakciju koja dovodi do nastajanja drugih radikala te naknadne oksidacije organskih spojeva. Iako adsorpcija hidroksilnih radikala i organskih spojeva na površini TiO_2 nije nužan uvjet za odvijanje reakcije takvi uvjeti povoljno pogoduju povećanju ukupne reaktivnosti. Kisik, ukoliko je prisutan u velikoj koncentraciji, može spriječiti reakciju rekombinacije parova elektron-šupljina [44]. Nakon procesa fotoekscitacije i nastajanja novih oksidirajućih spojeva, dolazi do pojave serijskih reakcija koje u konačnici dovode do potpune mineralizacije organskih zagađivala. U slučaju potpune fotokatalitičke oksidacije konačni produkti razgradnje organskih spojeva su ugljik dioksid i voda [43].

2.7. Toksičnost farmaceutika

Prije gotovo 500 godina, Paracelsus je napisao „Dosis facit venenum“ što u prijevodu znači „Doza čini otrov“. Ovaj odnos između doze i učinka još je uvijek jedan od temeljnih pojmova toksikologije. Međutim, moderna znanost nadopunjuje Paracelsus-ovu poznatu izjavu „Dosis et tempus fiunt venenum“, što znači „Doza i vrijeme zajedno čine otrov“. Ove rečenice služe kao dobar početak rasprave o prisutnosti farmaceutika i njihovih razgradnih produkata u vodenim ekosustavima, a posljedice takvog zagađenja mogu biti vrlo drastične i dugoročne budući da narušavaju prirodnu ravnotežu (biljni i živi svijet) [3].

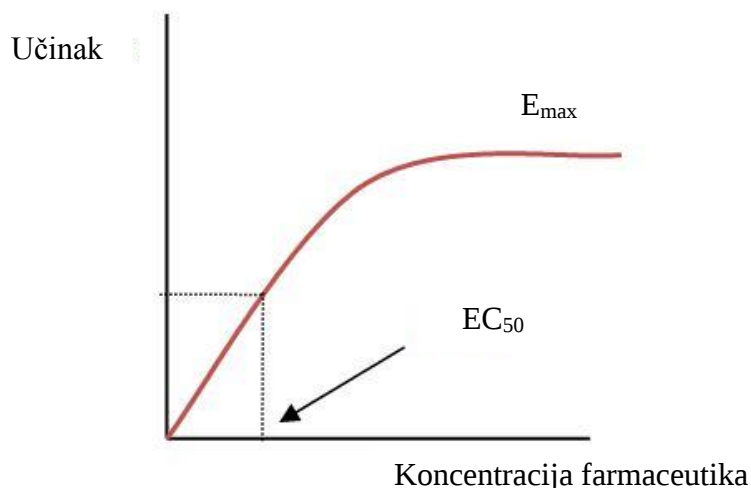
Zakonska definicija navodi u čl. 2 Zakona o otrovima (N.N. 27/99) da se "otrovima smatraju tvari prirodnoga ili sintetskoga podrijetla i proizvodi od tih tvari, koji uneseni u ljudsko tijelo ili u dodiru s ljudskim tijelom mogu ugroziti život i zdravlje ljudi ili štetno djelovati na okoliš, te tvari čijom razgradnjom ili uništavanjem nastaju otrovne tvari." Sa stajališta industrijskih zagađivala, otrov je bilo koja tvar koja se nalazi u procesnoj vodi i koja nakon prodora u tijelo organizama prisutnih u vodi može svojim specifičnim djelovanjem ugroziti njihovo zdravlje i život.

Testovi toksičnosti temelje se na izlaganju, odnosno ispitivanju učinka različitih toksičnih tvari na test organizme. Biotestovi su eksperimentalne ekološke metode za određivanje granične vrijednosti tolerancije pri izlaganju odabranih bioloških modela (test organizama) utjecaju različitih toksičnih tvari. Za procjenu zagađenosti voda koriste se biološki organizmi prikazani u tablici 1. koji daju biološke odgovore kao što su inhibicija rasta, pokretljivosti, emitiranja svjetlosti te reprodukcije u prisustvu toksičnih spojeva.

Tablica 1. Pregled različitih vrsta bioloških indikatora

	TEST ORGANIZAM	METODA	INSTRUMENT	NAČELO
1	<i>Daphnia magna</i> Straus (Crustacea)	HRN EN ISO 6431: 2000 Test akutne toksičnosti	Oprema za uzgoj jedinki u laboratorijskim uvjetima, mikroskop i standardni laboratorijski pribor	Slatkovodni račić/inhibicija pokretljivosti - optička opservacija mortaliteta gravidnih jedinki
2	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	DIN 38412-L34 (ISO/DIS 11384)	Luminometar-Monolight 2010	Luminiscentna bakterija / inhibicija emitiranja svjetlosti
3	<i>Skeletonema costatum</i> ili <i>Pheodactylum tricornutum</i>	ISO 10253	Aparat za membransku filtraciju, autoklav, pH metar, mikroskop	Morske alge/ inhibicija rasta
4	<i>Scenedesmus subspicatus</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>	ISO 8692	Aparat za membransku filtraciju, autoklav, pH metar, mikroskop	Planktonske slatkovodne alge / inhibicija rasta
5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ili Yeast Toxicity Test	YTT (Dvoraček, Stilinović, 1997.)	Serum boce vol. 125 cm ³ , igle sa štrcaljkom, pH-metar, magnetna miješalica.	Kvaščeve gljivice/ inhibicija fermentacije i smanjenje količine nastalog CO ₂

Toksični učinci određenih farmakoloških molekula mogu biti letalni i subletalni, koji obuhvaćaju biokemijske ili fiziološke promjene te promjene u rastu, razvoju, ponašanju ili razmnožavanju. Djelovanje otrova na organizme ovisi o njegovoj koncentraciji i trajanju izloženosti. Odnosi koncentracija i toksičnosti su složeni i za čiste spojeve, dok je za smjesu nekoliko farmaceutika i njihovih razgradnih produkata nemoguće predvidjeti efekte. Na slici 9. prikazan je dijagram odnosa koncentracije (doze) farmaceutika i njegovog učinka.



Slika 9. Dijagram odnosa doze lijeka i njegovog učinka [45]

Kao konačni cilj utvrđene toksičnosti je odrediti i definirati moguće posljedice u hranidbenom lancu vodenog ekosustava do kojih bi moglo doći u slučajevima kada se farmaceutik ili razgradni produkt ispusti u prekomjernoj koncentraciji. Rezultati testova toksičnosti mogu biti iskazani u obliku maksimalne efektivne koncentracije, EC_x . EC_x je koncentracija ispitivane tvari otopljene u vodi koja dovodi do negativnih efekata određenih populacija koje se koriste za ispitivanje. Najčešće je izražena u mg/L, ali također može biti izražena kao molarna koncentracija (mol/L). Kao što se može vidjeti na slici 9., kod manjih koncentracija farmaceutika dobiva se očekivani slabi učinak, dok povećanjem doze učinak raste najprije proporcionalno, te se s vremenom porast učinka smanjuje sve dok ne postigne vrijednost E_{max} . E_{max} označava maksimalan učinak određenog farmaceutika, dok vrijednost EC_{50} označava koncentraciju ispitivane tvari koja negativno utječe na 50% populacije tijekom njegovog izlaganja. Ako je posljedica toksičnosti smrt određenog organizma tada govorimo o srednjoj letalnoj koncentraciji, LC_{50} . Ona označava koncentraciju otrova koja je letalna za 50% organizama određene vrste unutar određenog vremenskog razdoblja [46].

3. Eksperimentalni dio

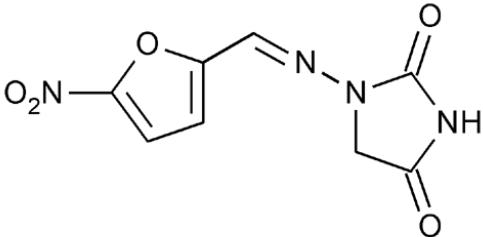
3.1. Materijali

3.1.1. Nitrofurantoin

U ovom radu istraživanja su provedena s farmaceutikom iz skupine nitrofurana, nitrofurantoinom. Ispitivana je njegova fotolitička i TiO_2 -fotokatalitička razgradnja, identificiran je njegov fotorazgradni produkt te je određena toksičnost nitrofurantoina i njegove smjese s razgradnim produktom.

Nitrofurantoin je sintetički antibiotik iz skupine nitrofurana. U svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO), svrstan je u grupu najvažnijih farmaceutika za osnovnu zdravstvenu uporabu. Nitrofurantoin se pojavljuje u obliku žutog praha ili kristala koji nakon dugog izlaganja svjetlosti ili lužinama potamni. To je spoj bez mirisa i gorkog okusa, te reagira s metalima [47]. Molekula NFT-a sadrži karakteristični 5-nitrofuranski prsten i $-\text{C}=\text{N}-\text{N}-$ lanac koji se smatraju odgovornim strukturnim grupama za antibakterijsku aktivnost. Široku primjenu pronalazi u humanoj i veterinarskoj medicini za liječenje urinarnih, želučanih i površinskih infekcija. U ljudi, nitrofurantoin se koristi u borbi protiv brojnih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Ponajprije, koristi se kao lijek za infekcije urinarnog trakta [4]. Mehanizam djelovanja nitrofurantoina je složen i jedinstven. Budući da je njegov reducirani oblik izrazito reaktivan, djeluje na organizam tako da uništava DNK bakterije, tj. inhibira sintezu DNK, RNK i proteina. Otkriveno je da sadrži određene toksične učinke na razne organe kao što su primjerice pluća i jetra. Fizikalno-kemijska svojstva ispitivanog farmaceutika nitrofurantoina prikazana su u tablici 2.

Tablica 2. Fizikalno-kemijska svojstva nitrofurantoina

Generičko ime	Nitrofurantoin
Grupa farmaceutika	Nitrofurani
Strukturna formula	
Molekulska formula	C ₈ H ₆ N ₄ O ₅
CAS broj	67-20-9
Molekulska masa (g/mol)	238,157
Naziv po IUPAC-u	1-[(E)-(5-nitrofuran-2-yl)methylideneamino]imidazolidine-2,4-dione
pK_a [48]	7,2
$\log K_{ov}$ [48]	-0,47
k_e (pH=7)	$3,4 \cdot 10^{10}$
k_{OH} (pH=7)	$9,3 \cdot 10^9$

3.1.2. Kemikalije

Kemikalije korištene tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada, njihove molekulske formule, čistoća i proizvođač prikazani su u tablici 3.

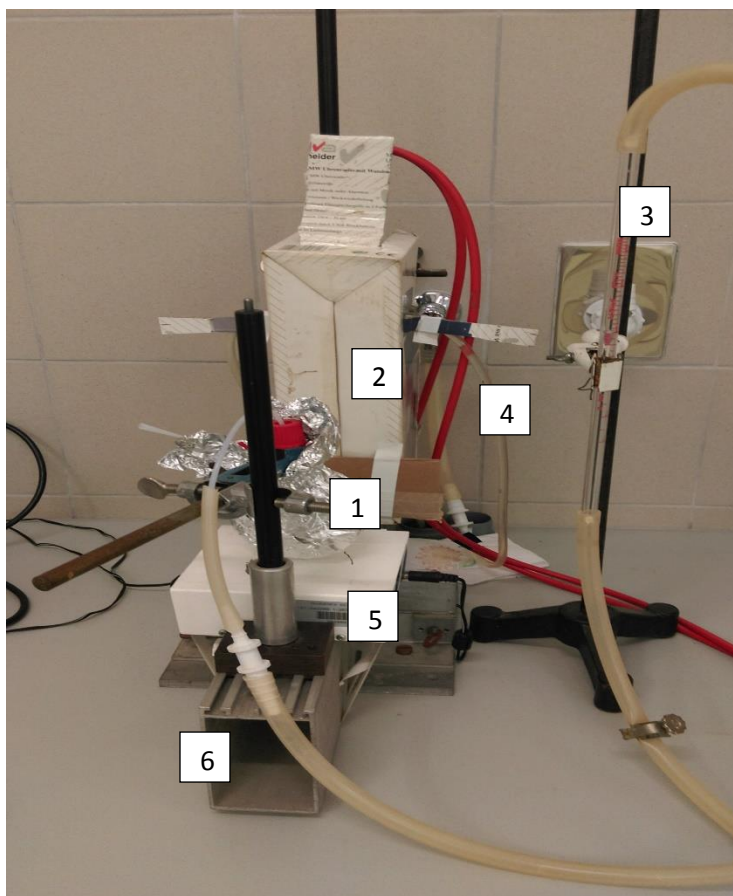
Tablica 3. Popis korištenih kemikalija

NAZIV	MOLEKULSKA FORMULA	ČISTOĆA	PROIZVOĐAČ
Aminohidantoin	$C_3H_5N_3O_2$	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Natrijev azid	NaN_3	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Benzokinon	$C_6H_4O_2$	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Titanijev (IV) oksid	TiO_2	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Reagens R3	$C_6H_8N_2O_2S$	p.a.	Merck, Njemačka
Metanol	CH_3OH	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Acetonitril	CH_3CN	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Natrijev nitrit	$NaNO_2$	p.a.	Sigma-Aldrich, Njemačka
Klorovodična kiselina	HCl	p.a.	Merck, Njemačka

3.2. Instrumenti

3.2.1. Fotokemijski reaktor

U ovom radu, eksperimenti fotolitičke i TiO_2 -fotokatalitičke razgradnje farmaceutika nitrofurantoina provedeni su u fotokemijskom reaktoru prikazanom na slici 10.



Slika 10. Fotokemijski reaktor

1. laboratorijski reaktor
2. vanjski izvor svjetlosti
3. cijevi za dovod struje plina
4. sustav cijevi za dovod i odvod vode za hlađenje lampe
5. magnetska miješalica
6. metalni stalak za držanje aparature

Za ispitivanje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina korišten je laboratorijski reaktor, maksimalnog volumena 100 mL. U slučaju TiO_2 -fotokatalitičke razgradnje, reaktor je bio ispunjen suspendiranim TiO_2 katalizatorom, što zahtijeva naknadnu separaciju fotokatalizatora nakon provedenog eksperimenta. Reaktor je okrugla posuda izrađena od kvarenog stakla koja sadržava dva otvora na vrhu, jedan za uvođenje struje željenog plina, a drugi

za izlaz plinova i uzimanje uzoraka. Uzorci otopine farmaceutika uzimani su pomoću šprice koja se spoji s malom cjevčicom smještenom na drugom otvoru reaktora. Za osvjetljavanje otopina farmaceutika korišten je vanjski izvor zračenja, metal-halogen lampa koja emitira umjetno sunčevo zračenje u području od 350-600 nm. Udaljenost između reaktora i lampe iznosila je ≈ 15 cm. Intenzitet zračenja lampe iznosio je $10,9 \text{ mW cm}^{-2}$, a temperatura lampe je održavana stalnim protokom vodovodne vode kroz sustav cijevi za dovod i odvod vode. Tijekom izvođenja eksperimenata uzorak je kontinuirano miješan pomoću magnetske miješalice te je uvedena struja plinova kisika ili argona unutar reaktora do samog kraja. Protok struje kisika i argona iznosio je $10 \text{ dm}^3 \text{ h}^{-1}$. Volumen otopine farmaceutika koji se nalazio u reaktoru iznosio je 85 mL.

3.2.2. Analitička vaga

Analitička vaga je uređaj koji se koristi za precizno određivanje mase tvari. Vrlo je osjetljiv i skup, a o njegovoj ispravnosti i preciznosti ovisi točnost rezultata mjerenja. Najrašireniji tip analitičke vage je vaga nosivosti 100 g i osjetljivosti 0,1 mg. Nije moguće napraviti nijednu kvantitativnu kemijsku analizu bez njezine upotrebe jer je uvijek potrebno odvagati uzorak za analizu i odgovarajuće količine reagensa za pripravu otopina, bez obzira na metodu koju koristimo. Analitičke vage smještaju se u staklene ormariće koji ih štite od prašine i zračnih struja koje bi mogle poremetiti položaj ravnoteže [49].

Tijekom eksperimenta korištena je Sartorius R200D analitička vaga. Proizvođač je Sartorius AG, Njemačka, a uređaj je prikazan na slici 11. Karakteristike ove analitičke vage su:

- maksimalni kapacitet: 205 g
- očitavanje: 0,01 mg
- područje tare: 0 – 205 g
- linearnost: 0,03/0,2 mg
- ponovljivost pri maksimalnom kapacitetu: 0,02 mg



Slika 11. Analitička vaga Sartorius R200D

3.2.3. pH-metar

pH-metar je elektronski uređaj pomoću kojega potenciometrijski mjerimo pH-vrijednost tekućih uzoraka. Mjerenje pH (potencijal vodika) određuje da li je otopina kisela ili lužnata. Ako otopina sadrži jednaku količinu kiselih i bazičnih molekula, smatra se da je pH neutralan. pH-metar se sastoji od staklene elektrode koja se uranja u tekućinu, a koja mjeri pH-vrijednost kao aktivitet vodikovih iona koji se nalaze u tekućem uzorku. Elektroda proizvodi mali napon, oko 0,6 V po pH-jedinici, što se očitava kao pH-vrijednost. Skala pH je logaritamska, a vrijednosti mogu iznositi od 0-14 gdje se 7 smatra neutralnim. Otopine s vrijednosti pH manjom od 7 smatraju se kiselim otopinama, a većim od 7 lužnatim. Dakle, pH-metar je u osnovi voltmetar koji veličinu napona prikazuje kao pH-vrijednost. Prije korištenja, pH-metar je potrebno umjeriti otopinama pufera pH 4 i pH 7 [50].

U ovom radu korišten je pH-metar Consort C561, De Bruyne Instruments, Belgija sljedećih specifikacija:

- raspon pH-vrijednosti: 0–14
- razlučivost: 0,01 pH
- temperaturni raspon: 0-100 °C
- konduktivitet: 0-1000 mS cm⁻¹

Navedeni pH-metar prikazan je na slici 12.



Slika 12. pH-metar Consort C561, De Bruyne Instruments

3.2.4. Spektrofotometar

Spektrofotometar je uređaj za analizu spektra elektromagnetskog zračenja koji mjeri količinu reflektiranog svjetla iz uzorka. Sastoji se od izvora zračenja, monokromatora i detektora. Postoje dvije vrste spektrofotometra, a to su jednozračni i dvozračni. Dvozračni spektrofotometri imaju dva puta svjetlosti te uspoređuju njihov intenzitet. Oni istovremeno mogu primiti dva uzorka, a to su referenti i mjereni uzorak. Jednozračni spektrofotometar sadrži samo jedan put svjetlosti te može primiti samo jedan uzorak, dok se referentni uzorak mora snimiti posebno [51].

