

# Fotokatalitička razgradnja albendazola

---

Vrbat, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:149:256871>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-07**



Repository / Repozitorij:

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



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

Katarina Vrbat

**FOTOKATALITIČKA RAZGRADNJA ALBENDAZOLA  
DIPLOMSKI RAD**

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Sandra Babić

dr. sc. Mirta Čizmić

doc. dr. sc. Dragana Vuk

Zagreb, srpanj 2016.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu uz financijsku potporu Hrvatske zaklade za znanost projektom IP-2014-09-2353 „Sudbina farmaceutika u okolišu i tijekom naprednih postupaka obrade vode“



*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Sandri Babić na strpljenju te uloženom vremenu,  
podršci i vodstvu pri izradi ovog rada.*

*Zahvaljujem se asistentici dr. sc. Mirti Čizmić na savjetima, podršci na koju sam uvijek  
mogla računati te vremenu koje je ulagala kako bi me što više naučila.*

*Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za analitičku kemiju, posebno tehničarkama Slavici  
Kos i Tanji Ivančić.*

*Dio eksperimentalnog dijela odrađen je na Zavodu za energetska postrojenja, energetiku i  
ekologiju u Laboratoriju za vodu, gorivo i mazivo na Fakultetu strojarstva i brodogradnje. U  
to ime, zahvaljujem se prof. dr. sc. Davoru Ljubasu, voditelju Katedre za inženjerstvo vode i  
okoliša, na uloženom trudu i vremenu.*

*Zahvaljujem se svojim prijateljima i najveće hvala mojoj obitelji i roditeljima na moralnoj  
podršci, razumijevanju te povjerenju koje su mi ukazali tokom ovog studija, bez čije podrške,  
motivacije i ljubavi sve ovo ne bi bilo ostvareno.*

## Sažetak

U ovom radu ispitana je fotolitička i fotokatalitička razgradnja antihelmintika albendazola. Osim direktne fotolize provedeni su oksidacijski procesi koji su uključivali UV/TiO<sub>2</sub> i UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u kojima je korišteno UV-A i UV-C zračenje. Razgradnja albendazola praćena je tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, a uz mehanizam razgradnje određena je i kinetika reakcije razgradnje.

Tijekom svih ispitivanih procesa uočeno je smanjenje koncentracije albendazola. Dodatak ozona i oksidansa, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ubrzao je fotolitičku i fotokatalitičku razgradnju ispitivanog farmaceutika. Fotokatalizator TiO<sub>2</sub> nanesen u obliku tankog filma ubrzao je razgradnju albendazola. Određena je kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola, koja je složena i može se podijeliti u dva područja te u svakom od njih slijedi kinetiku prvog reda. Razgradnja je u svim slučajevima brža na početku, a sporija u drugom području. Određen je utjecaj slobodnih radikala na mehanizam fotokatalitičke razgradnje te je ustvrđeno da hidroksilni radikal ima značajnu ulogu u fotokatalitičkoj razgradnji albendazola uz UV-A zračenje, a singletni kisik te superoksidni radikal ne utječu na fotokatalitičku razgradnju. Detektirana su dva razgradna produkta koji su identificirani kao albendazol sulfoksid i albendazol sulfon, metaboliti albendazola.

**Ključne riječi:** farmaceutici, albendazol, fotolitička razgradnja, fotokatalitička razgradnja, titan dioksid film, kinetika razgradnje, mehanizam razgradnje

## Abstract

In this work photolytic and photocatalytic degradation of anthelmintic albendazole were investigated. Besides the direct photolysis, oxidation processes including UV/TiO<sub>2</sub> and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> using UV-A and UV-C radiation were investigated. The degradation of albendazole was monitored using high performance liquid chromatography. The mechanism of albendazole degradation and degradation kinetics were determined.

In all investigated processes concentration of albendazole were decreased. The addition of ozone and oxidant, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, accelerated the photolytic and photocatalytic degradation of albendazole. In the photocatalytic degradation, using TiO<sub>2</sub> film as catalyst, faster degradation was observed. The kinetics of photolytic and photocatalytic degradation of albendazole is complex and can be divided in two areas. In both of them degradation rate of albendazole can be described by the first-order kinetics. In all cases degradation was faster at the beginning of degradation process and slower in the second area. The effect of three radicals were investigated and it can be concluded that hydroxyl radical has an important role in photocatalytic degradation with UV-A radiation. The singlet oxygen and super oxide radical has no affect on photocatalytic degradation. Two degradation products were detected and identified based as albendazole sulfoxide i albendazol sulone, metabolites of albendazole.

**Keywords:** pharmaceuticals, albendazole, photolytic degradation, photocatalytic degradation, titanium dioxide film, degradation kinetics, degradation mechanism

## Sadržaj

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD .....                                                                                         | 1  |
| 2. OPĆI DIO .....                                                                                     | 2  |
| 2.1. Farmaceutici .....                                                                               | 2  |
| 2.1.1. Antihelmintici .....                                                                           | 3  |
| 2.1.1.1. Albendazol .....                                                                             | 4  |
| 2.2. Metabolizam farmaceutika .....                                                                   | 4  |
| 2.2.1. Metabolizam albendazola .....                                                                  | 6  |
| 2.3. Farmaceutici u okolišu .....                                                                     | 7  |
| 2.3.1. Sudbina farmaceutika u okolišu .....                                                           | 9  |
| 2.4. Primjena zračenja u razgradnji farmaceutika .....                                                | 10 |
| 2.5. Napredni oksidacijski procesi .....                                                              | 11 |
| 2.6. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika .....                                                    | 12 |
| 2.6.1. Mehanizam i osnove fotokatalitičke reakcije koje se zasnivaju na primjeni $\text{TiO}_2$ ..... | 13 |
| 2.6.2. Vrste fotokatalizatora i njihove karakteristike .....                                          | 15 |
| 2.6.3. Titanijev(IV) oksid .....                                                                      | 16 |
| 2.6.3.1. Čimbenici koji utječu na učinkovitost razgradnje .....                                       | 18 |
| 2.6.4. Izvori zračenja za fotokatalizu .....                                                          | 19 |
| 2.7. Proces koji se zasnivaju na primjeni vodikovog peroksida .....                                   | 20 |
| 2.7.1. UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ postupak .....                                                      | 21 |
| 2.8. Proces koji se zasnivaju na primjeni ozona, $\text{O}_3$ (ozonoliza) .....                       | 22 |
| 2.9. Kromatografija .....                                                                             | 23 |
| 2.9.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti .....                                          | 25 |
| 2.9.1.1. Princip rada tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti .....                           | 25 |
| 2.9.2. Detektori .....                                                                                | 26 |
| 2.10. Spektrometrija masa .....                                                                       | 27 |
| 2.10.1. Ionski izvor .....                                                                            | 27 |
| 2.10.1.1. Ionizacija elektroraspršenjem .....                                                         | 28 |
| 2.10.2. Analizator masa .....                                                                         | 28 |
| 2.10.2.1. Kvadripolni analizator masa .....                                                           | 29 |
| 2.10.3. Spregnuta spektrometrija masa .....                                                           | 30 |
| 2.10.4. Detektor .....                                                                                | 31 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....                                                                          | 32 |
| 3.1. Materijali .....                                                                                 | 32 |
| 3.1.1. Albendazol .....                                                                               | 32 |
| 3.1.2. Kemikalije .....                                                                               | 32 |
| 3.2. Instrumenti .....                                                                                | 33 |
| 3.2.1. Analitička vaga .....                                                                          | 33 |