Tijekom rada korišten je dvozračni UV/Vis Spektrofotometar Scinco S-3100, Scinco CO., LTD., Južna Koreja. Karakterizira ga velika brzina snimanja spektara, visoka točnost, razlučivost i reproducibilnost. Instrument se može koristiti za snimanje spektara u intervalu valnih duljina od 190 do 1100 nm s razlučivosti od 0,95 nm. Uređaj je prikazan na slici 13.



Slika 13. UV/Vis spektrofotometar Scinco S-3100, Scinco CO., LTD

3.2.5. Ionski kromatograf

Ionska kromatografija je analitička metoda koja ionoizmjenjivačkim mehanizmom odjeljuje ione. Svrstava se u skupinu tekućinske kromatografiju, jer je pokretna faza tekućina koja se nalazi u spremnicima te s pomoću sustava peristaltičkih pumpi unosi u sustav. Nepokretna faza je najbitnija, ona je ta koja određuje mehanizme separacije komponenata, što u konačnici određuje izbor i sastav pokretne faze. Ionski izmjenjivači, nepokretna faza u ionskoj kromatografiji, sastoji se od netopljivog kostura koji može biti organske ili anorganske prirode, nepokretnih iona koji su dodani na kostur ili su njegov sastavni dio te ekvivalentne količine protuiona vezanih na ione poradi neutralizacije naboja izmjenjivača. Postoje razne vrste detekcije, a to su konduktometrijska, amperometrijska, UV/Vis, fluorescencijska ili spektrometrija masa [52].

Određivanje nitrata nastalog razgradnjom nitrofurantoina provedeno je na uređaju za ionsku kromatografiju. U ovom radu korišten je ionski kromatograf Dionex DX 300, Dionex Corporation, Kalifornija. Uređaj je opremljen gradijentnom pumpom, kemijskim supresorom te Dionex AS4A-SC kolonom . Uređaj je prikazan na slici 14.

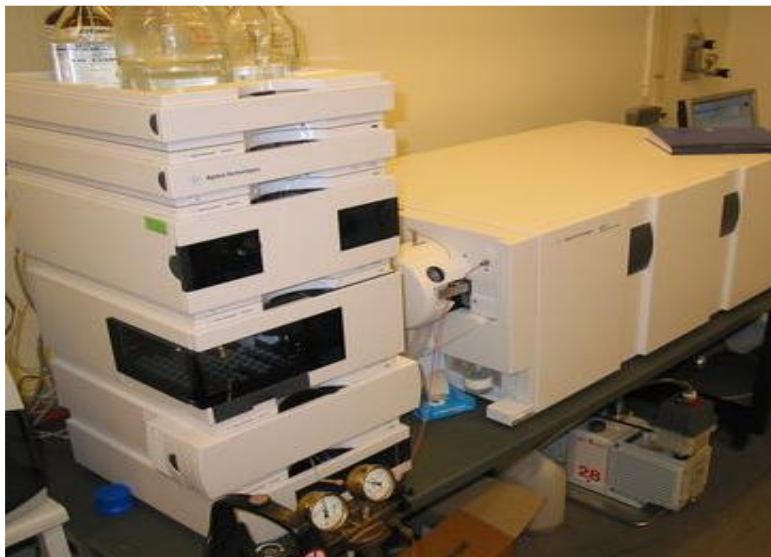


Slika 14. Ionski kromatograf Dionex DX 300, Dionex Corporation, Kalifornija

3.2.6. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti vezan sa spektrometrom masa

Analiza uzoraka provedena je na vezanom sustavu tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti - spektrometrija masa (HPLC-MS/MS). Korišten je kromatograf Agilent (Santa Clara, CA, SAD) Series 1200 sa spektrometrom masa s trostrukim kvadripolom Agilent 6410 QqQ (slika 15.). Uređaj je opremljen termostatiranom komorom za kromatografsku kolonu, vakumskim degazerom, automatskim dodavačem uzoraka i binarnom pumpom.

Upravljanje instrumentom i obrada podataka provedeno je računalom korištenjem programa Agilent MassHunter 2003-2007 Data Acquisition for Triple Quad B.01.04 (B84).



Slika 15. Agilent kromatografski sustav Series 1200 sa spektrometrom masa 6410 QqQ

3.2.7. Uređaj za mjerenje toksičnosti

Biotest toksičnosti, korištenjem luminiscentnih bakterija kao bioloških indikatora, izvodi se pomoću luminometra [46]. Luminiscencija je količina svjetlosti koju zrači neko tijelo. Intenzitet luminiscencije izražava se u kandelama po kvadratnom metru (cd/m^2) i mjerimo je luminometrom. Luminometrom se mjeri intenzitet oslobođene svjetlosti prije miješanja probe sa suspenzijom bakterija (I_0) te nakon 30 minuta (I_{30}). To su vrlo skupi uređaji, ali kao alternativa umjesto luminometra moguće je koristiti fotoaparati. Svi današnji digitalni fotoaparati u sebi imaju fotometar kojim mjere količinu svjetlosti koja kroz objektiv dolazi do senzora pa prema izmjerenim vrijednostima prilagođavaju otvor blende i duljinu ekspozicije [53].

U ovom radu korišten je Luminoskan Ascent Microplate Luminometer, Thermo Fisher Scientific, Inc., SAD. Uređaj je u potpunosti automatiziran, čvrst i kompaktan, a prikazan je na slici 16a. Luminometar sadrži mikropločicu (8 x 12), prikazanu na slici 16b., koja se smješta u uređaj i omogućava mjerenje i kontrolu serije od 12 različitih uzoraka. Kapacitet kiveta na mikropločici iznosi 350 μL . Specifikacije ovoga uređaja su:

- valna duljina pobude: 270 - 670 nm
- temperatura inkubacije: 3 - 45 °C
- brzina mjerenja: 15 s

a)



b)



Slika 16. Luminometar Luminoskan Ascent Microplate, Thermo Fisher Scientific (a) te mikropločica za određivanje toksičnosti (b)

3.3. Metode rada

3.3.1. Priprema standardne otopine farmaceutika

Standardna otopina ispitivanog farmaceutika nitrofurantoina, masene koncentracije 10 mg L^{-1} , pripravljena je vaganjem standarda na analitičkoj vagi ($0,00100 \text{ g}$). Odvagani standard je potom kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 100 mL te otopljen u MilliQ vodi i nadopunjen do oznake. Budući da se NFT teško otapa u vodi, otopina je miješana nekoliko sati na sobnoj temperaturi pomoću magnetske miješalice. Tijekom vremena otapanja farmaceutika, tikvica je bila zaštićena od svjetlosti aluminijskom folijom. pH-vrijednost pripremljene TSO nitrofurantoina iznosila je ≈ 6 .

U reaktor je stavljen alikvot (85 mL) TSO nitrofurantoina. Za svaki eksperiment pripremljene su svježije otopine nitrofurantoina koje su čuvane u mraku te na temperaturi od $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.2. Priprema fotokatalizatora

U ovom radu korišten je Degussa P25 TiO₂ fotokatalizator u obliku bijelog praha, koji se sastoji od 70% anatasa i 30% rutila. Suspenzija TiO₂, masene koncentracije 1 g L⁻¹, pripravljena je vaganjem katalizatora na analitičkoj vagi (0,08500 g). Odvagani katalizator je potom kvantitativno prenesen u reaktor od 100 mL te otopljen u 85 ml standardne otopine nitrofurantoina. Tako pripremljena suspenzija komercijalnog TiO₂ fotokatalizatora smještena u reaktoru spremna je za fotokatalitička ispitivanja.

3.3.3. Ispitivanje adsorpcije nitrofurantoina na površinu fotokatalizatora

Kao preliminarni eksperiment, provedeno je ispitivanje adsorpcije nitrofurantoina na površinu TiO₂ fotokatalizatora. Kako bi se odredila koncentracija analita koja adsorbira na površinu katalizatora prije početka osvjetljavanja pripremljena standardna otopina NFT (10 mg L⁻¹) i odvagani fotokatalizator TiO₂ (1 g L⁻¹) prenesu se u reaktor. Tijekom cijelog eksperimenta reaktor je pokriven aluminijskom folijom, a heterogena fotokatalitička mješavina kontinuirano miješana u struji plina (kisik ili argon) određeno vrijeme. Alikvoti (5 mL) su uzimani u određenim vremenskim intervalima (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minuta) i analizirani spektrofotometrijski.

3.3.4. Osvjetljavanje otopine nitrofurantoina

Za fotolitička ispitivanja pripremljena standardna otopina nitrofurantoina (10 mg L⁻¹) stavljena je u kvarcni reaktor. Volumen otopine NFT-a koji se nalazio u reaktoru iznosio je 85 mL. Prije početka osvjetljavanja, kako bi se otopina farmaceutika zasitila određenim plinom, otopina je miješana u struji kisika 30 minuta, a ukoliko se eksperiment provodi u struji argona 60 minuta. Kvarcni reaktor je za to vrijeme prekriven aluminijskom folijom kako bi se otopina zaštitila od svjetlosti. Nakon toga, započinje osvjetljavanje otopine metal-halogenom lampom koja emitira umjetno sunčevo zračenje u području od 350-600 nm.

U fotokatalitičkim eksperimentima, otopini nitrofurantoina prije početka osvjetljavanja dodaje se fotokatalizator, titanijev (IV) oksid. Pripravljena heterogena reakcijska mješavina, TiO_2 suspenzija (85 mL) prenese se u kvarcni reaktoru. Otopina se konstantno miješa magnetskom miješalicom te uvođenjem struje kisika ili argona unutar reaktora kao i u slučaju fotolitičke razgradnje. Također, reaktor je za to vrijeme prekriven aluminijskom folijom kako bi se otopina zaštitila od svjetlosti. Nakon adsorpcije NFT-a na TiO_2 površinu, počinje osvjetljavanje umjetnim sunčevim zračenjem.

Provođene su dvije vrste fotolitičkih i fotokatalitičkih eksperimenata, jedan uz uvođenje struje kisika te drugi uz uvođenje struje argona u otopinu nitrofurantoina. Također, kao preliminarni fotolitički eksperimenti, istraživani su učinci dvaju filtra, HCC-11 (filter 1) i HCC-12 (filter 2). Navedeni filtri uklanjaju UV područje, te se propušta samo vidljiva svjetlost. HCC-11 propušta zračenje u području od 400-1000 nm, a HCC-12 od 500-1000 nm. Intenzitet zračenja lampe s filtrom HCC-11 iznosio je $8,5 \text{ mW cm}^{-2}$, a s filtrom HCC-12 $8,6 \text{ mW cm}^{-2}$.

U oba slučaja, tijekom osvjetljavanja, u određenim vremenskim intervalima uzimani su alikvoti od 5 mL. Uzorci fotokatalitičkih ispitivanja filtrirani su kroz dvije vrste filtra kako bi se uklonio suspendirani TiO_2 iz otopine. Prvi filter kroz koji je propuštena otopina farmaceutika u suspenziji TiO_2 je Milipore Millex-LCR, Hydrophilic PTFE veličine pora $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ (slika 17a.), a drugi $0,25 \text{ }\mu\text{m}$ (slika 17b). Razgradnja farmaceutika praćena je mjerenjem pH-vrijednosti te spektrofotometrijski. Također su određene koncentracije nitrata i nitrita koji nastaju tijekom razgradnje. Nastajanje i razgradnja produkta fotolitičke i fotoakatalitičke razgradnje nitrofurantoina praćena je HPLC-MS/MS metodom. Nastali razgradni produkt identificiran je primjenom spregnute spektrometrije masa. Također, praćena je toksičnost ispitivane otopine nitrofurantoina tijekom fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje.

a)



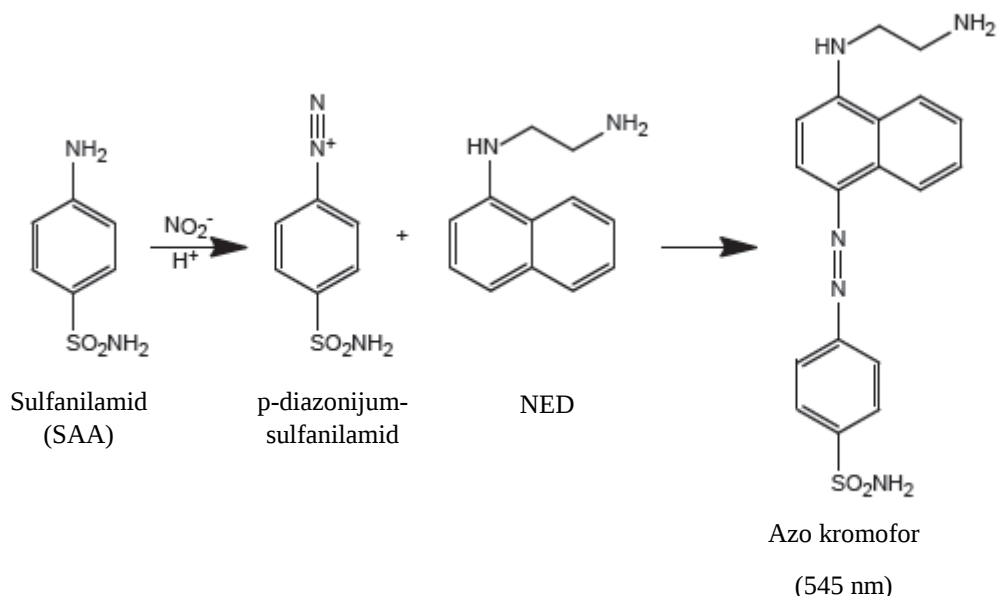
b)



Slika 17. Milipore Millex-LCR, Hydrophilic PTFE fileri, veličine čestica 0,45 μm (a) te 0,25 μm (b)

3.3.5. Određivanje nitrita

U ovom radu, određivanje nitrita provedeno je spektrofotometrijski u UV/Vis području.. Tijekom osvjetljavanja TiO_2 suspenzije, uzimani su alikvoti od 5 mL u određenim vremenskim intervalima te filtrirani. Potom je otpipetiran 1 mL uzorka u staklenu čašu. Uzorku je dodan 1 mL reagensa R3 te 1 mL MiliQ vode. Reagens R3 sastoji se od otopine sulfanilamida (SAA), N-1-Naftiletildiamin $\cdot 2\text{HCl}$ (NED) te sulfatne kiseline. Nakon svakog dodatka otopina je dobro promiješana i ostavljena par minuta kako bi sve komponente međusobno izreagirale. Nitriti u uzorku reagiraju sa sulfanilamidom i tvore diazonijevu sol. Ona se spaja s NED-om te nastaje ružičasto obojen kompleks, azo bojilo s apsorpcijskim maksimumom pri 545 nm. Reakcijska shema prikazana je na slici 18. Kao slijepa proba korištena je neosvjetljivana otopina nitrofurantoina. Apsorbancija se očitava pri valnoj duljini od 545 nm.



Slika 18. Reakcijska shema

Kako bi se odredila koncentracija nitrita u uzorcima pripravljene su otopine za umjerni dijagram NO_2^- . Potrebne otopine bile su:

- a) $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ otopina NO_2^- (NaNO_2) pripravljena je razrjeđenjem iz $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ otopine NaNO_2 .

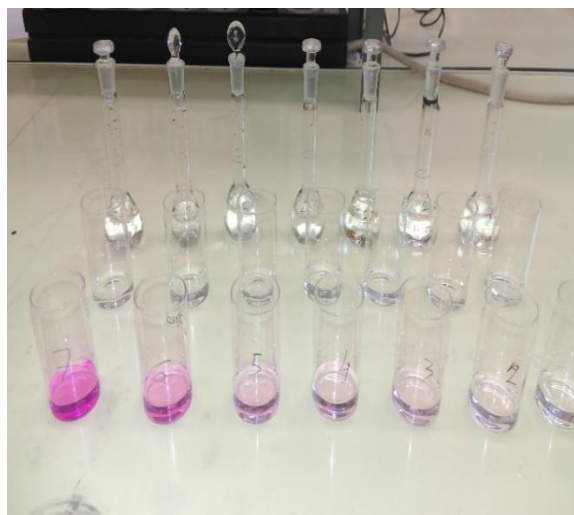
$0,01 \text{ mol L}^{-1}$ otopina NaNO_2 pripravljena je otapanjem $0,069 \text{ g}$ NaNO_2 u MilliQ vodi u odmjernoj tikvici od 100 mL . 1 mL $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ otopine NaNO_2 razrijeđen je do 100 mL u odmjernoj tikvici s MilliQ vodom.

- b) MilliQ voda

- c) Reagens R3 pripremljen je u 500 mL odmjernoj tikvici, otapanjem 5 g SAA i 500 mg NED u 250 mL deionizirane vode. Miješa se dok se sva sol ne otopi te se potom pažljivo dodaje 17 mL koncentrirane H_2SO_4 i pričekava se da se otopina ohladi. Potom se nadopuni vodom do oznake. Čuva se u plastičnoj bočici na $+4^\circ\text{C}$.

Pripravljeno je sedam otopina različitih koncentracija za umjerni dijagram prikazanih na slici 19. U seriju odmjernih tikvica od 10,0 mL dodani su sljedeći volumeni otopine (a): 0,1 mL, 0,25 mL, 0,50 mL, 0,75 mL, 1 mL, 2,5 mL i 5 mL. Potom je tikvica nadopunjena s MiliQ vodom do oznake. Za svaku koncentraciju u staklenu čašu dodan je 1 mL otopine NO_2^- (a), 1 mL MiliQ vode (b) te 1 mL reagensa R3 (c). Nakon svakog dodatka otopina je promiješana i ostavljena nekoliko minuta da sve komponente izreagiraju.

Pripremljene otopine analizirane su spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 545 nm. Nakon što su sve otopine snimljene, napravljen je umjerni dijagram koji predstavlja ovisnost apsorbancije o koncentracije NO_2^- .



Slika 19. Otopine pripremljene za umjerni dijagram

3.3.6. Određivanje nitrata

Određivanje koncentracije nitrata provedeno ionskom kromatografijom s konduktometrijskim detektorom i kemijskim supresorom. Kao pokretna faza korišten je elektrolit natrijev karbonat/natrijev hidrogenkarbonat (3 mM $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$, pH= 10, protok= 1.2 mL min⁻¹). Kromatografsko odjeljivanje izvedeno je na koloni Dionex AS4A-SC.

Također kao i u slučaju određivanja nitrita, tijekom osvjetljavanja TiO_2 -heterogene reakcijske mješavine, uzimani su alikvoti u određenim vremenskim intervalima te filtrirani. Otpipetiran je 1

mL uzorka te je potom određena koncentracija nitrata ionskom kromatografijom. Na dobivenim kromatogramima, određene su površine ispod vrpce nitrata, a koncentracija je izračunata pomoću umjernog dijagrama. Potrebne otopine za pripremu umjernog dijagrama bile su otopina standarda nitratnog iona (3 mg L^{-1}) te MiliQ voda.

U seriju odmjernih tikvica od 25,0 mL dodani su sljedeći volumeni standardne otopine nitrata: 0,10 mL, 0,20 mL, 0,40 mL, 0,66 mL, 1 mL i 2,0 mL. Potom je tikvica nadopunjena s MiliQ vodom do oznake. Otopine su potom analizirane te je pripremljen umjerni dijagram koji predstavlja ovisnost površine ispod kromatografske vrpce o koncentracije NO_3^- .

3.3.7. Određivanje nitrofurantoina tekućinskom kromatografijom

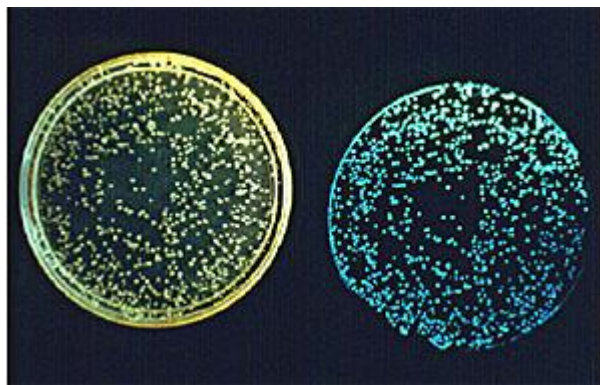
Kromatografsko određivanje izvedeno je kromatografijom obratnih faza na koloni Synergi Hydro-RP, dimenzija 100 x 2,00 mm i promjera čestica punjenja $2,5 \mu\text{m}$ (Phenomenex, Torrance, Kalifornija, SAD) uz izokratno eluiranje pokretnom fazom koja se sastojala od 0,1% mravlje kiseline u vodi i 0,1% mravlje kiseline u acetonitrilu. Sastav od 10% organske faze bio je konstantan tijekom 25 min uz protok od 0,2 mL/min.

Ispitivani analiti (nitrofurantoin i razgradni produkt) detektirani su korištenjem spregnute spektrometrije masa (MS/MS). Sve analize provedene su ionizacijom uzorka elektroraspršenjem pri pozitivnoj ionizaciji. Uvjeti na spektrometru masa bili su:

- temperatura plina: 350°C
- protok plina: 11 L/min
- tlak raspršivača plina: 35 psi
- napon kapilare pozitivan: 4000 V

3.3.8. Određivanje toksičnosti nitrofurantoina i njegovog razgradnog produkta

Određivanje biološke toksičnosti pomoću svjetlećih bakterija *Vibrio fischeri*, prikazanih na slici 20., temelji se na pronalaženju učinaka niza razrjeđenja uzoraka farmaceutika na emitiranje svjetlosti luminiscentnih bakterija [46].



Slika 20. Kolonija bioluminiscentnih bakterija *Vibrio fischeri*

Biološko ispitivanje toksičnosti korištenjem *Vibrio fischeri* luminiscentnih bakterija kao bioindikatora, izvedeno je metodom razrjeđivanja uzoraka. Prije mjerenja toksičnosti, osvjetljavanjem uzorcima podešen je pH na vrijednost između 6 i 8 otopinom NaOH budući da su uzorci kiseli ($\text{pH} \approx 5$). Pripravljena je serija razrjeđenja 1:2, na taj način mikropločica koja se sastoji od 8 redova sa po 12 mjesta omogućava mjerenje i kontrolu serije od 11 razrjeđenja. Kapacitet kiveta na mikropločici iznosi 350 μL . Prva kolona je kontrolna, te se puni 2%-tnom otopinom natrijeva klorida dok sljedeća kolona sadrži 100%-tnu otopinu uzorka. Nakon toga, u sljedećim kolonama, postotak uzoraka kontinuirano opada dok ne dosegne vrijednost 0,1% udjela uzorka. Razrjeđenja su pripremljena 2%-tnom otopinom natrijeva klorida koja je korištena za kontrolne uzorke. Da bi se postigla zadovoljavajuća točnost mjerenja dovoljno je raditi s dva paralelna uzorka, na taj je način moguće analizirati 4 uzorka u isto vrijeme na pločici s osam redova. Nakon popunjavanja mikropločice uzorcima, dozator se ispunjava bakterijskom suspenzijom te se potom pločica smješta u uređaj i započinje se s analizom. Uređaj injektira 150 μL bakterijske suspenzije u svaki uzorak nakon čega se snima intenzitet svjetlosti svake kivete unutar kratkog vremena (t_0). Nakon prvog mjerenja suspenzija bakterija inkubira se na temperaturi od $15 \pm 0,5^\circ\text{C}$, nakon završetka inkubacije, mikropločica se ponovno stavlja u uređaj. Nakon vremena izlaganja, otprilike 30 minuta uređaj mjeri intenzitet emitirane svjetlosti svakog uzorka (t_{30}). Primjenom računalnog programa kojega daje proizvođač uređaja, automatski se izračunavaju EC_{50} i EC_{20} vrijednosti uzoraka na temelju izmjerenih vrijednosti intenziteta svjetlosti.

3.3.9. Određivanje mehanizma razgradnje farmaceutika

Svi eksperimenti provedeni su u laboratorijskom reaktoru uz korištenje vanjskog izvora svjetla. Heterogena reakcijska mješavina, TiO_2 suspenzija pripremljena je prema propisu u poglavlju 3.3.4.. Koncentracija NFT-a i TiO_2 bila je ista kao i u prethodnim eksperimentima. Provedena su tri eksperimenta za ispitivanje mehanizma heterogene fotokatalitičke razgradnje farmaceutika nitrofurantoina uz uporabu otopina za „hvatanje“ određenih radikala.

- I. Pripremljenoj heterogenoj reakcijskoj smjesi dodan je metanol, CH_3OH koncentracije 2,9 M. Volumen otopine nitrofurantoina koji je korišten u eksperimentu iznosio je 75 mL (prije 85 mL) zbog dodatka 10 mL CH_3OH . Otopine su potom smještene u reaktor te pokrivene aluminijskom folijom i miješane. Kroz 30 minuta otopina je miješana u mraku uz konstantno dovođenje struje kisika. Nakon toga, odstrani se folija te je otopina osvijetljavana umjetnim sunčevim zračenjem.
- II. Pripremljenoj heterogenoj reakcijskoj smjesi dodan je benzokinon, $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ koncentracije $1,25 \cdot 10^{-3}$ M. Volumen otopine nitrofurantoina koji je korišten u eksperimentu iznosio je 80 mL zbog dodatka 5 mL $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$. Otopine su potom tretirane kao i u prethodnom eksperimentu.
- III. Pripremljenoj heterogenoj reakcijskoj smjesi dodan je natrijev azid, NaN_3 koncentracije $5 \cdot 10^{-3}$ M. Volumen otopine nitrofurantoina koji je korišten u eksperimentu iznosio je 80 mL zbog dodatka 5 mL NaN_3 . Otopine su potom tretirane kao i u prethodnim eksperimentima.

Razgradnja farmaceutika uz dodatak „hvatača“ radikala praćena je mjerenjem pH-vrijednosti te spektrofotometrijski. Također su određene koncentracije iona nitrita i nitrata tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina.

4. Rezultati i rasprava

Onečišćenje okoliša je svaka kvantitativna i kvalitativna promjena fizikalnih, kemijskih i bioloških karakteristika osnovnih sastavnica okoliša (zrak, voda, tlo, hrana), što dovodi do narušavanja zakonitosti u ekosustavu, temeljenih na mehanizmima samoregulacije. Danas, povećana upotreba „novih“ zagađivala od strane čovjeka postaje veliki ekološki problem i, zbog toga, od velike je važnosti saznanje o njihovoj prisutnosti u okolišu te mogući štetni učinak. Ova skupina spojeva sadrži tvari koje se primjenjuju u poljoprivredi, medicini, biotehnologiji kao što su antibiotici, hormoni i lijekovi. Zbog svoje široke uporabe, farmaceutici putem različitih izvora (izlučevina, ispiranja odlagališta, komunalnih otpadnih voda, nepravilnog odlaganja, industrijskom procesnom proizvodnjom) dopijevaju u površinske, podzemne i pitke vode što dovodi do sve veća zabrinutosti javnosti, zakonodavstva i sudionika koji se bave javnom vodoopskrbom, obradom otpadnih voda, zdravstvenom ispravnošću voda za piće i dr.

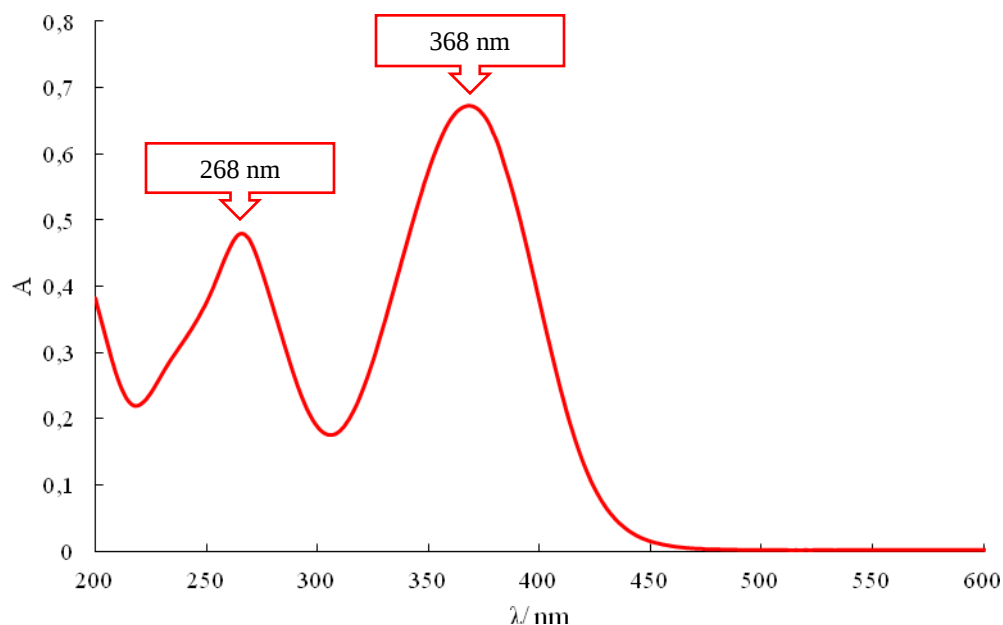
Za uklanjanje farmaceutika iz otpadnih voda mogu se primijeniti različite tehnologije, a izbor odgovarajuće tehnologije ovisi o nizu faktora. Biološki postupci su često neučinkoviti zbog velike postojanosti farmaceutika te moguće toksičnosti. Najviše primjenjivane metode za obradu voda koriste kemijske postupke koji podrazumijevaju uporabu dodatnih, ponekad skupih i opasnih kemikalija i mogu dovesti do nastajanja štetnih sporednih produkata razgradnje ili zahtijevaju zbrinjavanje nastalih produkata.

S obzirom da konvencionalni postupci obrade voda nisu u potpunosti djelotvorni u uklanjanju farmaceutika, u novije vrijeme velika pozornost istraživača usmjerena je na razvoj novih tehnologija, posebice kad je potrebno značajno smanjiti ili potpuno ukloniti ispuštanje postojanih farmaceutski aktivnih tvari u okoliš. Kako bi se spriječilo njihovo unošenje u okoliš, velika pozornost usmjerena je na ekološki prihvatljive i učinkovite procese kao što su fotoliza i fotokataliza.

Fotolitička razgradnja s primjenom Sunčevog zračenja može imati veliku ulogu u uklanjanju farmaceutika iz otpadnih voda ali i u razgradnji farmaceutika koji se nalaze u vodenom okolišu. U okolišu, fotolitička razgradnja može biti značajan proces smanjenja njihove koncentracije ukoliko su oni topljivi u vodi i osjetljivi na sunčevu svjetlost, te nisu podložni sorpciji i hidrolizi.

Prema dosadašnjim istraživanjima fotokatalitička razgradnja s TiO_2 pokazala se vrlo učinkovitom za razgradnju različitih organskih i anorganskih spojeva prisutnih u okolišu, posebice postojanih organskih spojeva. Upravo zbog toga cilj ovog rada je bio ispitati mogućnost fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina kao procesa koji bi se mogli primijeniti u obradi otpadnih voda i drugih otpadnih tokova predviđenih za ispuštanje u okoliš kako bi se zadovoljili kriterije održivog razvoja uz uvažavanje potreba zaštite okoliša.

Apsorpcijski spektar istraživanog farmaceutika nitrofurantoina snimljen je na spektrofotometru u rasponu valnih duljina 200-600 nm. Koncentracija ispitivane otopine bila je 10 mg L^{-1} u MiliQ vodi. Kao što se može vidjeti iz apsorpcijskog spektra prikazanog na slici 21., NFT apsorbira svjetlost u ultraljubičastom području i postiže dva maksimuma apsorpcije, prvi pri valnoj duljini od 268 nm i drugi pri valnoj duljini od 368 nm.



Slika 21. Apsorpcijski spektar nitrofurantoina

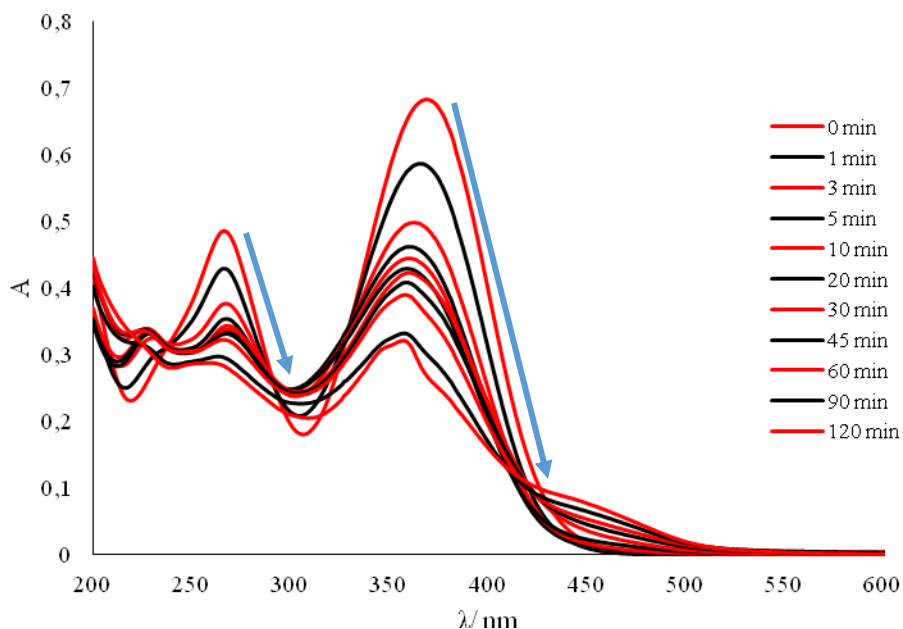
Budući da se apsorpcijski spektar farmaceutika preklapa sa spektrom Sunčeva zračenja, mogućnost njegove razgradnje pod utjecajem Sunčeve svjetlosti se ne može isključiti. Iz apsorpcijskog spektra nitrofurantoina može se vidjeti da farmaceutik apsorbira, tj. osjetljiv je na

UV zračenje. S obzirom na tu činjenicu, u ovom radu istraživana je fotolitička i TiO_2 -heterogena fotokatalitička razgradnja antibiotika nitrofurantoina.

4.1. Fotolitička razgradnja nitrofurantoina

Istraživanja fotolitičke razgradnje s primjenom Sunčevog zračenja, bilo ono prirodno ili umjetno, mogu nam dati važne informacije ne samo o mogućnosti uklanjanja farmaceutika iz otpadnih voda ovim procesom, nego i o mogućnosti fotolitičke razgradnje farmaceutika u okolišu.

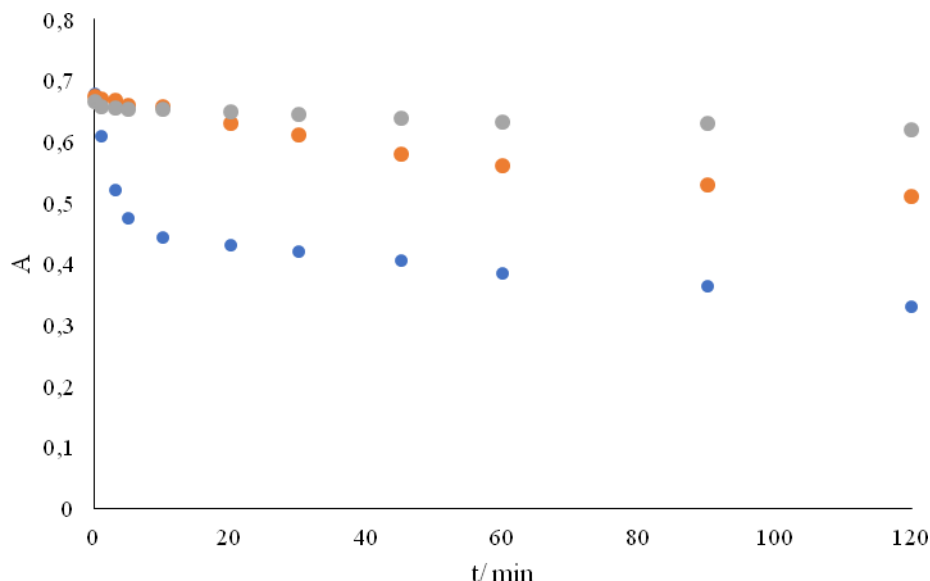
Fotolitička razgradnja NFT-a u MiliQ vodi izvedena je prema propisu navedenom u poglavlju 3.3.4. Učinkovitost fotolitičke razgradnje farmaceutika ispitivana je snimanjem apsorpcijskih spektara u rasponu valnih duljina 200-600 nm. Na slici 22. prikazan je apsorpcijski spektar nitrofurantoina nakon dva sata osvjetljavanja u struji kisika. Iz dobivenih rezultata može se uočiti da u prvim minutama dolazi do brzog smanjenja apsorpcije obiju vrpca (268 i 368 nm) NFT-a koje se nakon 5 minuta eksperimenta usporava. Dolazi do nastanka novih vrpca na 224 i 450 nm na samom početku fotolize. Nakon nastanka novih vrpca, njihova apsorpcija raste kratko vrijeme da bi nakon toga počela opadati. Takvo ponašanje ukazuje na nastanak novih spojeva – razgradnih produkata fotolize NFT-a. Djelovanjem umjetnog sunčevog zračenja na otopinu farmaceutika može se vidjeti i pomak u valnim duljinama obiju vrpca. Vrpca pri 368 nm pomiče se prema kraćim, a ona pri 268 nm prema većim valnim duljinama. Fotolitička razgradnja uz prisutnost struje argona daje iste rezultate kao i u prisutnosti struje kisika. Dobiveni rezultati ukazuju na činjenicu da do razgradnje NFT-a dolazi uglavnom zbog direktne fotolize, tj. djelovanja UV zračenja.