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.2. Fotokemijski reaktor.....                                                  | 34 |
| 3.2.3. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti .....                         | 36 |
| 3.3. Metoda rada.....                                                             | 37 |
| 3.3.1. Priprema standardnih otopina albendazola.....                              | 37 |
| 3.3.2. Osvjetljavanje otopine albendazola .....                                   | 38 |
| 3.3.3. Određivanje albendazola tekućinskom kromatografijom.....                   | 39 |
| 3.3.4. Određivanje mehanizma fotokatalitičke razgradnje albendazola .....         | 39 |
| 4.REZULTATI I RASPRAVA .....                                                      | 41 |
| 4.1. Fotolitička razgradnja albendazola.....                                      | 41 |
| 4.2. Fotokatalitička razgradnja albendazola .....                                 | 44 |
| 4.3. Kinetika razgradnje albendazola .....                                        | 46 |
| 4.4. Razgradni produkti fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola..... | 48 |
| 4.5. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje albendazola .....                       | 52 |
| 5. ZAKLJUČCI .....                                                                | 57 |
| 6. LITERATURA.....                                                                | 58 |
| Životopis.....                                                                    | 62 |

## 1. UVOD

Farmaceutici i njihovi metaboliti sve se češće detektiraju u okolišu zahvaljujući naglom razvoju naprednih analitičkih metoda koje su omogućile detekciju vrlo niskih koncentracija ovih tvari. Primjena i raznolikost farmaceutika sve više raste i očekuje se daljnji porast. Od svih farmaceutika, 2/3 koristi se u veterinarske svrhe, i to u vidu promotora rasta, antibiotika i antiparazitika [1].

Mnoga istraživanja su pokazala da su najznačajnija mjesta ispuštanja farmaceutika u okoliš postrojenja za obradu otpadnih voda. Također, znatna količina farmaceutika u okolišu potječe od nepravilnog zbrinjavanja neupotrijebljenih lijekova. U najvećoj mjeri farmaceutici, nakon primjene i izlučivanja, kao i neupotrijebljeni lijekovi dopiju u okoliš putem komunalnih otpadnih voda [2].

Kada farmaceutici dođu u okoliš dolazi do njihove razdiobe između različitih dijelova okoliša (voda, tlo, sediment, zrak), gdje se mogu akumulirati i uzrokovati različite posljedice na kopnenim i vodenim organizmima. Razgradnja farmaceutika u okolišu od velikog je značaja s obzirom da nastaju novi spojevi (razgradni produkti) s bitno drugačijim, fizikalnim, kemijskim i toksičnim svojstvima. Moguće je da nastanu spojevi toksičniji od osnovne komponente. Većina postojećih postrojenja za obradu otpadnih voda nije projektirana za uklanjanje takve vrste zagađenja i veliki dio farmaceutika prolazi kroz postrojenja i ispušta se u vode u okolišu. Stoga je potrebno razviti nove, učinkovitije postupke obrade otpadnih voda za uklanjanje farmaceutika [3].

Unatoč činjenici da su tisuće farmaceutika odobrene za primjenu, prisutnost i sudbina u okolišu ispitana je samo za mali dio njih. Stoga postoji potreba za stvaranjem novih znanja i produbljivanje razumijevanja ponašanja i pojave farmaceutika i njihovih razgradnih produkata u okolišu.

Cilj ovog rada je istražiti mogućnost primjene fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola u obradi otpadnih voda.

## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Farmaceutici

Farmaceutici su grupa spojeva različitih fizikalno-kemijskih svojstava. Sastoje se od jedne ili više farmaceutski aktivnih tvari, pomoćnih tvari te aditiva. Koriste se u medicinskoj dijagnostici, liječenju te prevenciji bolesti kod ljudi i životinja [4]. Kompleksna su i raznolika skupina spojeva koja se razlikuje prema molekularnoj masi (200 do 1000 Da), kemijskoj strukturi, funkcionalnim skupinama te djelovanju. Prema svome djelovanju i kemijskoj strukturi, mogu se podijeliti na analgetike i protuupalne lijekove, antihistaminike, diuretike, antidepressive, antibiotike, antiepileptike, regulatore masnoća u krvi, regulatore tlaka, hormone, steroide, antitumorske lijekove te  $\beta$ -blokatore. Veterinarski farmaceutici su visoko aktivne tvari koje se koriste za zaštitu životinja od parazita, sprječavaju bakterijske infekcije te se upotrebljavaju kao promotori rasta.

Farmaceutici su dizajnirani na način da budu biološki aktivni i djeluju u malim koncentracijama te se danas ubrajaju u skupinu „novih zagađivala“. Očekuje se da će njihova primjena kontinuirano rasti uslijed porasta broja stanovništva, potrošnje po stanovniku, širenja tržišta, a kao posljedica tomu i njihova proizvodnja će rasti [5].