Slika 22. Apsorpcijski spektar nitrofurantoina tijekom fotolitičke razgradnje uz prisutnost kisika

Kako bi se eliminirali utjecaji vidljive svjetlosti i promjene temperature na fotolitičku razgradnju NFT-a provedeni su preliminarni eksperimenti koji su trajali tri sata. Osjetljivost farmaceutika na vidljivu svjetlost određena je korištenjem filtera koji uklanjaju UV zračenje lampe, a temperaturna osjetljivost zagrijavanjem otopine do 50 °C. Rezultati dobiveni tim eksperimentima nisu pokazali promjenu u apsorpcijskim spektrima te pH-vrijednosti što ukazuje na činjenicu da NFT nije osjetljiv na vidljivu svjetlost niti promjenu temperature.

Na slici 23. prikazan je dijagram ovisnosti apsorbancije vrpce pri 368 nm o vremenu osvjetljavanja za tri eksperimenata. Dana je usporedba otopina izlaganih umjetnom sunčevom zračenju (bez filtera) i dvije otopine izlagane vidljivoj svjetlosti (filter 1 (HCC-11) i filter 2 (HCC-12)). Rezultati dobiveni korištenjem filtera za uklanjanje UV područja su nešto drugačiji od onih bez njihove prisutnosti.

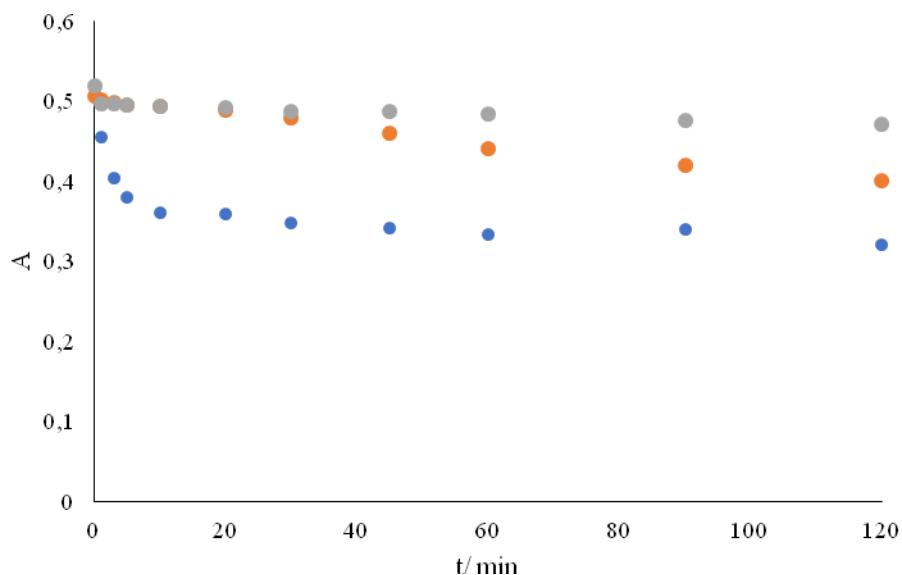


Slika 23. Fotolitička razgradnja nitrofurantoina bez filtra (●), s filtrom 1 (●) te s filtrom 2 (●) za vrpce pri 368 nm

Na gornjem dijagramu (slika 23.) može se uočiti da je uz uporabu filtra smanjenje koncentracije nitrofurantoina manje nego bez filtra što je potvrda da razgradnja farmaceutika nije posljedica hidrolize niti vidljive svjetlosti. Dobiveni rezultati za eksperiment bez uporabe filtra pokazuju najveći pad u apsorbanciji vrpce pri 368 nm tijekom dva sata izlaganja umjetnom sunčevom zračenju. Razgradnja je najbrža u prvih 10 minuta da bi nakon toga usporila. Za razliku od UV zračenja, razgradnja farmaceutika znatno je sporija djelovanjem vidljive svjetlosti. Uporabom filtra 2 razgradnja je neznatna budući da on uklanja svo UV zračenje (500-1000 nm), a ostavlja samo vidljivo. Rezultati pokazuju da je u eksperimentu u kojem je korišten filter 2 smanjenje apsorbancije nešto manje u odnosu na eksperiment s filtrom 1. Razlog tomu je što je zračenje koje propušta filter 1 na granici UV zračenja (400-1000 nm), pa dolazi do većeg smanjenja koncentracije farmaceutika nego u slučaju s filtrom 2.

Praćena je i promjena apsorbancije otopine i za drugu vrpce NFT-a, pri 268 nm. Na slici 24. može se uočiti slična promjena kao i na prethodnom dijagramu (slika 23.). U ovom slučaju,

razgradnja bez prisutnosti filtra je nešto blaža. U prvih 10 minuta osvjetljavanja, smanjenje koncentracije je najveće, a potom do kraja eksperimenta razgradnja je vrlo spora. Korištenjem filtra razgradnja je neznatna, kao i u prvom slučaju uz filter 1, smanjenje apsorbancije je nešto veće u usporedbi s filtrom 2.

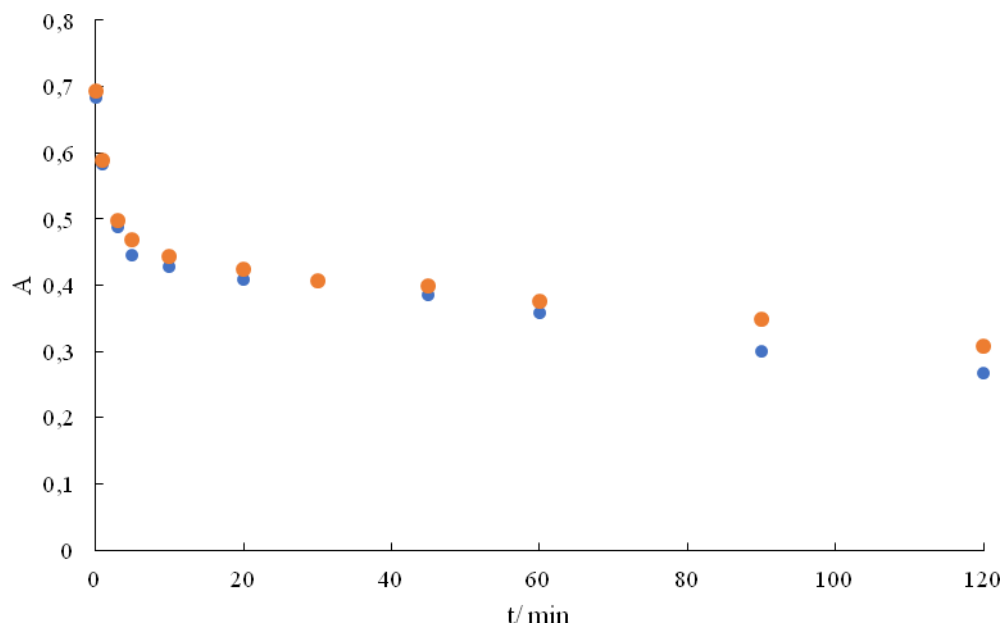


Slika 24. Fotolitička razgradnja nitrofurantoina bez filtra (●), s filtrom 1 (●) te s filtrom 2 (●) za vrpce pri 268 nm

Budući da su ispitivanja fotolitičke razgradnje praćena uz prisutnost dvije vrste plinova (kisik/argon), također su promatrani njihovi učinci na proces.

Na slici 25. prikazan je dijagram ovisnosti apsorbancije o vremenu osvjetljavanja za dva eksperimenta, uz prisutnost kisika te uz prisutnost argona. Može se vidjeti da su promjene u koncentraciji NFT-a u prisutnosti ova dva plina gotovo pa jednake. U početku eksperimenata promjena apsorbancije NFT-a u prisutnosti struje kisika je gotovo jednaka promjeni apsorbancije uz prisutnost argona. Nakon 60 minuta osvjetljavanja, razgradnja farmaceutika je nešto brža u struji kisika. Nepostojanje značajnije razlike u brzini razgradnje NFT-a u struji kisika, odnosno

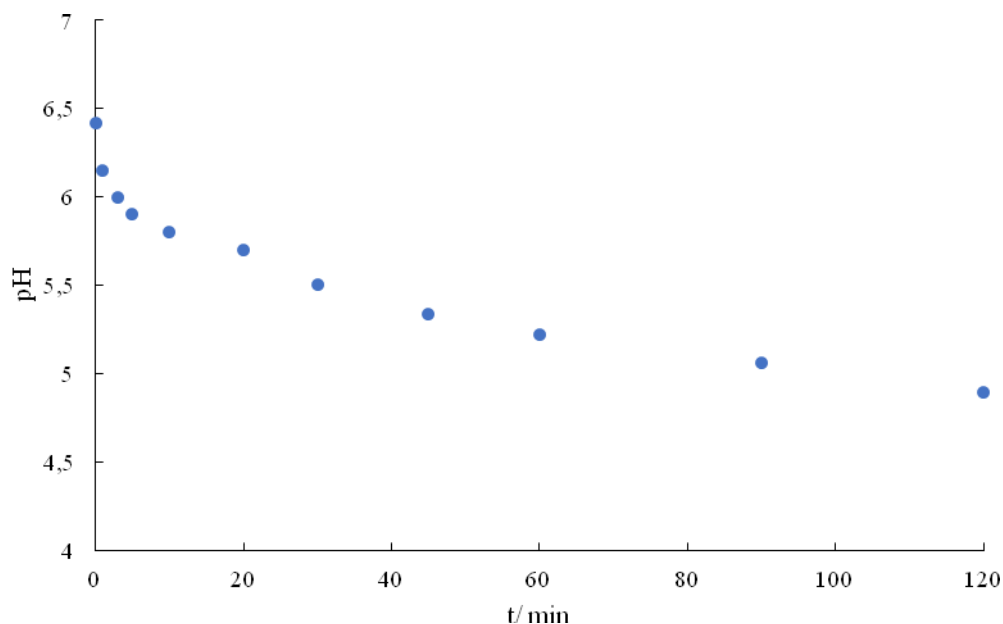
argona upućuje na to da do razgradnje dolazi uglavnom zbog djelovanja UV zračenja bez obzira na prisutnost plinova unutar reaktora.



Slika 25. Fotolitička razgradnja nitrofurantoina u prisutnosti kisika (●) te argona (●)

Jedan od parametara koji se često prati tijekom fotolitičke razgradnje je pH-vrijednost osvijetljavane otopine s obzirom da promjena pH-vrijednosti može indicirati razgradnju ispitivanog spoja. Tijekom fotolitičke razgradnje NFT-a svakom uzorku mjerena je vrijednost pH.

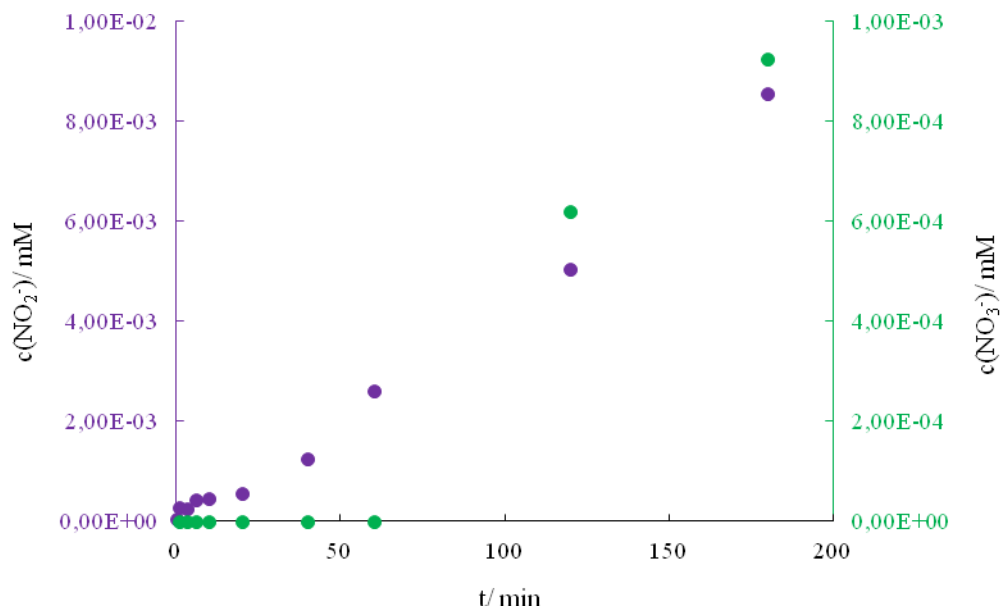
Na slici 26. prikazana je promjena pH-vrijednosti s vremenom osvijetljavanja za otopinu nitrofurantoina u struji kisika. Kao što se može vidjeti, dolazi do konstantnog opadanja pH-vrijednosti otopine NFT-a djelovanjem umjetnog sunčevog zračenja. Vrijednost pH smanjuje se od 6,42 do 4,89 unutar dva sata osvijetljavanja. Promjena pH-vrijednosti prema kiselom području, ukazuje na stvaranje kiseline tijekom razgradnje farmaceutika. Zbog prisutnosti nitro grupe na furanskom prstenu, djelovanjem UV zračenja dolazi do razgradnje NFT-a i formiranja kiselih oksida dušika koji lako mogu oksidirati u nitratnu kiselinu. U prisutnosti struje argona promjena pH-vrijednosti je vrlo slična, dolazi do kontinuiranog opadanja pH-vrijednosti ali u blažoj mjeri.



Slika 26. Promjena pH otopine nitrofurantoina tijekom fotolitičke razgradnje u prisutnosti kisika

Budući da tijekom osvjetljavanja otopina umjetnim sunčevim zračenjem dolazi do promjene pH-vrijednosti prema kiselom području, potrebno je dokazati prisutnost nastalih kiselih oksida dušika. U ovom radu mjerena je koncentracija nitritnog i nitratnog iona tijekom fotolitičke razgradnje farmaceutika NFT-a u prisutnosti struje kisika.

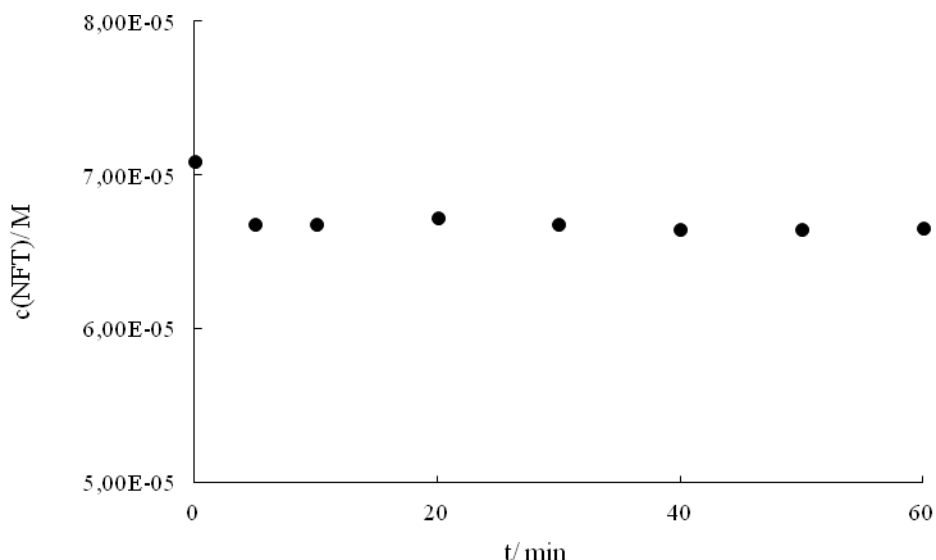
Na slici 27. prikazana je promjena koncentracije nitritnog i nitratnog iona u ovisnosti o vremenu osvjetljavanja NFT-a. Može se uočiti da djelovanjem umjetnog sunčevog zračenja, od samog početka nastaje NO_2^- ion, dok NO_3^- nastaje tek nakon 60 minuta osvjetljavanja. Koncentracija nastalog NO_2^- brzo i kontinuirano raste kako se NFT razgrađuje, te je njegova koncentracija veća od koncentracije nastalog NO_3^- . Razlog nastanka nitrat iona tek nakon nastalog nitrita je oksidacija NO_2^- u NO_3^- tijekom kontakta s kisikom u reaktoru.



Slika 27. Koncentracija nastalog nitritnog (●) i nitratnog (●) iona tijekom fotolitičke razgradnje nitrofurantoina

4.2. Heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina titanijevim (IV) oksidom

Kao jedan od procesa koji se javlja pri kontaktu otopine farmaceutika s fotokatalizatorom je adsorpcija. Miješanjem otopine farmaceutika s TiO₂ dolazi do fizičke adsorpcije ili kemisorpcije na aktivnom centru na površini katalizatora. Mehanizmi koji se odvijaju na površini fotokatalizatora su vrlo složeni. Na slici 28. prikazana je ovisnost koncentracije NFT-a koja se adsorbira na površinu TiO₂ tijekom međusobnog kontakta uz prisutnost struje kisika bez djelovanja UV zračenja.

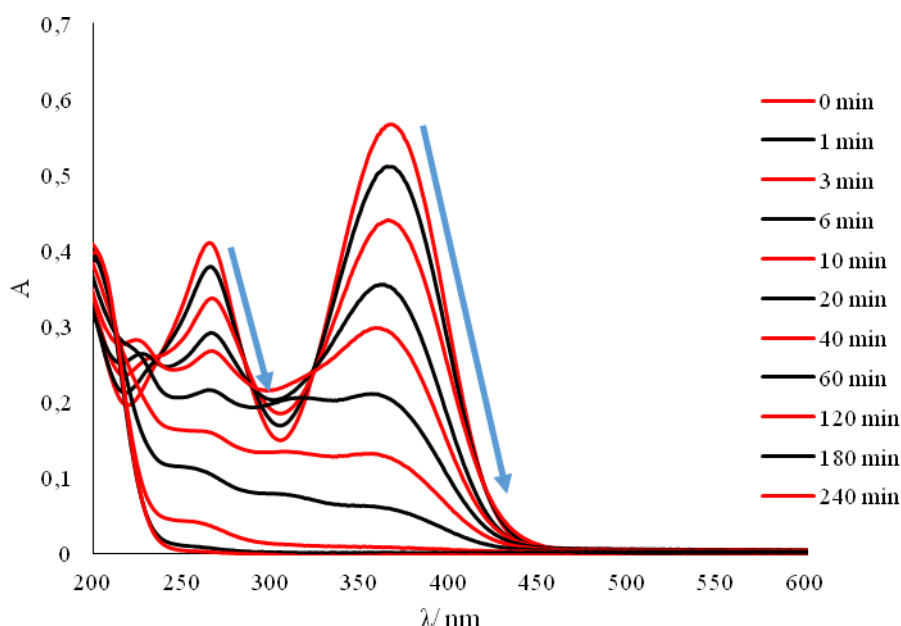


Slika 28. Adsorpcija nitrofurantoina na površinu TiO_2

Kao što se može vidjeti iz gornjeg dijagrama, proces adsorpcije na površini katalizatora odvija se vrlo brzo, već unutar 5 minuta međusobnog kontakta farmaceutika i katalizatora. Ispitivana koncentracija nitrofurantoina bila je $7,1 \cdot 10^{-5}$ M u MiliQ vodi, a TiO_2 $1,25 \cdot 10^{-2}$ M. Dolazi do smanjenja koncentracije farmaceutika za iznos od $4 \cdot 10^{-6}$ M. Nakon toga, koncentracija farmaceutika adsorbiranog na površinu katalizatora ostaje nepromijenjena. Ovaj podatak je vrlo bitan za određivanje točne koncentracije NFT-a uzrokovane heterogenom fotokatalitičkom razgradnjom koja slijedi nakon procesa adsorpcije. Također i saznanje da se adsorpcija NFT-a na površinu TiO_2 odvija vrlo brzo i kada je površina katalizatora okupirana bitna je činjenica da adsorpcija tada prestaje. Tek nakon toga može se sa sigurnošću reći koliko je smanjenje koncentracije farmaceutika uzrokovano fotokatalitičkom razgradnjom, a koliko procesom adsorpcije.

Nakon adsorpcije nitrofurantoina na površinu fotokatalizatora slijedi heterogena fotokatalitička razgradnja titanijevim (IV) oksidom. Na slici 29. prikazani su apsorpcijski spektri otopine NFT-a u određenim vremenskim intervalima tijekom fotokatalitičke razgradnje uz prisutnost struje

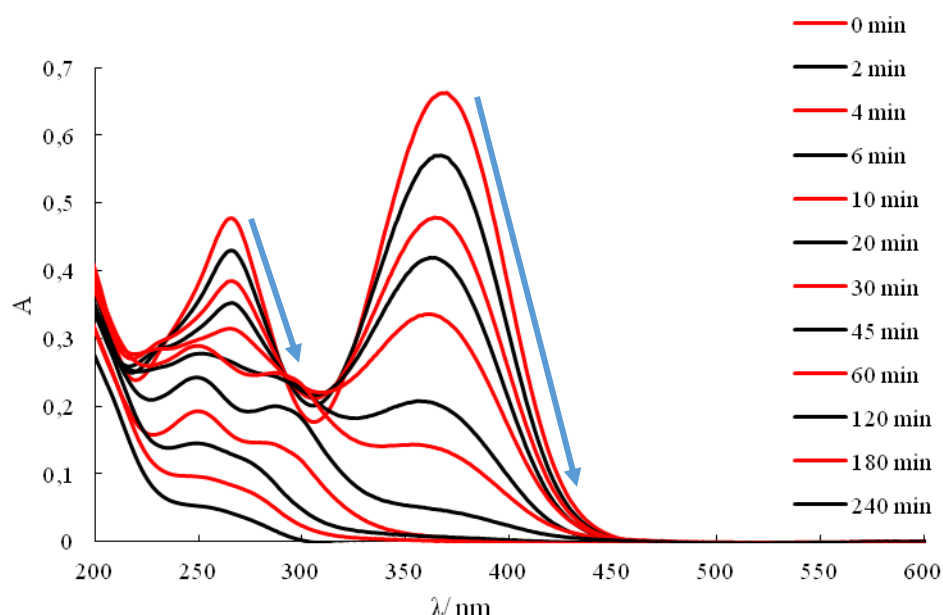
kisika. Nakon pobuđivanja TiO_2 umjetnim sunčevim zračenjem dolazi do stvaranja elektrona i šupljine. Pri tome dolazi do njihove rekombinacije te elektron napada molekulu NFT-a. Tijekom pobude nastaju $\text{OH}^\bullet$ radikali koji su odgovorni za razgradnju. Iz dobivenih apsorpcijskih spektara može se uočiti da je razgradnja farmaceutika relativno brza, potpuna razgradnja postiže se unutar 4 sata. Usporedimo li dobivene rezultate s rezultatima fotolitičke razgradnje, možemo reći da je uz prisutnost TiO_2 kao fotokatalizatora razgradnja znatno brža. Na slici 29. također se može vidjeti da dolazi do smanjenja apsorpcije obiju vrpca NFT-a te nastajanje dvije nove vrpce pri 224 i 311 nm. Vrpca pri 224 nm u početku raste, da bi nakon 30 minuta počela opadati. Za razliku od nje, vrpca pri 311 nm vrlo brzo nestaje. Također, uz smanjenje apsorpcije dolazi i do pomaka u valnoj duljini vrpce pri 268 nm prema većim valnim duljinama.



Slika 29. Apsorpcijski spektri nitrofurantoina tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u struji kisika

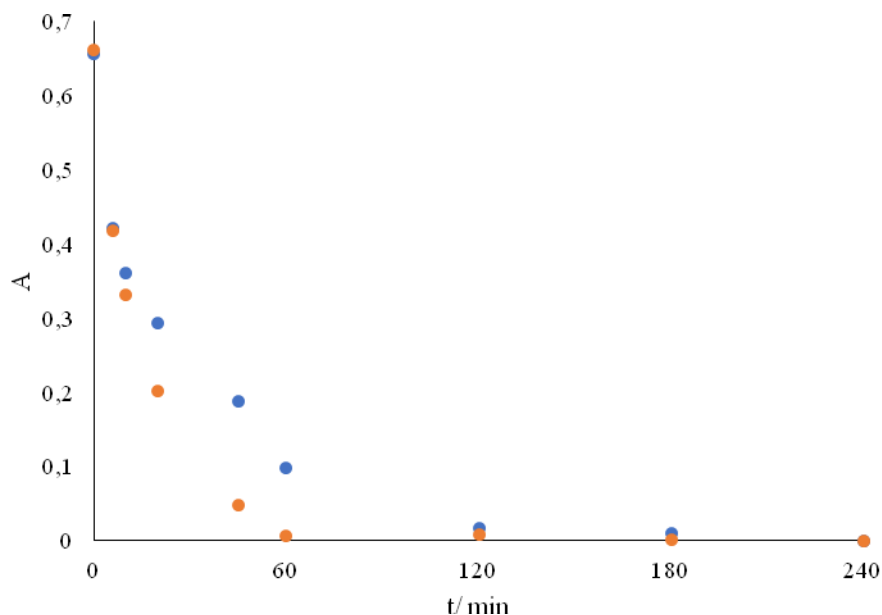
Također, istraživana je i heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina titanijevim (IV) oksidom uz prisutnost struje argona. Na slici 30. prikazani su apsorpcijski spektri NFT-a dobiveni u ovim eksperimentima. Iz dobivenih apsorpcijskih spektara može se uočiti da je heterogena

fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina u prisutnosti argona također vrlo brza. Razlika u odnosu na prisutnost struje kisika je u tome što apsorbanacija vrpce pri 268 nm sporije opada. Na prikazanim spektrima može se vidjeti da vrpca pri 368 nm vrlo brzo opada te uz vrpce pri 224 nm nastaje nova vrpca pri 295 nm. Uz smanjenje apsorbanacije dolazi i do pomaka u valnoj duljini vrpce pri 268 nm koja se pomiče prema većim valnim duljinama.



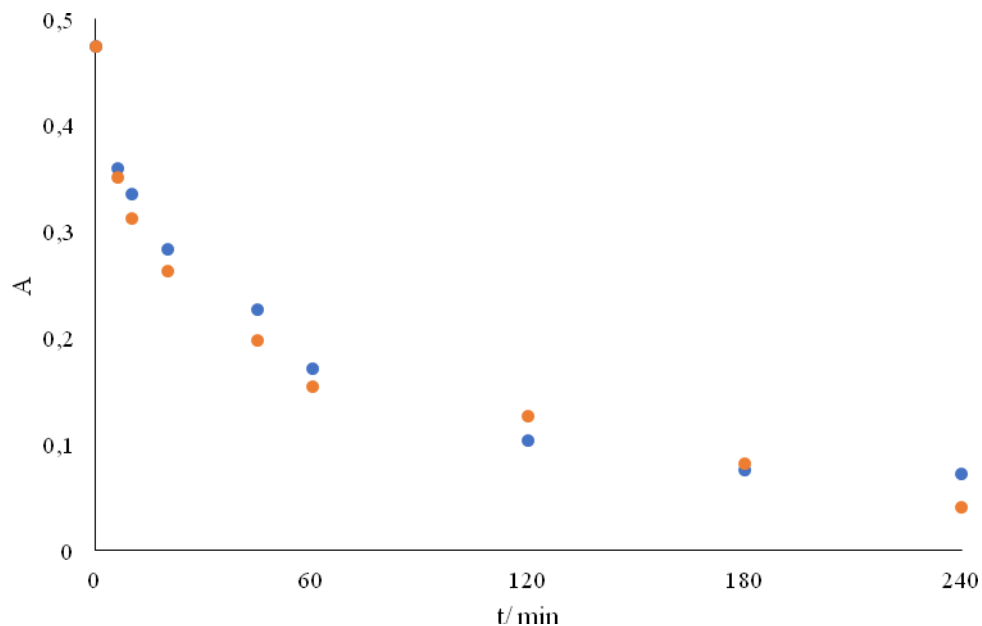
Slika 30. Apsorpcijski spektri nitrofurantoina tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u struji argona

Kako bi bilo lakše pratiti brzinu razgradnje nitrofurantoina, na slici 31. prikazana je usporedba promjene apsorbanacije vrpce pri 368 nm tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u struji kisika i argona. Može se uočiti da je smanjenje apsorbanacije vrpce pri 368 nm uz prisutnost struje argona nešto brža u prvih sat vremena osvjetljavanja nego uz struju kisika. Unutar toga vremena vrpca nestaje, što ukazuje na potpunu razgradnju NFT-a.



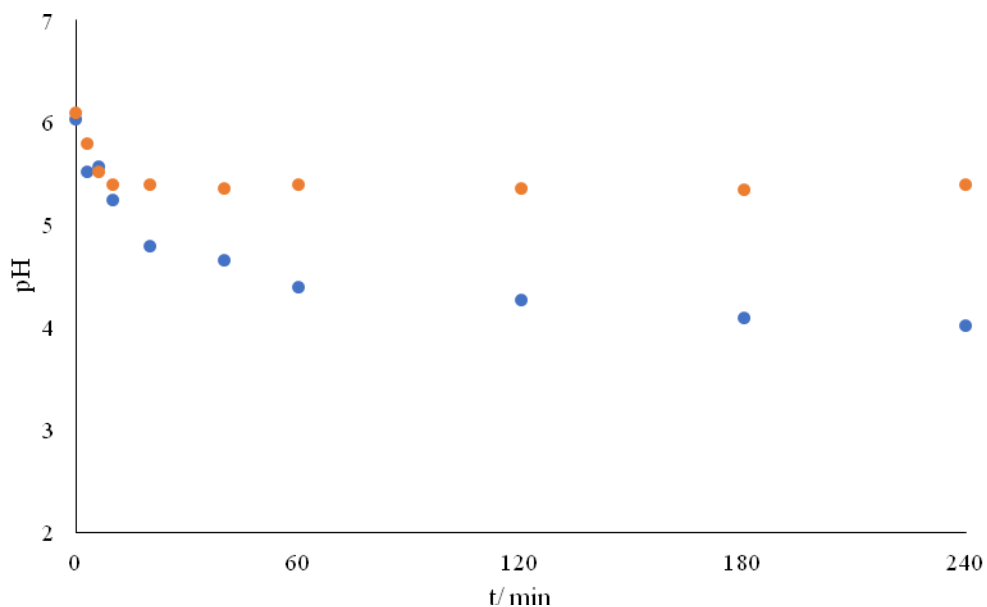
Slika 31. Promjena apsorbancije nitrofurantoina tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u struji kisika (●) te argona (●) za vrpce pri 368 nm

Za razliku od vrpce pri 368 nm, razgradnja nitrofurantoina prikazana na slici 32. za vrpce pri 268 nm ukazuje na nešto drugačije ponašanje NFT-a nakon djelovanja umjetnog sunčevog zračenja. Može se vidjeti da vrpca ne nestaje unutar 4 sata osvjetljavanja kao u struji kisika, a prisutnost kisika i argona pokazuje gotovo jednaki učinak na smanjenje apsorbancije ove vrpce.



Slika 32. Promjena apsorbancije nitrofurantoina tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u struji kisika (●) te argona (●) za vrpceu pri 268 nm

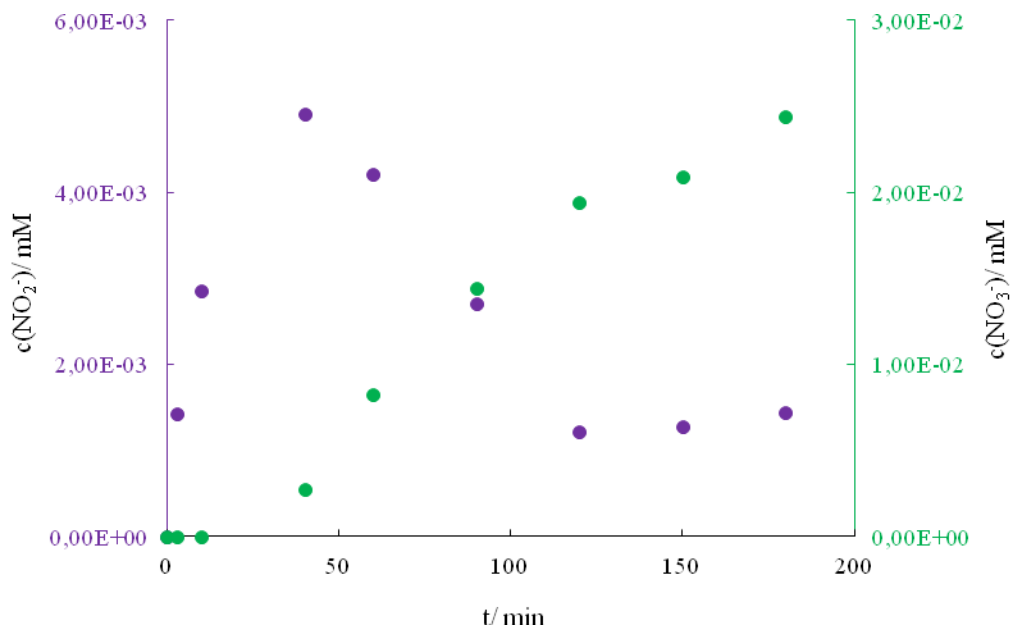
Na slici 33. prikazana je promjena pH-vrijednosti otopine NFT-a tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje u prisutnosti kisika i argona. Iz prikazanog dijagrama može se vidjeti različito ponašanje uzrokovano prisutnošću različitih plinova. U prisutnosti kisika dolazi do kontinuiranog opadanja pH tijekom cijelog eksperimenta, vrijednost pH smanji se od 6,04 do 4,02. Za razliku od struje kisika, u prisutnosti argona pH-vrijednost opada u prvih 10 minuta eksperimenta, a potom je konstantna do kraja. Razlog pomicanja pH-vrijednosti prema kiselom području je nastajanje nitritnog i nitratnog iona tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje, u struji kisika nastaje veća količina navedenih iona što ukazuje na veći pad pH-vrijednosti.



Slika 33. Promjena pH tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina u prisutnosti kisika (●) te argona (●)

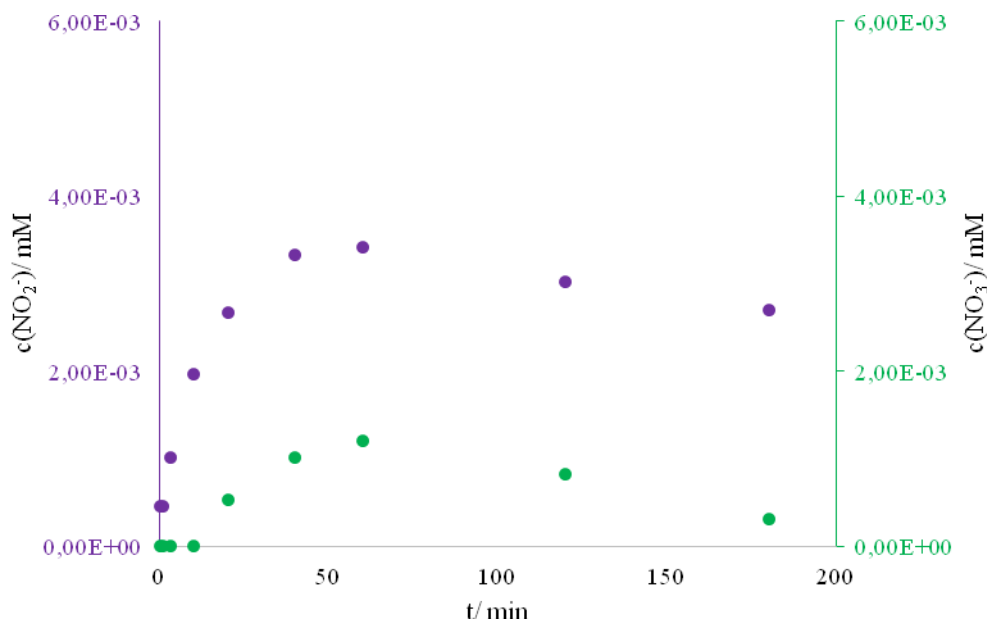
Zbog prisutnosti nitro grupe koja je vezana na furanski prsten molekule nitrofurantoina te opadanja pH-vrijednosti, u uzorcima nakon heterogene fotokatalitičke razgradnje određivana je koncentracija nitritnog i nitratnog iona.