Svijest o prisutnosti farmaceutika, a posebice antibiotika u okolišu posljednjih desetljeća izaziva sve veću zabrinutost. Antibiotici su tvari s biološkom aktivnošću protiv živih organizama, tj. to su spojevi s antibakterijskim, antiparazitskim i antifungicidnim djelovanjem [6]. Nalaze svoju primjenu u ljudskoj i veterinarskoj medicini. Koriste se kao sredstvo za liječenje i prevenciju bakterijskih infekcija te kao dodatak hrani za promociju rasta životinja. Antibiotici su sintetske ili polusintetske molekule koje imaju sposobnost zaustaviti rast mikroorganizama ili njihovo repliciranje [7].

Trenutno, dobivaju se kemijskom modifikacijom tvari prirodnog podrijetla. Većina antibiotika su molekule s molekularnom masom do 1000 Da. Mogu se podijeliti obzirom na kemijsku strukturu i mehanizam djelovanja. Razne su grupe iz kojih mogu biti podijeljeni u podgrupe, npr.  $\beta$ -laktami, kinoloni, tetraciklini, makrolidi, sulfonamidi i dr.  $\beta$ -laktami, penicilini i cefalosporini tvore grupu antibiotika koja se najviše koristi u zemljama diljem svijeta. Obuhvaćaju 50-70 % ukupne uporabe antibiotika.

Širok je raspon stupnja metabolizma ovih spojeva, neki farmaceutici metaboliziraju oko 90 %, dok neki tek 10 % ili čak i manje. Čak 70 % konzumiranih antibiotika izlučuje se

nepromijenjeno. Dosadašnja istraživanja pokazala su da se farmaceutici samo djelomično uklanjaju tijekom procesa pročišćavanja otpadnih voda i stoga mogu završiti u okolišu, uglavnom vodi (površinskoj vodi, podzemnom vodi) ili sedimentu [6]. Antibiotici izazivaju najveću zabrinutost, ne samo zbog toga što se koriste u velikim količinama nego iz razloga razvoja rezistentnih mikroorganizama uslijed stalne emisije određene količine takvih molekula u okoliš. Posljedica uporabe antibiotika je brži ili sporiji razvoj rezistencija bakterija na njih. Budući da prilikom infekcija antibiotici ne razlikuju patogene bakterije koje su uzrokovale infekciju od nepatogenih bakterija normalne flore, razvija se otpornost i kod bakterija te vrste [7].

### **2.1.1. Antihelmintici**

Paraziti i parazitske bolesti su široko rasprostranjeni u svijetu. Parazitske infekcije na različite načine (kroz vodu, tlo i hranu) mogu utjecati na ljude i potaknuti različite komplikacije kao što su gastrointestinalni poremećaj, pothranjenost, anemija, alergije, itd [8].

Antihelmintici su lijekovi koji se koriste za uklanjanje parazita isključivo iz probavnog trakta. Nalaze veliku primjenu u humanoj i veterinarskoj medicini. Mogu se podijeliti u dvije grupe: vermiciidi - lijekovi koji isključivo ubijaju crve i vermifugidi - lijekovi koji izbacuju crve iz probavnog trakta [9].

Najčešća podjela antihelmintika je prema kemijskoj strukturi [10]:

- derivati kinolina (prazikvantel),
- organofosforni spojevi (diklorvos, triklorfon),
- derivati benzimidazola (mebendazol, albendazol, flubendazol, febantel),
- derivati imidazotiazola (levamisol),
- tetrahidropirdini (pirantel-pamoat, oksantel-pamoat),
- derivati fenola uključujući salicilamide (niklozamid, klozantel),
- derivati piperazina i
- makrociklični laktoni (ivermektin).

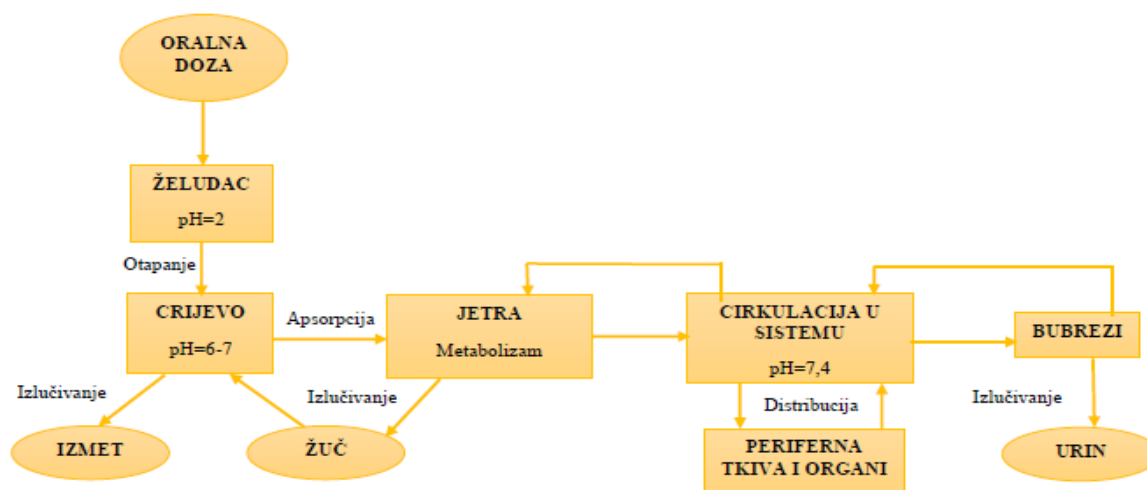
#### **2.1.1.1. Albendazol**

Albendazol, antihelmintik širokog spektra pripada grupi benzimidazola koji su otkriveni 1960. Odobren je za ljudsku uporabu 1982. g. [11]. Netopljiv je u vodi, slabo topljiv u metanolu, kloroformu, etil-acetatu i acetonitrilu, a topljiv u dimetilsulfoksidu, jakim kiselinama i jakim bazama. Albendazol je hidrofoban zbog čega se slabo apsorbira u gastrontestinalnom traktu. Nakon oralne primjene albendazol prolazi brzu oksidaciju u jetri preko mikrosomalnih enzima i nastaje albendazol sulfoksid - glavni farmakološki aktivni metabolit koji je odgovoran za antihelmintsko djelovanje, ali i toksične učinke. Albendazol sulfoksid se može detektirati u urinu, cerebrospinalnoj tekućini, jetri, žuču,.. Sulfoksid se dalje pretvara u sulfon koji ne posjeduje antihelmintsku aktivnost [12].