Na slici 34. može se uočiti da nitritni ion nastaje od samoga početka fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina te mu se koncentracija brzo povećava do 40-te minute fotokatalitičke razgradnje te nakon toga počinje opadati. Za razliku od nitrita, nitrati nastaju tek nakon 40 minuta. Kada koncentracija nitrita počinje opadati, dolazi do nastajanja nitrata čija koncentracija kontinuirano raste do kraja eksperimenta. To ukazuje na činjenicu da u prisutnosti kisika u otopini dolazi do oksidacije nitrita u nitrat.



Slika 34. Promjena koncentracije nitritnog (●) i nitratnog (●) iona tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina u prisutnosti kisika

Uz prisutnost struje argona u reaktoru, rezultati su drugačiji. Slika 35. pokazuje promjenu koncentracije nitrita i nitrata tijekom tri sata izlaganja heterogene fotokatalitičke smjese umjetnom sunčevom zračenju. Može se uočiti da nitritni ion nastaje od početka fotokatalize i njegova koncentracija raste do 60-te minute eksperimenta, a nakon toga lagano opada. U odsutnosti kisika, dolazi do oksidacije nitrita u nitrat te, kao što se može vidjeti na slici 35., njegova koncentracija blago raste da bi nakon toga opadala. Nastanak i nestanak iona nitrita i nitrata imaju isto ponašanje, prvo dolazi do rasta koncentracije i nakon toga smanjenje. Ovakvo ponašanje može se objasniti činjenicom da u atmosferi argona, iz nastalih hidroksil radikala mogu se formirati različiti radikali koji mogu oksidirati nitrit u nitrat.

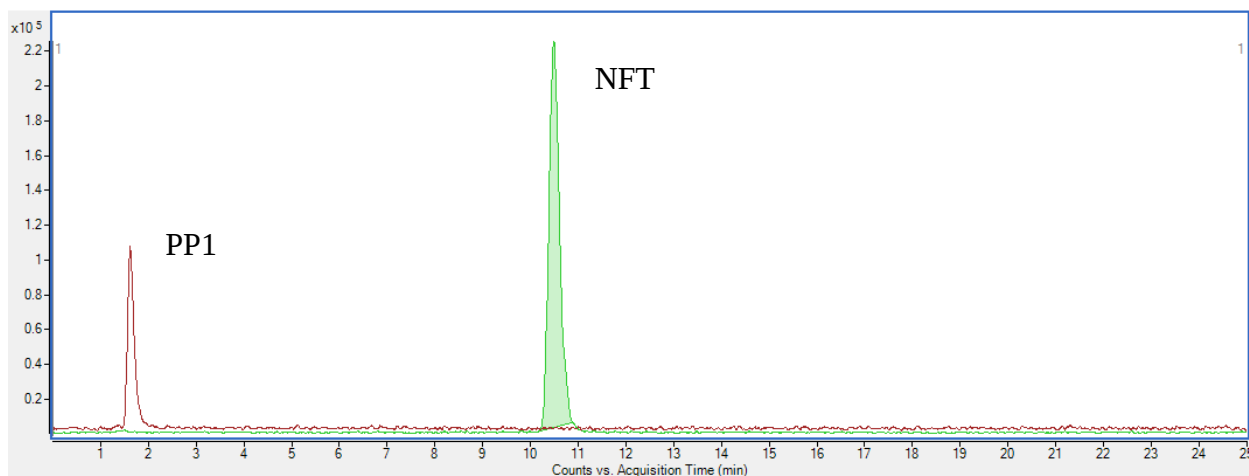


Slika 35. Promjena koncentracije nitritnog (●) i nitratnog (●) iona tijekom heterogene fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina u prisutnosti argona

4.3. Identifikacija produkata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina

Izlaganje otopine nitrofurantoina umjetnom sunčevu zračenju te u procesu fotokatalize s titanijevim (IV) oksidom kroz određeni vremenski period rezultiralo je promjenama u apsorpcijskom spektru nitrofurantoina i nastankom novih vrpca iz čega se može pretpostaviti da su nastali novi spojevi. Nastanak razgradnih produkata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina praćeno je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti vezanom sa spregnutom spektrometrijom masa. Nastanak nove kromatografske vrpce, koja nije bila prisutna u početnom uzorku, upućivalo je na nastanak fotorazgradnog produkta.

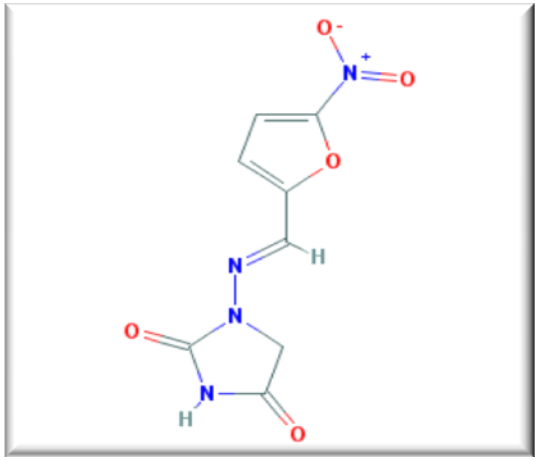
Na slici 36. prikazan je kromatogram otopine nitrofurantoina nakon 3 minute izlaganja umjetnom sunčevu zračenju. Na kromatogramu se, uz kromatografsku vrpcu nitrofurantoina, može uočiti i vrpca nastalog razgradnog produkta (PP1).



Slika 36. Kromatogram otopine nitrofurantoina nakon izlaganja umjetnom sunčevu zračenju

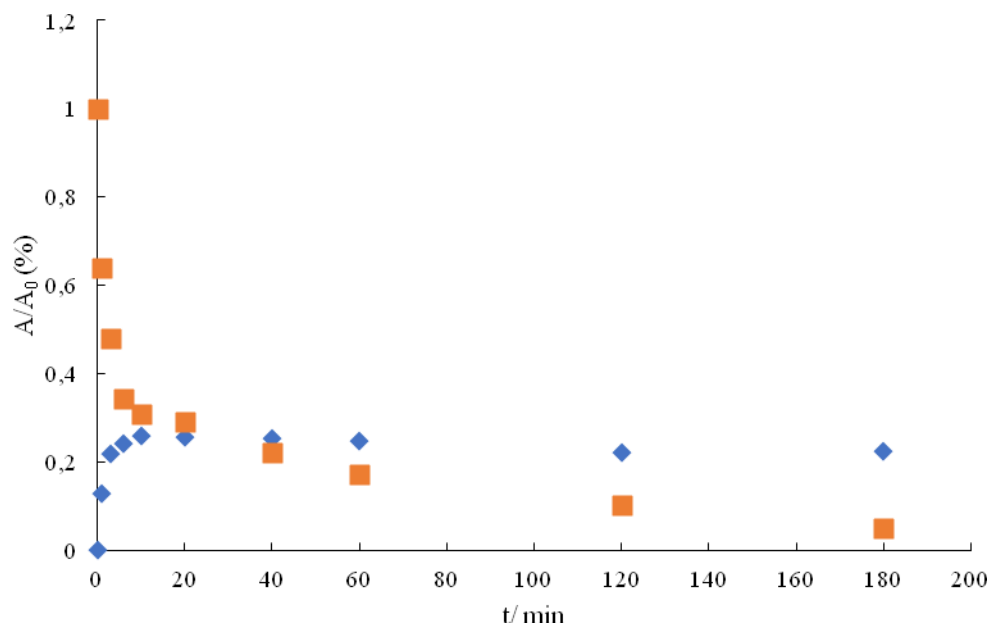
Na temelju spektra masa, identificiran je jedan fotorazgradni produkt, PP1 (m/z 116). Kako bi se utvrdila njegova struktura, provedena je fragmentacija te je na osnovu fragmentnih iona utvrđena struktura fotorazgradnog produkta, koja je prikazana u tablici 4. Dobiveni rezultati slažu se s rezultatima objavljenim u znanstvenoj literaturi, struktura fotorazgradnog produkta pripada spoju pod imenom aminohidantoin [54]. Aminohidantoin je metabolit nitrofurantoina, i prema tome potencijalno prisutan u otpadnim i površinskim vodama. Stoga nam ova istraživanja daju važne informacije o ponašanju ne samo osnovnog spoja, nego i njegovog metabolita tijekom fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje.

Tablica 4. Struktura identificiranog produkata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje farmaceutika nitrofurantoina

FARMACEUTIK	RAZGRADNI PRODUKT
NFT  <chem>C8H6N4O5</chem> $Mr = 238,16 \text{ g/mol}$ $t_R = 10,6 \text{ min}$	AHD  <chem>C3H5N3O2</chem> $Mr = 116 \text{ g/mol}$ $t_R = 1,6 \text{ min}$

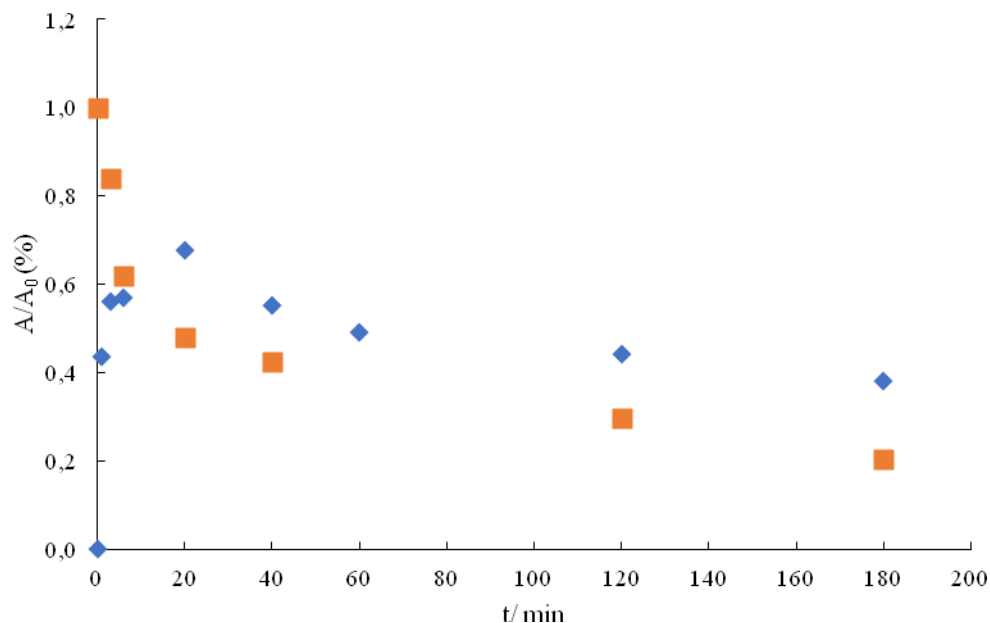
Promjena koncentracije ispitivanog analita te razgradnog produkta praćena je kao promjena površine ispod kromatografske vrpce i prikazana kao omjer A/A_0 , pri čemu je A_0 površina ispod kromatografske vrpce početnog spoja, a A je površina ispod kromatografske vrpce nakon određenog vremena (t) trajanja fotolize, odnosno fotokatalize. Isti razgradni produkt identificiran je tijekom procesa fotolize i fotokatalize s TiO_2 u prisutnosti struje kisika i argona. Iako je identificiran isti fotorazgradni produkt, udio mu se razlikuje s obzirom na vrstu procesa i prisutnost različitih plinova. Dijagrami promjene koncentracije s vremenom za NFT i njegov razgradni produkt za procese fotolize i fotokatalize u struji kisika i argona prikazani su na slijedećim slikama.

Na slici 37. vidi se kako se tijekom izlaganja umjetnom sunčevom zračenju koncentracija početnog spoja smanjuje, a fotorazgradnog produkta povećava. Na dijagramu se također može primijetiti da je početna molekula gotovo u potpunost razgrađena nakon 180 minuta izlaganja zračenju, ali fotorazgradni produkt je i dalje prisutan u otopini.



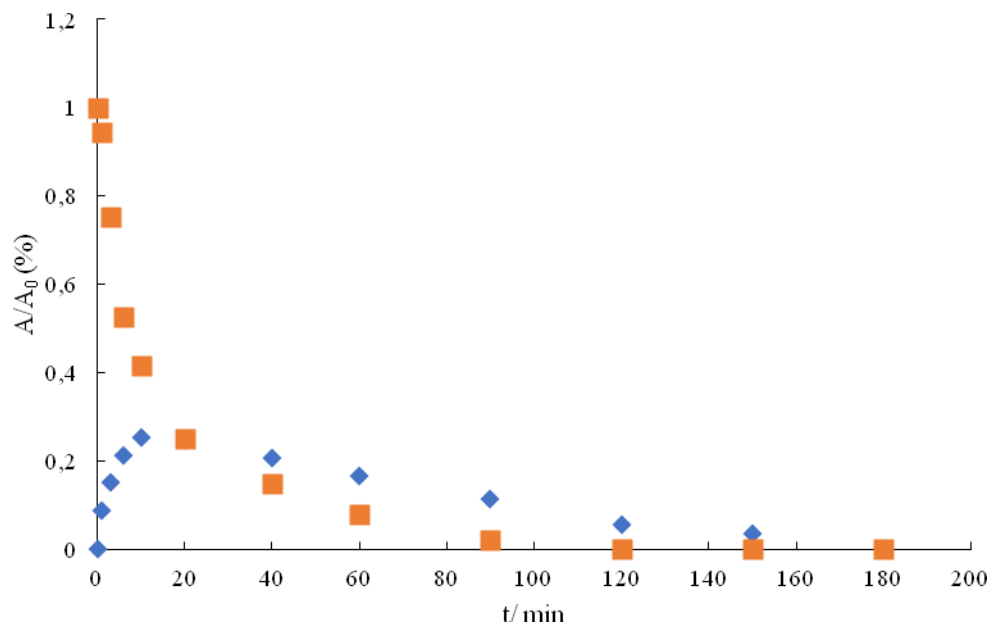
Slika 37. Promjena koncentracije NFT-a (■) i nastanak fotorazgradnog produkta (◆) tijekom fotolitičke razgradnje u struji kisika

Na slici 38. može se primijetiti da na samom početku izlaganja otopine farmaceutika umjetnom sunčevom zračenju, nastaje fotorazgradni produkt čija se koncentracija povećava te nakon toga počinje opadati usporedno s razgradnjom NFT-a. Koncentracija nastalog produkta u struji argona veća je u usporedbi s procesom u prisutnosti kisika, a fotolitička razgradnja farmaceutika je nešto sporija. I početna molekula i fotorazgradni produkt prisutni su u otopini nakon 180 minuta fotolitičke razgradnje.



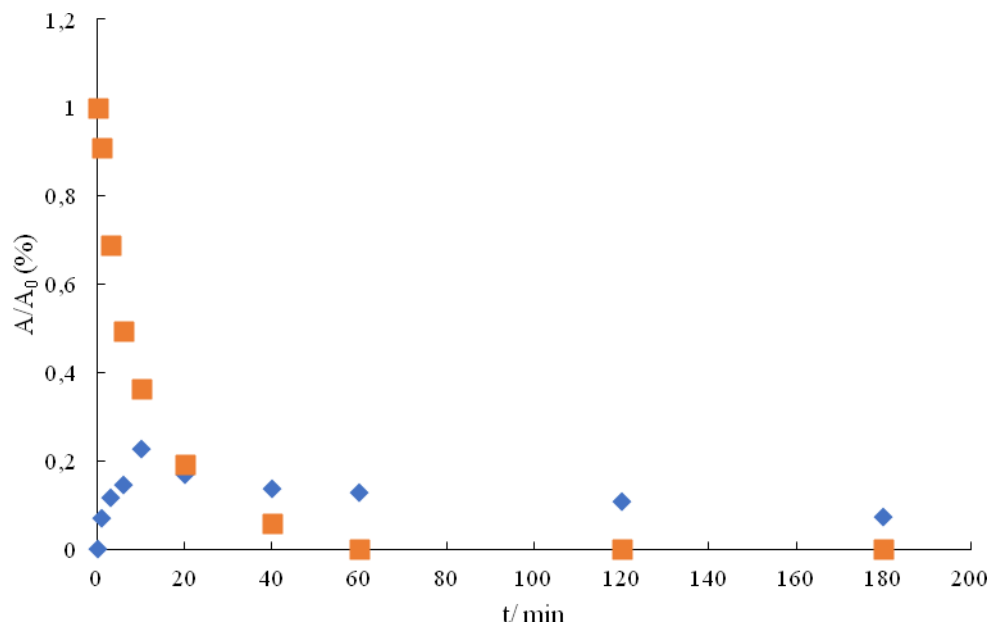
Slika 38. Promjena koncentracije NFT-a (■) i nastanak fotorazgradnog produkta (◆) tijekom fotolitičke razgradnje u struji argona

Heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina je brža zbog prisutnosti fotokatalizatora TiO_2 . Kao što se može vidjeti na slici 39. nakon 120 minuta osvjetljavanja otopine u struji kisika, farmaceutik je u potpunosti razgrađen. Nastanak i povećanje koncentracije fotorazgradnog produkta slijedi opadanje koncentracije NFT-a, njegova koncentracija se poveća, ali nakon 20 minuta počinje se smanjivati. Početna molekula farmaceutika i fotorazgradni produkt, aminohidantoin razgrađeni su heterogenim fotokatalitičkim procesom u relativno kratkom vremenu.



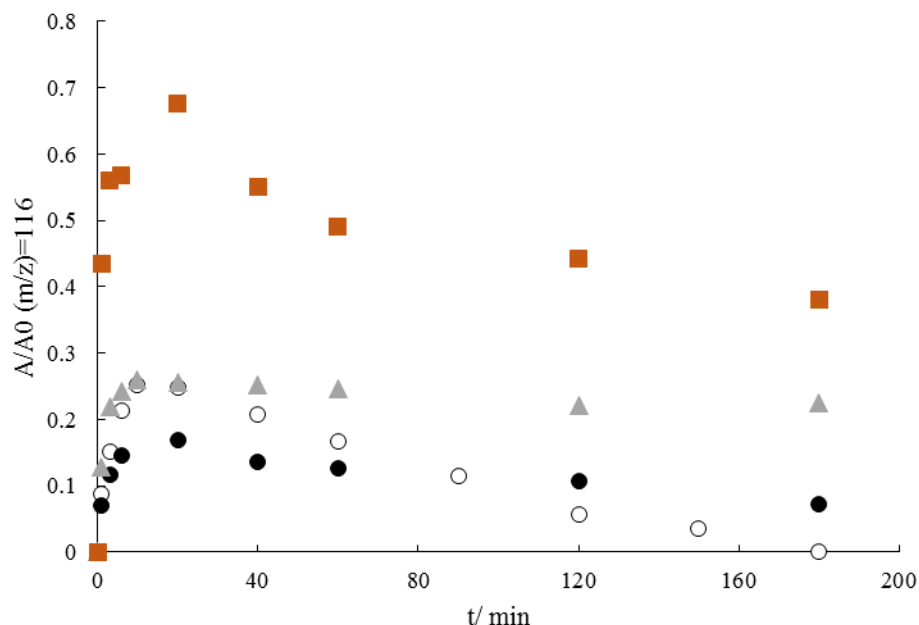
Slika 39. Promjena koncentracije NFT-a (■) i nastanak fotorazgradnog produkta (◆) tijekom fotokatalitičke razgradnje u struji kisika

U prisutnosti struje kisika razgradnja farmaceutika je sporija, početna molekula biva razgrađena nakon 120 minuta, dok u struji argona nakon 60 minuta. Na slici 40. može se vidjeti da nastali produkt nije u potpunosti razgrađen nakon 180 minuta što ukazuje na sporiju razgradnju u prisutnosti struje argona.



Slika 40. Promjena koncentracije NFT-a (■) i nastanak fotorazgradnog produkta (◆) tijekom fotokatalitička razgradnja u struji argona

Na slici 41. prikazana je usporedba koncentracije fotorazgradnog produkta NFT-a, aminohidantoina tijekom fotolitičkog i fotokatalitičkog procesa u struji kisika i argona. Kao što se može vidjeti, tijekom fotolitičke razgradnje u atmosferi argona nastaje puno veća količina fotorazgradnog produkta nego u atmosferi kisika. Tijekom fotokatalitičke razgradnje NFT-a u atmosferi argona nastaje manje fotorazgradnog produkta nego u atmosferi kisika te je njegova razgradnja sporija. U atmosferi kisika njegova razgradnja je vrlo brza, nakon 180 minuta nije više prisutan u otopini.



Slika 41. Usporedba ponašanja aminohidantoina tijekom fotolitičke razgradnje u struji kisika (▲) i argona (■) te tijekom fotokatalitičke razgradnje NFT-a u struji kisika (○) i argona (●)

Kao što se može vidjeti iz prikazanih dijagrama, fotolitička razgradnja farmaceutika je sporija u usporedbi s heterogenom fotokatalitičkom razgradnjom. Tijekom fotokatalize početna molekula se u potpunosti razgradi u kratkom vremenu (120 min), a identificirani fotorazgradni produkt, aminohidantoin se također razgradi u ispitivanom vremenu (180 min) kada se eksperimenti provode u struji kisika.

4.4. Toksičnost nitrofurantoina i fotorazgradnog produkta

Za ispitivanje toksičnosti farmaceutika tijekom fotokatalitičke razgradnje u prisutnosti TiO_2 korištene su luminiscentne bakterije *Vibrio fischeri* prema propisu 3.3.7. Kako bi se odredila toksičnost nitrofurantoina te smjese nitrofurantoina i njegovog fotorazgradnog produkta, mjereni su uzorci dvaju eksperimenata. Prvi, heterogena fotokatalitička razgradnja s TiO_2 u prisutnosti struje kisika te drugi u prisutnosti struje argona. Kao što se može vidjeti iz tablice 5., farmaceutik nitrofurantoin je blago toksičan. Njegova srednja efektivna koncentracija, EC_{50} uzrokuje

inhibiciju emitiranja svjetlosti 50% bakterijske populacije. Dobiveni rezultati pokazuju da se fotokatalitičkom razgradnjom toksičnost ispitivane otopine smanjuje. Također se može vidjeti da toksičnost ispitivane otopine u prisutnosti kisika opada sporije nego u prisutnosti argona, što ukazuje na različitu brzinu razgradnje. Ali nakon 120 minuta fotokatalitičkog procesa ispitivana otopina nije toksična u oba slučaja (kisik i argon). S obzirom da toksičnost opada s vremenom osvjetljavanja otopine, može se zaključiti da fotorazgradni produkt nitrofurantoina nije toksičan.

Tablica 5. Rezultati toksičnosti

Vrijeme osvjetljavanja/ min	EC ₅₀	
	Kisik	Argon
0	1,35	1,58
3	2,80	3,53
10	3,79	6,49
40	4,21	65,53
120	nt*	nt
240	Nt	nt

*nt – nije toksičan

4.5. Mehanizam razgradnje farmaceutika

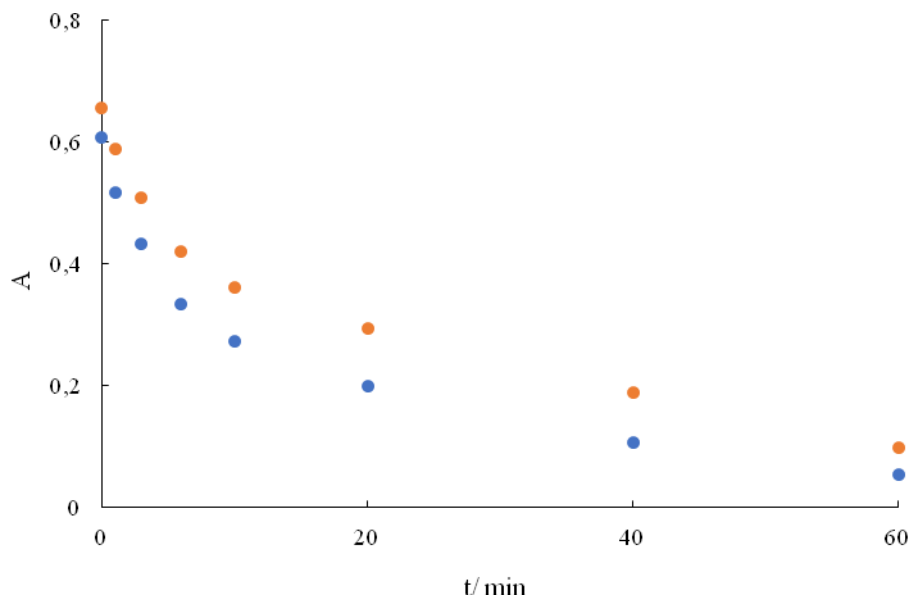
Poznato je da se razgradnja organskih komponenata zasniva na radikalskom mehanizmu napada na dvostruke C-C veze. Slobodni radikali su atomi, molekule ili ioni koji sadrže barem jedan nespareni elektron u vanjskom elektronskom omotaču, zbog čega su vrlo reaktivni, nestabilni i imaju visok energetske potencijal. Dearomatizacija komponenata, kao što su toluen, benzen i fenol, vrlo je brz postupak, čak i u prisutnosti -Cl, -NO₂ i -OCH₃ na aromatskom prstenu. Alifatska veza na aromatskom prstenu lako puca, ali daljnja mineralizacija do CO₂ je vrlo spor proces, jer dolazi do nastajanja vrlo stabilnih intermedijera. Radikali koji potječu od kisika

predstavljaju najznačajniju vrst slobodnih radikala, a najčešći su hidroksil, peroksil i superoksid radikal te singletni kisik [38].

Cilj ovog ispitivanja je odrediti mehanizam fotorazgradnje farmaceutika nitrofurantoina uz prisutnost TiO_2 . Istraživan je utjecaj triju „hvatača“ elektrona, tj. radikala (metanol, benzokinon i natrijev azid) na heterogenu fotokatalitičku razgradnju NFT-a.

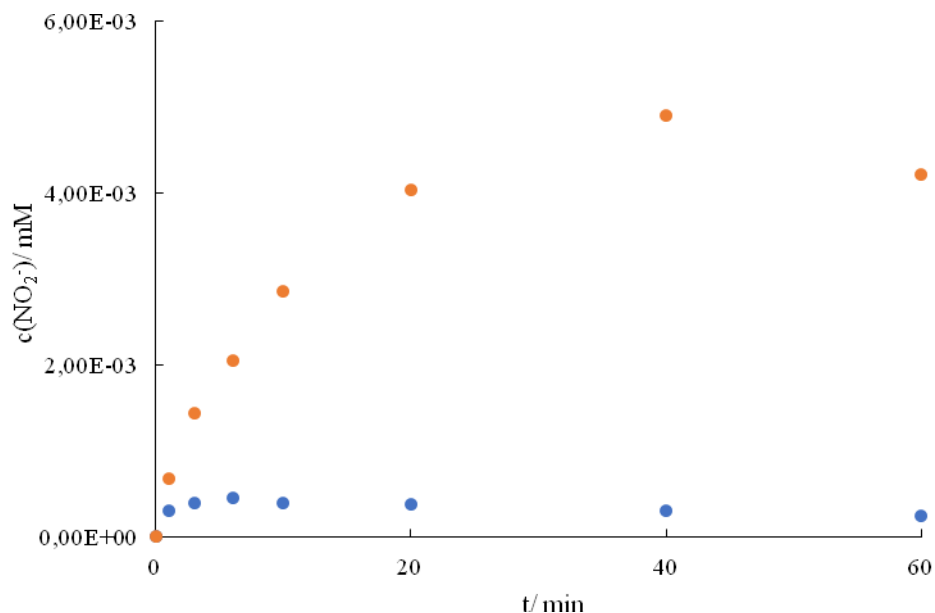
Pobuđivanjem fotokatalizatora, TiO_2 dolazi do pobude elektrona i njegovog prelaska iz valentne u vodljivu vrpcu koji za sobom ostavlja šupljinu. Nastala šupljina, u nedostatku reducirajuće vrste, pretvara površinski adsorbiranu vodu ili hidroksilni ion u hidroksil radikal. Zbog njegove velike reaktivnosti i kratkog životnog vijeka, teško ga je dokazati. Uloga hidroksil radikala u heterogenoj fotokatalitičkoj razgradnji određena je pomoću metanola, „hvatača“ hidroksil radikala. Hidroksil radikal $\text{OH}^\bullet$ je najaktivniji i najtoksičniji reducirani oblik kisika.

Na slici 42. prikazana je promjena apsorbancije s vremenom osvjetljavanja otopine NFT-a bez prisutnosti te uz dodatak metanola. Može se vidjeti da uz prisutnost „hvatača“ $\text{OH}^\bullet$ unutar sat vremena izlaganja umjetnom sunčevom zračenju heterogena fotokatalitička razgradnja NFT-a je ubrzana. Dodatak metanola u suspenziju TiO_2 ima važnu ulogu u razgradnji NFT-a budući da ju ubrzava.



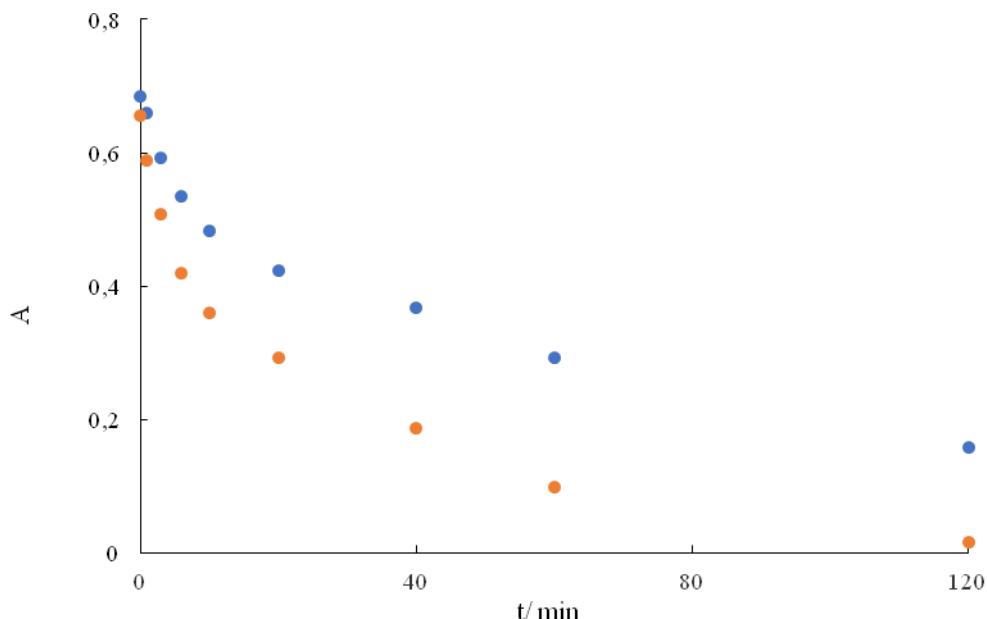
Slika 42. Heterogena fotokatalitička razgradnja NFT-a bez (●) te s metanolom (●)

Kako bi se olakšalo određivanje mehanizma razgradnje, također je određena koncentracija nastalih nitrita i nitrata u prisutnosti metanola. Na slici 43. iz dijagrama ovisnosti koncentracije nitrita i vremena osvjetljavanja može se uočiti da uz dodatak metanola ne dolazi do nastanka nitrita, koncentracija je gotovo jednaka nuli. Usporedno s tim, bez prisutnosti „hvatača“ hidroksil radikala, koncentracija nitrita raste do 40 minuta da bi se nakon toga počela smanjivati. Rezultati su pokazali da tijekom fotokatalitičke razgradnje u prisutnosti metanola ne dolazi ni do nastajanja nitrata, budući da je izmjerena koncentracija tog iona jednaka nuli. Vjerojatno, $\text{OH}^\bullet$ radikal napada furanski prsten, tj. nitro grupu molekule nitrofurantoina te nastaje nitrit, a u prisutnosti metanola to nije moguće. Kada metanol nije prisutan dolazi do supstitucije nitro i hidroksil grupe na furanskom prstenu i nastanka nitrita. Ako je u otopini prisutan metanol koji „hvata“ $\text{OH}^\bullet$, nitrit ne nastaje.



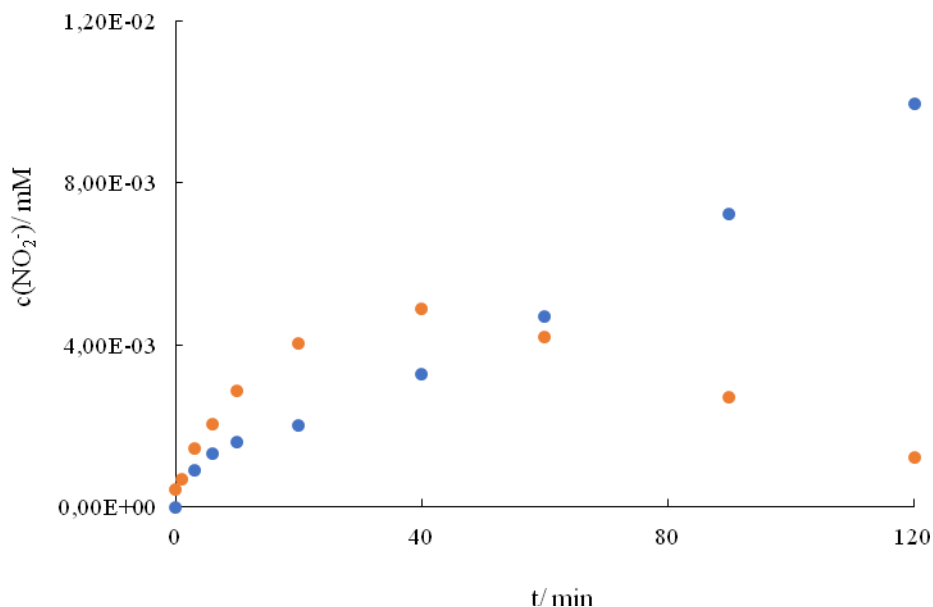
Slika 43. Promjena koncentracije nitrita bez (●) te sa metanolom (●)

U prisutnosti „hvatača“ superoksid radikala, benzokinona, rezultati razgradnje nitrofurantoina su različiti. Superoksid radikal ($O_2^{\bullet -}$) nastaje jednoelektronskom redukcijom molekula kisika ili oksidacijom H_2O_2 na različite načine. Na slici 44. može se vidjeti da je opadanje apsorbancije brže bez prisutnosti benzokinona, što upućuje na činjenicu da njegova prisutnost u reaktoru usporava brzinu razgradnje farmaceutika. Iz ovih rezultata može se zaključiti da superoksid radikal igra važnu ulogu u razgradnji farmaceutika.



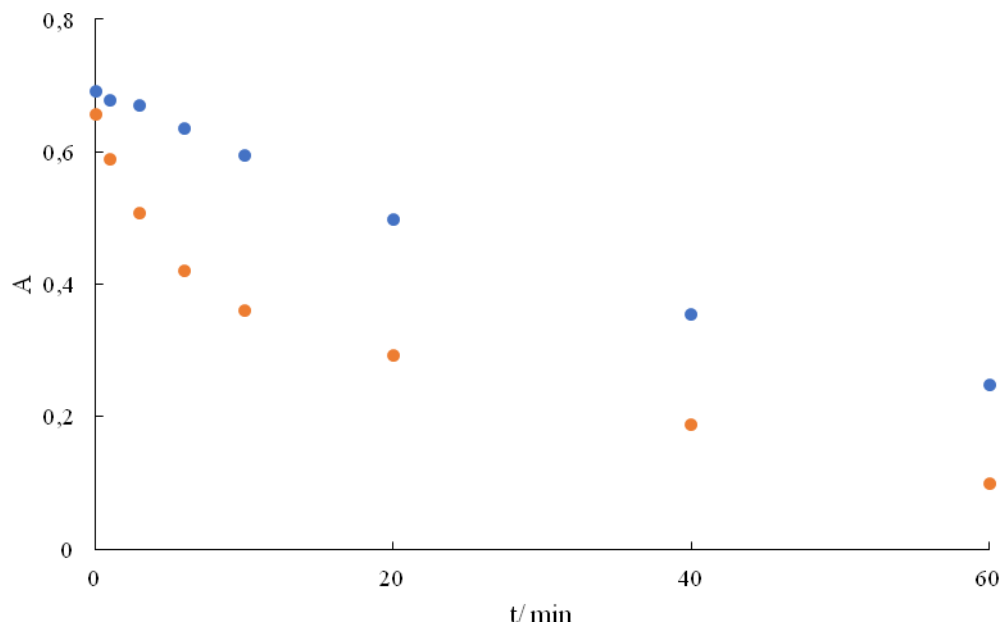
Slika 44. Heterogena fotokatalitička razgradnja NFT-a bez (●) te s benzokinetonom (●)

Na slici 45. prikazan je dijagram utjecaja benzokinetona na nastajanje nitrita. Mjerenjem koncentracije nitrita i nitrata dobiveni su zanimljivi rezultati. Utjecaj dodatka benzokinetona na nastanak nitrita je velik, tijekom cijelog eksperimenta koncentracija nitrita raste. Nakon sat vremena, dok koncentracija nitrita bez prisutnosti „hvatača“ superoksid radikala počinje opadati, uz njegovu prisutnost koncentracija nastaje rasti. Prisutnost nitrata nije detektirana u uzorcima u koje je dodan benzokineton, što upućuje na to da uz njegovu prisutnost ne može doći do oksidacije nitrita u nitrat. Iz toga se može zaključiti da superoksid radikal igra važnu ulogu u oksidaciji nitrita u nitrat.