Albendazol ometa normalni metabolizam parazita te selektivno sprječava ugrađivanje glukoze u sva tri razvojna stupnja. Kao posljedica toga je potrošnja endogenog glikogena u parazitima što dovodi do smanjenog stvaranja adenozin-trifosfata (ATP). Iz probavnog sustava apsorbira se manje od 5 % albendazola. Nakon oksidacije u jetri metabolizira u albendazol-sulfoksid i veže se za serumske bjelancevine. Vrijeme polurazgradnje albendazola u organizmu ( $t_{1/2}$ ) iznosi 8,5 sati [13].

### **2.2. Metabolizam farmaceutika**

Metabolizam farmaceutika je proces poznat pod nazivom biokemijska modifikacija farmaceutika prilikom koje dolazi do promjene u kemijskoj strukturi, od strane živih organizama, najčešće putem određenih enzima. Tijekom tog procesa dolazi do pretvaranja lipofilnih kemijskih spojeva u hidrofilne spojeve koji se lakše izlučuju iz organizma. Stupanj metabolizma određuje trajanje i intenzitet farmakološkog djelovanja nekog lijeka. Trajanje i intenzitet farmakološkog djelovanja lijekova može se odrediti brzinom metaboliziranja koja ovisi o vrsti lijeka, starosti osobe itd. Općenito, sve što povećava brzinu metaboliziranja farmaceutika smanjiti će trajanje i intenzitet djelovanja istog. Na slici 1. prikazana je sudbina farmaceutika nakon oralne primjene.



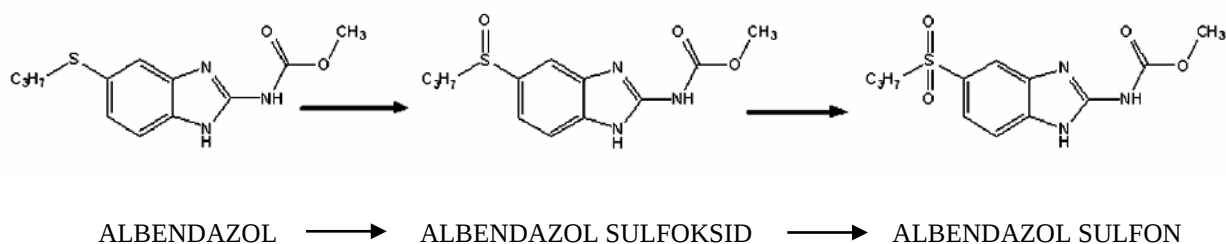
**Slika 1.** Sudbina farmaceutika nakon oralne primjene [5]

Metabolizam lijeka podijeljen je u tri faze. U fazi I enzimi uvode reaktivne ili polarne skupine u farmaceutski aktivnu tvar. Reakcije kojima se to postiže su oksidacija, redukcija, hidroliza, ciklizacija i deciklizacija. Oksidacija uključuje konverziju C-H veze u C-OH i ponekad se farmakološki neaktivan spoj pretvara u farmakološki aktivan ili u spoj toksičniji od početnog farmaceutika. Ovi modificirani spojevi su zatim konjugirani u polarne spojeve u fazi II. Reakcije faze II su anaboličke (sintetičke) reakcije sporije od reakcija u fazi I i uključuju metiliranje, acetiliranje 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. Produkti reakcije konjugacije su veće molekulske mase i imaju tendenciju biti manje aktivni od njihovih početnih molekula. U fazi III konjugirane farmaceutski aktivne tvari se izlučuju iz organizma. Koncentracija tih molekula u okolišu kontinuirano raste. Njihova prisutnost može imati nepovoljan utjecaj na prirodne ekosustave i pogubne utjecaje na žive organizme [14].

### 2.2.1. Metabolizam albendazola

Metaboličkom razgradnjom benzimidazolnih lijekova u organizmu životinja nastaje jedan ili više glavnih metabolita pojedinog farmaceutika. Pronađeni metaboliti ovise o strukturi polazne tvari, tkivu i životinjskoj vrsti.

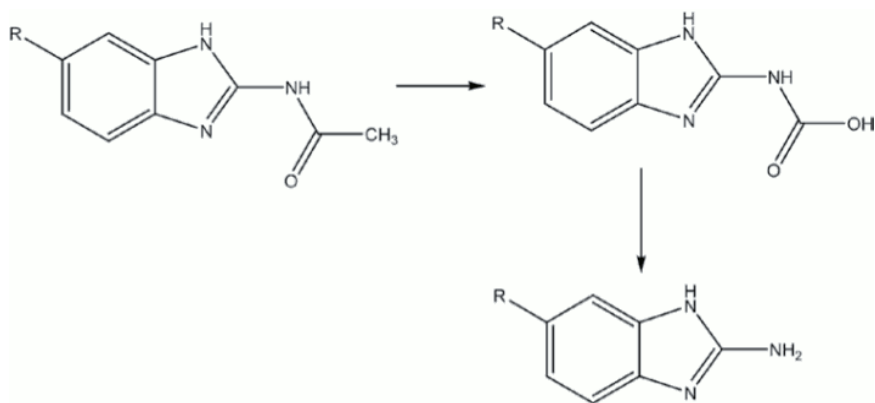
Albendazol posjeduje sulfidnu funkcionalnu grupu koja je podložna oksidaciji, a rezultat toga je oksidacija albendazola u albendazol sulfoksid, glavni aktivni metabolit koji se djelomično oksidira u albendazol sulfon (slika 2.) [15].