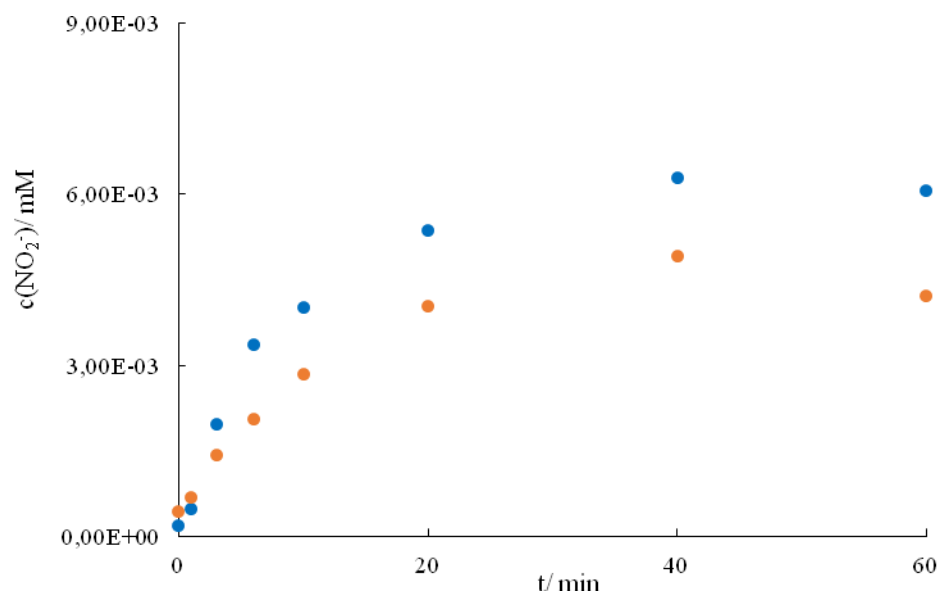
Slika 45. Promjena koncentracije nitrita bez prisutnosti (●) i s benzokinonom (●)

Kao posljednji, natrijev azid korišten je kao „hvatač“ singletnog kisika (¹O₂). Singletni (aktivirani) oblici kisika nastaju u fotokemijskim ili termičkim reakcijama premještanjem jednog nesparenog elektrona iz nevezne π^* orbitale molekula kisika, imaju visok sadržaj energije i veoma lako mogu započeti slobodno radikalske reakcije. Na slici 46. prikazan je dijagram ovisnosti apsorbancije o vremenu osvjetljavanja otopine nitrofurantoina s i bez prisutnosti natrijeva azida. Može se uočiti da njegova prisutnost u otopini djeluje na brzinu razgradnje farmaceutika, usporava ju od samog početka fotokatalitičkog procesa. Smanjenje apsorbancije NFT-a je znatno veće bez prisutnosti „hvatača“ singletnog kisika. Iz ovih rezultata može se zaključiti da singletnog kisika igra važnu ulogu u razgradnji nitrofurantoina.



Slika 46. Heterogena fotokatalitička razgradnja NFT-a bez (●) te s natrijevim azidom (●)

Također, i za ovaj eksperiment određene su koncentracije nitrata i nitrita tijekom razgradnje. S natrijevim azidom nastaje veća koncentracija nitrita nego bez njegovog dodatka što se može vidjeti na slici 47. U ovom slučaju, koncentracija nitrata je vrlo malena, dolazi do lagane oksidacije nitrita u nitrat. Vjerojatno, u ovom slučaju singletni kisik ne napada nitro grupu na furanskom prstenu nego drugu stranu molekule NFT-a, te zbog toga nastaje veća količina nitrita. Singletni kisik ima mogućnost oksidacije nitrita u nitrat, ali u njegovoj odsutnosti (uz dodatak natrij azida) nitrit se ne može oksidirati u nitrat.



Slika 47. Promjena koncentracije nitrita bez (●) te s natrijevim azidom (●)

5. Zaključci

U ovom radu istraživana je fotokemijska razgradnja antibiotika iz skupine nitrofurana, nitrofurantoina primjenom direktne fotolize kao i fotokatalitičke oksidacije s TiO_2 u UV/Vis području. Razgradnja antibiotika praćena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti i spektrofotometrijski. Također je ispitan utjecaj valnih duljina zračenja i prisutnost kisika i argona u slučaju direktne fotolize. S obzirom da je poznato da prisutnost farmaceutika u okolišu može uzrokovati određene posljedice živom svijetu, određena je i toksičnost nitrofurantoina te njegove smjese s razgradnim produktom. Naposljetku, istraživan je utjecaj triju radikala (hidroksil radikala, superoksid radikal i singletnog kisika) na heterogenu fotokatalizu u svrhu određivanja mehanizma razgradnje nitrofurantoina. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- U svim ispitivanim uzorcima uočeno je smanjenje koncentracije nitrofurantoina uslijed izlaganja umjetnom sunčevom zračenju u slučaju direktne fotolize te uz dodatak TiO_2 u slučaju fotokatalize (brže smanjenje).
- U kontrolnim uzorcima nije došlo do smanjenja koncentracije nitrofurantoina što dokazuje da razgradnja nije posljedica hidrolize ili povišene temperature.
- Brzi, prvi stupanj direktne fotolize je fotoizomerizacija oko C-N dvostruke veze nakon kojeg slijedi spori drugi stupanj fotorazgradnje.
- Prisutnost kisika i argona unutar reaktora ne utječe na fotolitičku razgradnju nitrofurantoina što ukazuje na činjenicu da do razgradnje dolazi uglavnom zbog djelovanja UV zračenja.
- Heterogena fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina uočena u UV području apsorpcijskog spektra znatno je brža od fotolitičke razgradnje koju prati značajno smanjenje pH vrijednosti.
- U prisutnosti argona fotokatalitička razgradnja nitrofurantoina s TiO_2 je brža nego u prisutnosti kisika.

- Tijekom razgradnje nitrofurantoina dokazano je nastajanje nitritnog iona koji se potom oksidira u nitratni ion, što je razlog prisutnosti nitro grupe koja je smještena na furanskom prstenu molekule farmaceutika.
- Primjenom spektrometrije masa identificiran je glavni razgradni produkt fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitrofurantoina, a to je njegov metabolit aminohidantoin (m/z 116).
- U svim ispitivanim uzorcima (fotoliza i fotokataliza) identificiran je isti fotorazgradni produkt, ali u različitim koncentracijama.
- U atmosferi argona tijekom fotokatalitičkog procesa nastaje manje fotorazgradnog produkta te je njegova razgradnja sporija nego u atmosferi kisika.
- Toksikološka ispitivanja pokazala su da je nitrofurantoin blago toksičan. Osvjetljavanjem otopine nitrofurantoina umjetnim sunčevim zračenjem u prisutnosti TiO_2 , toksičnost se smanjuje. Iz toga se može zaključiti da njegov fotorazgradni produkt nije toksičan.
- Ispitivanje mehanizma razgradnje farmaceutika nitrofurantoina: za heterogenu fotokatalitičku razgradnju uz dodatak metanola („hvatač“ hidroksil radikala) nema razlike u profilu razgradnje, što upućuje na činjenicu da $\text{OH}^\bullet$ radikal nema značajnu ulogu u razgradnji NFT-a. Benzokinon („hvatač“ superoksid radikala) znatno ubrzava fotokatalitičku razgradnju farmaceutika te igra važnu ulogu u oksidaciji nitrita u nitratni ion. Dodatak natrijeva azida („hvatač“ singletnog kisika) je značajno utjecao na brzinu razgradnje farmaceutika, usporio ju je, pa možemo zaključiti da on igra značajnu ulogu u razgradnji početne molekule.

6. Literatura

- [1] T. Heberer, Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data, *Toxicology Letters*, **131**(2002)5–17.
- [2] C. Nebot, P. Regal, J. M. Miranda, C. Fente, A. Cepeda, Rapid method for quantification of nine sulfonamides in bovine milk using HPLC/MS/MS and without using SPE, *Food Chemistry*, **141**(2013)2294-2299.
- [3] M. Petrović, S. Pérez, D. Barcelo, Analysis, removal, effects and risk of pharmaceuticals in the water cycle, Elsevier, Second edition, 2013.
- [4] B. L. Edhlund, Natural Water Photochemistry: Singlet Oxygen Production and the Degradation of Dissolved Organic Nitrogen and Organic Pollutants, University of Minnesota, 2008.
- [5] K. Kummerer, Pharmaceutical in the Environment, Springer, Germany, 2008.
- [6] http://www.foodsafetynews.com/assets_c/2011/09/GAO%20abx%20illustration-10874.html, srpanj 2015.
- [7] J. Heritage, F. H. M'Zali, D. Gascoyne-Binzi, P. M. Hawkey, Evolution and spread of SHV extended-spectrum betalactamases in gram-negative bacteria, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **44**(1999)309-318.
- [8] K. Thomson, Minimizing quinolone resistance: are the new agents more or less likely to cause resistance, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **45**(2000)719-723.
- [9] www.medicinabih.info/2010/12/08/metabolizam-i-eliminacija-lijekova, srpanj 2015.
- [10] K. Jindal, M. Narayanam, S. Singh, Pollution of aqueous matrices with pharmaceuticals, *Water and Health*, Springer, 2014., str. 355–373.
- [11] M. S. Diaz-Cruz, M. J. Lopez de Alda, D. Barcelo, Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge, *Trends in Analytical Chemistry*, **22**(2003)340-350.

- [12] H. B. Jayasiri, Pharmaceutically Active Compounds (PhACs): A Threat for Aquatic Environment, National Aquatic Resources Research and Development Agency Crow Island, Šri Lanka, 2013.
- [13] W. W. Buchberger, Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment, *Journal of Chromatography*, **1218**(2011)603–618.
- [14] K. Kummerer, Antibiotics in the aquatic environment, Part II, *Chemosphere*, **75**(2009)435–441.
- [15] <http://archive.sciencewatch.com/dr/fbp/2010/10febfbp/10febfbpKass/>, srpanj 2015.
- [16] E. S. Williams, B. W. Brooks, Human pharmaceuticals in the environment, Principles, Approaches and Perspectives, Springer, New York, 2012., str. 167–224.
- [17] S. Webb, T. Ternes, M. Gibert, K. Olejniczak, Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water, *Toxicology Letters*, **142**(2003)157–167.
- [18] D. Brozović, Hrvatska enciklopedija, sv.4, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb, 2002., str. 556.
- [19] D. Ljubas, Tehnološka primjena sunčeva zračenja za razgradnju organskih tvari površinskih voda, magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2000.
- [20] https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_radiation, srpanj 2015.
- [21] <http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=spektar+elektromagnetskog+zra%C4%8Denja>, srpanj 2015.
- [22] https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_radiation#Types_and_sources.2C_classed_by_spectral_band, srpanj 2015.
- [23] https://hr.wikipedia.org/wiki/Sun%C4%8Deva_svjetlost, srpanj 2015.
- [24] https://bs.wikipedia.org/wiki/Sun%C4%8Devo_zra%C4%8Denje, srpanj 2015.
- [25] M. Mitrevski, Utjecaj sastava uzorka vode na fotolitičku razgradnju metabolita sulfonamida, diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2014.
- [26] <http://skola.gfz.hr/d13a.htm>, srpanj 2015.

- [27] <https://en.wikipedia.org/wiki/Photodegradation>, kolovoz 2015.
- [28] M. Oliveira, M. Lanza, A. Tanaka, M. Sotomayor, Flow injection analysis of paracetamol using a biomimetic sensor as a sensitive and selective amperometric detector, *Analytical Methods*, **2**(2010)507.
- [29] A. Ozcan, Y. Sahin, A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode, *Analytica Chimica Acta*, **685**(2011)9.
- [30] R. Sellappan, Mechanisms of Enhanced Activity of Model TiO₂/Carbon and TiO₂/Metal Nanocomposite Photocatalysts, Thesis for the degree of doctor of philosophy, Department of Applied Physics Chalmers, University of Technology Göteborg, Švedska, 2013.
- [31] www.pbf.unizg.hr/.../EProcicivanje+otpadnih+voda+-+danas+i+sutra.pdf, kolovoz 2015.
- [32] Y. Ji, Theoretical Studies on the Molecular Mechanisms of Photo-Catalytic Reactions on TiO₂ Surfaces, Doctoral Thesis in Theoretical Chemistry and Biology, School of Biotechnology, Royal Institute of Technology Stockholm, Švedska, 2014.
- [33] N. J. Turro, Modern Molecular Photochemistry, University Science Books, Mill Valley, 1991.
- [34] A. M. Braun, M. T. Maurette, E. Oliveros, Photochemical technology, John Wiley & Sons, Chichester, 1991.
- [35] T. V. Gerven, G. Mul, J. Moulijn, A. Stankiewicz, A review of intensification of photocatalytic processes, *Chemical Engineering and Processing*, **46**(2007)781-789.
- [36] I. Arslan, I. A. Balcioglu, D. W. Bahnemann, Heterogeneous photocatalytic treatment of simulated dyehouse effluents using novel TiO₂-photocatalysts, *Applied Catalysis B: Environmental*, **26**(2000)193–206.
- [37] A. Adel, B. Ismaila, A. T. Kandielb, W. Detlef, W. Bahnemannb, Novel titania-based photocatalysts: Brookite nanorods and mesoporous structures, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **216**(2010)183–193.
- [38] C. Karunakaran, R. Dhanalakshmi, Photocatalytic performance of particulate semiconductors under natural sunshine, Oxidation of carboxylic acids, Department of Chemistry, Indija, 2007.

- [39] I. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija I.dio*, IX. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1995.
- [40] K. Nakata, A. Fujishima, TiO₂ photocatalysis: Design and applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, **13**(2012)169-189.
- [41] H. Choi, S. R. Al-Abed, D. D. Dionysiou, E. Stathatos, P. Lianos, TiO₂-Based Advanced Oxidation Nanotechnologies for water Purification and Reuse, *Sustainability Science and Engeneering*, **2**(2010)229-254.
- [42] J. M. Herrmann, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water, *Catalysis Today*, **53**(1999)115-129.
- [43] V. Tomašić, F. Jović, Heterogena fotokataliza: osnove i primjena za pročišćavanje zraka, *Chemistry in industry*, **60**(2011)387-403.
- [44] J. Inamdar, S. K. Singh, Photocatalytic Detoxification Method for Zero Effluent Discharge in Dairy Industry, *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, **4**(2008)160-164.
- [45] http://perpetuum-lab.com.hr/wiki/plab_wiki/farmakologi/farmakodinamika-i-farmakoloski-receptori-r271/, kolovoz 2015.
- [46] S. Korunić-Košćina, M. Mioč, V. Bobić, Ekotoksičnost kao biološki pokazatelj onečišćenja rafinerijskih otpadnih voda, *Stručni rad*, str. 153-176.
- [47] V. Arancibia, M. Valderrama, A. Madariaga, M. C. Zúniga, R. Segura, Extraction of nitrofurantoin and its toxic metabolite from urine by supercritical fluids. Quantitation by high performance liquid chromatography with UV detection, *Talanta*, **61**(2003)377-383.
- [48] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nitrofurantoin>, srpanj 2015.
- [49] www.glossary.periodni.com/glosar.php?hr=analiti%C4%8Dka+vaga, srpanj 2015.
- [50] <http://hannainst.com/usa/subcat.cfm?id=040>, kolovoz 2015.
- [51] <https://hr.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometar>, kolovoz 2015.

- [52] T. Bolanča, Š. Ukić, Ionska kromatografija, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.
- [53] I. Ciganek, D. Pleše, Dokazivanje onečišćenja vode pomoću bioluminiscentnih bakterija, Koprivnica, 2014.
- [54] D. Kim, B. Kim, S. W. Hyung, C. H. Lee, J. Kim, An optimized method for the accurate determination of nitrofurans in chicken meat using isotope dilution–liquid chromatography/mass spectrometry, *Journal of Food Composition and Analysis*, **40**(2015)24-31

Životopis

Rođena sam 8. siječnja 1991. godine u Slavonskom Brodu. Osnovnu školu „Dr. Stjepan Ilijašević“ završila sam u Oriovcu 2005. godine te upisala opću gimnaziju „Matija Mesić“ u Slavonskom Brodu koju sam završila 2009. godine. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, studij Primijenjena kemija, upisala sam 2010. godine. Prediplomski studij završila sam 2013. godine obranom završnog rada pod nazivom „*Određivanje kvantnih iskorištenja fotolize farmaceutika u vodenim otopinama*“ uz mentorstvo prof. dr. sc. Sandre Babić.

2014. godine sudjelovala sam na XV. Susretu mladih kemijskih inženjera u Zagrebu s posterom „*Determination of quantum yield for the pharmaceuticals photolysis in aqueous solution*“ te na XV. International Chromatography School. 2015. godine sudjelovala sam na ERASMUS+ studentskoj razmjeni na u okviru koje sam boravila na Zavodu za opću i anorgansku kemiju „University of Pannonia“ Veszprém, Mađarska. Tijekom petomjesečnog boravka radila sam na eksperimentalnom dijelu svog diplomskog rada. U travnju 2015. sudjelovala sam na Chemical Engineering Days 15' u Veszprému s posterom „*Photolytic and photocatalytic degradation of the antibiotic nitrofurantoin*“, a u lipnju 2015. na 16th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry u Balatonalmádi, Mađarska sa istim nazivom postera, ali uz dodatak ispitivanja mehanizma razgradnje.

Stručnu praksu odradila sam u analitičkom laboratoriju u farmaceutskoj tvrtki Teva u Zagrebu, 2012. godine. Aktivno koristim računalne programe Microsoft Word, Excel, PowerPoint, te programske pakete Wolfram Mathematica, Matlab i Scientist. Od stranih jezika, vrlo dobro se koristim engleskim jezikom u govoru i pismu.