**Slika 2.** Glavni metaboliti albendazola [16]

Primarni metabolit, albendazol sulfoksid, posjeduje antihelmintsku aktivnost te je djelotvornost albendazola pripisana upravo tom metabolitu. Albendazol sulfoksid je topljiviji i učinkovitiji u odnosu na albendazol. Navedeni sulfoksid sadrži u svojoj kemijskoj strukturi asimetrični centar zbog kojeg su identificirane dvije enantiomerne forme (R(+)) i S(-)). Kod životinja je nastajanje R(+) albendazol sulfoksida katalizirano mikrosomskom flavin monooksidazom, dok je nastajanje S(-) albendazol sulfoksida katalizirano enzimskim sustavom citokrom P450. Albendazol sulfoksid isto tako djeluje jakim vezanjem na tubulinske stanice. Farmakokinetičke studije pokazale su da se albendazol sporo metabolizira u ostale metabolite hidroksilacijom, oksidacijom u sulfon te deacetilacijom karbamatne grupe u 2-aminosulfon.

Zbog svoje kemijske strukture, svi benzimidazolni lijekovi osjetljivi su na svjetlo. Glavni produkti fotorazgradnje su amini derivati nastali demetilacijom esterske grupe i dekarboksilacijom karbamatne grupe kao što je prikazano na slici 3. [15].



**Slika 3.** Fotorazgradnja benzimidazolnih anthelmintika [15]

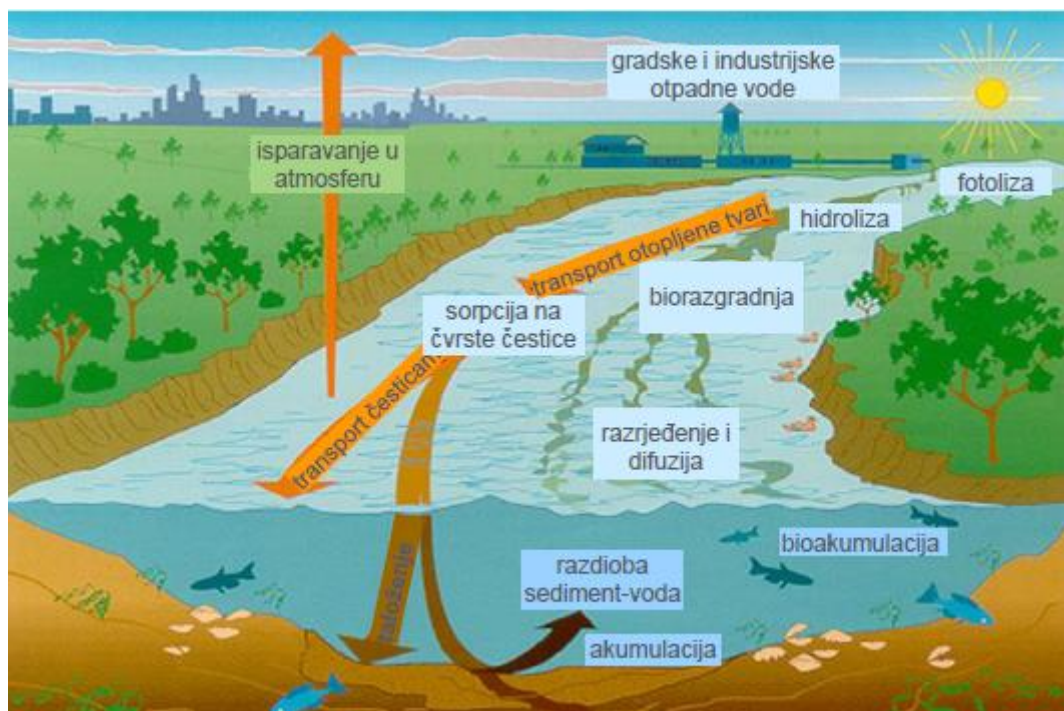
### 2.3. Farmaceutici u okolišu

Danas, sve veća uporaba farmaceutika u humanoj i veterinarskoj medicini predstavlja novi problem za okoliš te njihova prisutnost u okolišu može imati negativne učinke na ljude, životinje i okoliš. Iako se farmaceutici koriste u velikim količinama, do nedavno, smatralo se da nisu štetni i nije im pridodan veliki značaj. U zadnjih desetak godina počela su se provoditi složena ispitivanja vezana uz prisutnost farmaceutski aktivnih tvari u okolišu kako bi se odredio njihov utjecaj i procijenio rizik za okoliš [6].

Godine 1990. utvrđeno je da za sintezu 1 kg farmaceutski aktivne tvari nastane 50 – 100 kg otpada. Ta činjenica povećala je težnju unutar farmaceutskih industrija kako bi se smanjila količina otpada različitim mjerama, poput korištenja drugačijih i primjerenijih otapala i razvoj novih sinteza kako bi se izbjegla velika količina otpada [4].

Istraživanja provedena u razvijenim zemljama kao što su SAD, Kanada, Koreja, Australija i mnoge zemlje u Europi pokazala su prisutnost više od 80 različitih farmaceutskih spojeva u vodenom okolišu. Velike količine u kojima se lijekovi danas upotrebljavaju rezultiraju kontinuiranim otpuštanjem farmaceutika i njihovih metabolita u okoliš. Procijenjena svjetska potrošnja farmaceutika iznosi više od 100 000 t godišnje te konstantno raste. Njihova prisutnost u vodi, čak i u vrlo malim koncentracijama, izazvala je zabrinutost mnogih.

Farmaceutici, kako je prikazano na slici 4., mogu doći u vodeni okoliš na različite načine: izlučivanjem iz ljudskih i životinjskih organizama, ispiranjem odlagališta, nepravilnim zbrinjavanjem, ali najznačajniji način je ispuštanjem otpadnih voda.



**Slika 4.** Izvori zagađivanja okoliša farmaceuticima [17]

Skupine farmaceutika pronađenih u kanalizaciji te površinskim i podzemnim vodama pripadaju antibioticima, protuupalnim lijekovima, regulatorima lipida,  $\beta$ -blokatorima i rendgenskim kontrastnim sredstvima [18].

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 [7].

Važno je napomenuti da se osim lijekova u okolišu nalaze, u velikim količinama, i proizvodi za osobnu njegu. Oni se koriste za poboljšanje kvalitete svakodnevnog života i uključuju proizvode kao što su ruževi, šamponi, boje za kosu, kreme, dezodoransi i paste za zube. Proizvodi za osobnu njegu se uglavnom izlučuju i emitiraju u kanalizacijski sustav nakon uporabe. Spojevi se tada mogu otpustiti u površinske vode ili ući u tlo, na način da se otpadne vode koriste za navodnjavanje ili ako se kanalizacijski mulj primjenjuje kao gnojivo [19].

Zbog biološke aktivnosti farmaceutika, nekih njihovih metabolita i razgradnih produkata postoji znatna zabrinutost koja je vezana za njihovu prisutnosti u vodenom okolišu. Koncentracije farmaceutika u vodenom okolišu kreću se u rasponu od ng/L do nekoliko  $\mu\text{g/L}$ . Zahvaljujući razvoju moderne analitičke instrumentacije moguće je odrediti tako male

koncentracije koje se nalaze u okolišu. Međutim, iako su te koncentracije u okolišu male, ipak postoje određeni rizici za zdravlje i okoliš s obzirom na njihov kontinuirani unos u okoliš te nepostojanje podataka o učincima smjese različitih farmaceutika [4].

Farmaceutici prisutni u okolišu mogu doći u doticaj i negativno utjecati na vodene organizme, a preko vode za piće i na ljude. Neželjene pojave su alergijske reakcije, nefrotoksičnost (uzrokuje gentamicin), dok tetraciklini mogu imati negativan utjecaj na razvitak zubi kod djece. Rezultati toksikoloških testova na prirodnim bakterijskim zajednicama pokazuju da su mogući toksični učinci. Osjetljivost algi prema farmaceuticima varira, ali uglavnom su osjetljive na antibiotike. Kako su alge temelj hranidbenog lanca, čak i najmanje smanjenje populacije algi može utjecati na ravnotežu vodenog ekosustava. Osim na smanjenje populacije mogu utjecati i na ponašanje vodenih organizama [6].

### **2.3.1. Sudbina farmaceutika u okolišu**

Smanjenje koncentracije organskih spojeva u okolišu rezultat je različitih procesa; biotičkih i abiotičkih. Biotički procesi podrazumijevaju biorazgradnju djelovanjem gljivica, bakterija ili algi. Biotička razgradnja je vrlo poželjna 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 farmaceutika dok je većina njih otporna na djelovanje mikroorganizama [18].

Bakterije i gljivice su dvije skupine organizama koje bi najbolje mogle razgraditi organske spojeve. Gljivice su posebno važne u tlu, ali ne igraju značajnu ulogu u vodenom okolišu. Stoga se pretpostavlja da su bakterije odgovorne za većinu procesa biorazgradnje u površinskoj, podzemnoj i morskoj vodi. Brzina i stupanj biorazgradnje farmaceutika u procesu pročišćavanja otpadnih voda i vodenom okolišu ovisi o vrsti i broju mikroorganizama kao i samom farmaceutiku.

Abiotički procesi odnose se na sorpciju, hidrolizu, fotolizu, oksidaciju i redukciju. Rezultat ovih procesa je smanjenje aktivnosti farmaceutika uslijed sorpcije na čestice tla ili sedimenta te razgradnja farmaceutika (hidroliza, fotoliza, oksidacija i redukcija) što vodi smanjenju koncentracije osnovne komponente. Molekule koje nastaju na taj način nazivaju se razgradni produkti i predstavljaju nove kemijske spojeve s novim svojstvima [4].

## 2.4. Primjena zračenja u razgradnji farmaceutika

Brojna istraživanja pokazala su da se farmaceutici ne mogu u potpunosti ukloniti konvencionalnim postupcima obrade otpadnih voda. Stoga je razvoj naprednih postupaka obrade otpadnih voda koje sadrže farmaceutike cilj brojnih istraživanja u zadnjih nekoliko desetljeća. Veliki značaj pridodaje se istraživanjima fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje uz primjenu sunčevog zračenja kao dostupnog i jeftinog izvora zračenja [20].

Čitav spektar sunčevog zračenja koji dopijeva na površinu Zemlje je u intervalu valnih duljina 100 nm do 1 mm. Prema podjeli spektra elektromagnetskog zračenja, Sunce površinu Zemlje ozračuje [21]:

- Ultraljubičastim C zračenjem (UV-C) - 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. UV-C zračenje uništava najveći broj mikroorganizama jer uništava DNA.
- Ultraljubičastim B zračenjem (UV-B) - raspon od 280 do 315 nm. Veći dio tog zračenja upija Zemljina atmosfera i zajedno s UV-C zračenjem omogućuje fotokemijsku reakciju, koja stvara ozonski omotač.
- Ultraljubičastim A zračenjem (UV-A) - raspon od 315 do 400 nm. Stvara spontanu i neposrednu pigmentaciju kože povećanom proizvodnjom melanina.
- Vidljivom svjetlosti (VID) - raspon od 400 do 700 nm. Svjetlost vidljiva ljudskom oku, čiji spektar čine ljubičasta, plava, zelena, žuta, narančasta i crvena boja.
- 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.

Ultraljubičasti dio sunčeva zračenja koji dopije na Zemljinu površinu koristi se u raznim procesima razgradnje farmaceutika.

Navedena zračenja upotrebljavaju se za pokretanje procesa oksidacijske razgradnje različitih neželjenih organskih tvari prisutnih u vodi. Ovakvi procesi pronalaze ulogu 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.

## 2.5. Napredni oksidacijski procesi

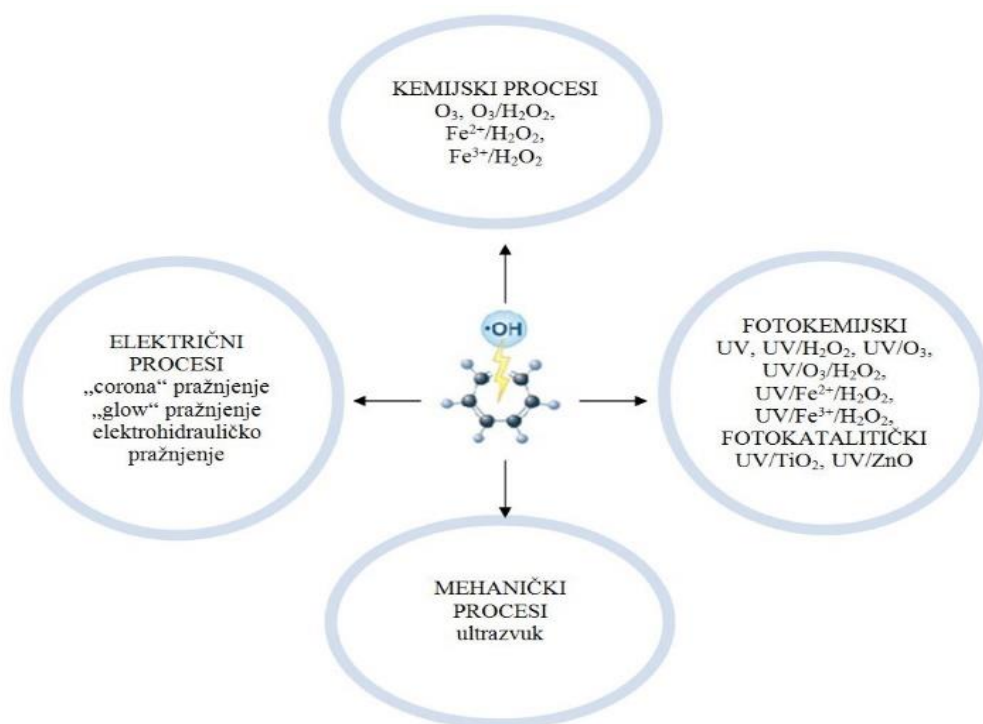
Skupina novorazvijenih metoda za obradu voda naziva „napredni oksidacijski procesi“ (NOP), (engl. *Advanced Oxidation Process* – AOP) koristi visokoenergetske izvore zračenja poput elektronskih snopova, ultraljubičastog (UV) zračenja i ultrazvučnih valova za pokretanje procesa oksidacijske razgradnje različitih farmaceutika sadržanih u vodi [22].

Napredni oksidacijski procesi 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 zagađivala 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 zagađivala. 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  $\text{CO}_2$  i vodu [23].

Napredni oksidacijski procesi koji se najčešće primjenjuju uključuju različite izvedbe procesa s obzirom na način njihovog provođenja [24]:

- a) procese koji se provode u prisutnosti UV zračenja (fotoliza),
- b) fotokatalizu koja se zasniva na primjeni titanovog dioksida ( $\text{UV/TiO}_2$ ),
- c) procese koji se zasnivaju na primjeni ozona,  $\text{O}_3$  (ozonoliza),
- d) procese koji se zasnivaju na kombinaciji fotolize i ozonolize ( $\text{UV/O}_3$ ),
- e) fotokatalizu uz vodikov peroksid ( $\text{UV/H}_2\text{O}_2$ ),
- f) Fentonove procese (oksidacija s vodikovim peroksidom katalizirana željezovim solima,  $\text{Fe(II)/H}_2\text{O}_2$ ),
- g) Fentonu slični procesi ( $\text{Fe(III)/H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe(0)/H}_2\text{O}_2$ ) i dr.

Tipovi naprednih oksidacijskih procesa mogu se podijeliti prema načinu nastajanja hidroksilnih radikala što je prikazano na slici 5. Hidroksilni radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) reaktivne su čestice s vrlo visokim oksidacijskim potencijalom te brzo i neselektivno reagiraju s većinom složenih organskih spojeva koje se nalaze u industrijskim otpadnim vodama [25].



**Slika 5.** Postupci obrade otpadnih voda [25]

## 2.6. Fotokatalitička razgradnja farmaceutika

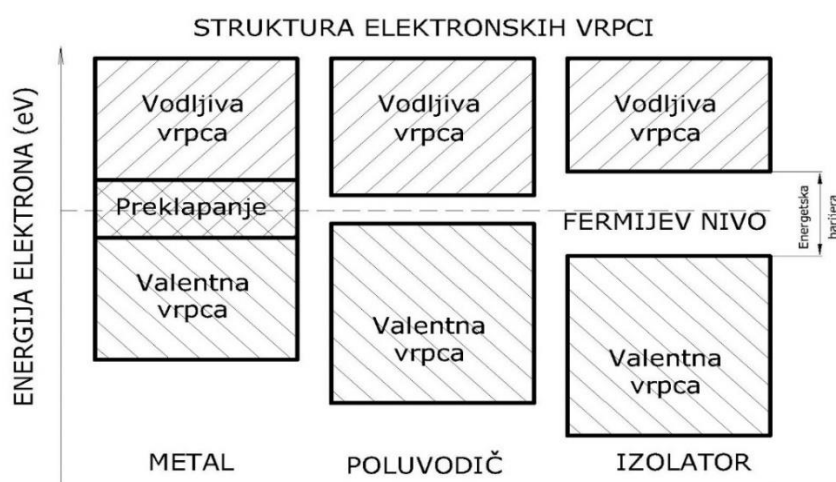
Pojam “fotokataliza” uveden je oko 1930. godine. U početku je ovaj pojam podrazumijevao ukupnost pojava vezanih uz fotokemiju i katalizu, a privlačio je pažnju samo usko specijaliziranih znanstvenika. Međutim, s vremenom je interes za prirodnu fotosintezu i kemijske metode pretvorbe sunčeve energije postajao sve veći, što je olakšalo razumijevanje i razlikovanje pojmova fotokemije i katalize te konačno dovelo do njihova proučavanja u različitim područjima kemije. Danas pojam fotokatalizator označava tvar koja, nakon apsorpcije kvanta svjetlosti, u pobuđenom stanju sudjeluje u kemijskim pretvorbama reaktanata, pri čemu nastaju reakcijski međuprodukti. Prema tome, fotokataliza je promjena u kinetici kemijske reakcije potaknuta djelovanjem svjetla u kontaktu s aktivnim tvarima nazvanim fotokatalizatori [26].

Takve tvari su bez iznimke poluvodiči. Poluvodička heterogena kataliza ima veliki potencijal za tretiranje organskih zagađivala u vodi i zraku. Prikladan je za oksidaciju organskih spojeva širokog raspona. Razvijena 1970., heterogena fotokatalitička oksidacija u zadnja dva desetljeća dobila je značajnu pozornost, a cilj je mineralizirati organski spoj. Reakcija uključuje prisutnost poluvodičkog fotokatalizatora, bilo da je to  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnS}$  itd.

Zbog svoje fotokatalitičke aktivnosti, hidrofilnih svojstava, visoke reaktivnosti, smanjene toksičnosti i niske cijene, čini se da je  $\text{TiO}_2$  veoma blizu „idealnom“ katalizatoru [27].

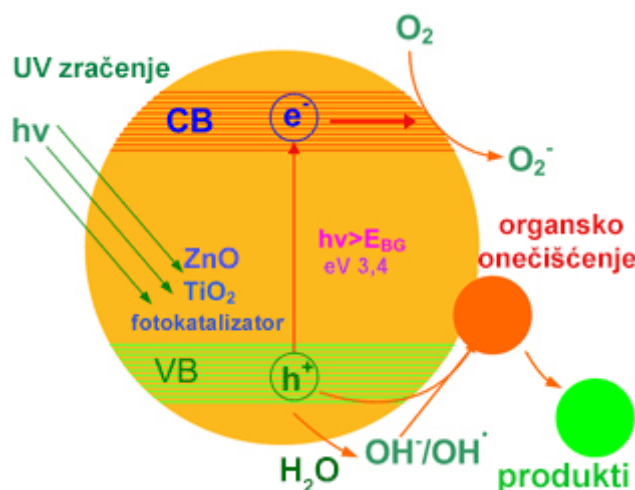
### 2.6.1. Mehanizam i osnove fotokatalitičke reakcije koje se zasnivaju na primjeni $\text{TiO}_2$

Elektronsku strukturu poluvodiča čine popunjena valentna vrpca i prazna vodljiva vrpca. Te su dvije vrpce odijeljene energijskim područjem koje ne sadrži za elektrone dopuštene energijske nivoe, a naziva se zabranjena zona,  $E_g$ . Na slici 6. prikazana je elektronska vrpca poluvodiča te metala i izolatora.



**Slika 6.** Prikaz elektronskih vrpca metala, poluvodiča i izolatora [28]

Pri sobnoj temperaturi malo je elektrona termički pobuđeno za prijelaz iz valentne vrpce u vodljivu vrpcu. Energija potrebna za pobuđivanje elektrona i prijelaz iz valentne u vodljivu vrpcu ovisi o širini zabranjene zone. Određeni poluvodički materijali, npr. poluvodički oksidi i sulfidi prijelaznih metala, imaju sposobnost apsorpcije svjetlosti niže energije, a pripadna je  $E_g$  pri sobnoj temperaturi manja od 4 eV. Kada se poluvodički materijal, npr.  $\text{TiO}_2$ , izloži djelovanju fotona energije  $h\nu$ , koja je jednaka ili veća od energije zabranjene zone poluvodiča (npr. približno 3,2 eV za anatasni oblik  $\text{TiO}_2$ ), elektron  $e_{CB}^-$  se pobuđuje i prelazi iz valentne u vodljivu vrpcu, pri čemu nastaje šupljina,  $h_{VB}^+$ , prikazana na slici 7.



**Slika 7.** Mehanizam fotokatalitičke reakcije [29]

$e_{BC}^-$  i  $h\nu_{VB}^+$  su snažna oksidacijska i redukcijska sredstva.  $h\nu_{VB}^+$  reagira s organskim spojem što dovodi do oksidacije, a kao produkti nastaju  $CO_2$  i  $H_2O$ , također može oksidirati organske spojeve s vodom, tako što nastaje hidroksil radikal ( $\bullet OH$ ) koji je jaki oksidans. Elektroni u vodljivoj vrpce mogu reagirati s  $O_2$  pri čemu nastaje superoksidni anion radikal ( $O_2\bullet^-$ ).

Fotolizom vodikova peroksida mogu nastati dodatni hidroksilni radikali. U razgradnji organskih spojeva hidroksilni je radikal primarni oksidans, a kisik u velikoj koncentraciji može spriječiti rekombinaciju parova elektron – šupljina. Za učinkovito odvijanje fotokatalitičke razgradnje organskih zagađivala potrebna je istovremena oksidacija štetnih tvari i redukcija kisika, kako bi se izbjeglo nakupljanje elektrona u vodljivoj vrpce koji bi mogli smanjiti udio rekombinacije  $e_{BC}^-$  i  $h\nu_{VB}^+$ . Heterogena poluvodička kataliza uglavnom se zasniva na  $TiO_2$ , ali postoje i drugi poluvodički materijali koji se proučavaju kao potencijalni fotokatalizatori. U literaturi se navode dva osnovna mehanizma fotokatalitičkih reakcija. Prema jednom od pretpostavljenih mehanizama, šupljine valentne vrpce poluvodičkog katalizatora izravno reagiraju s organskim spojevima, a prema drugom mehanizmu hlapljive organske spojeve oksidiraju hidroksilni radikali vezani na površini [26, 27].

### 2.6.2. Vrste fotokatalizatora i njihove karakteristike

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. Kao katalizatori u fotokatalitičkom procesu mogu se primijeniti različiti poluvodiči:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CdS}$  itd. Svaki od njih ima karakterističnu vrijednost energijskog procjepa, prikazanih u tablici 1.

**Tablica 1.** Vrijednosti energijskog procjepa i valne duljine za različite poluvodiče [27]

| Poluvodič               | Energijski procjep (eV) | Valna duljina (nm) |
|-------------------------|-------------------------|--------------------|
| $\text{TiO}_2$ (rutil)  | 3.0                     | 413                |
| $\text{TiO}_2$ (anatas) | 3.2                     | 388                |
| $\text{ZnO}$            | 3.2                     | 388                |
| $\text{ZnS}$            | 3.6                     | 335                |
| $\text{CdS}$            | 2.4                     | 516                |
| $\text{Fe}_2\text{O}_3$ | 2.3                     | 539                |

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 i
- mora biti prihvatljiv cijenom.

Broj istraživanja u području fotokatalitičke razgradnje naglo je porastao nakon otkrića svojstava  $\text{TiO}_2$  te nakon utvrđivanja njegove učinkovitosti pri stvaranju hidroksilnih radikala u prisutnosti UV zračenja [30].

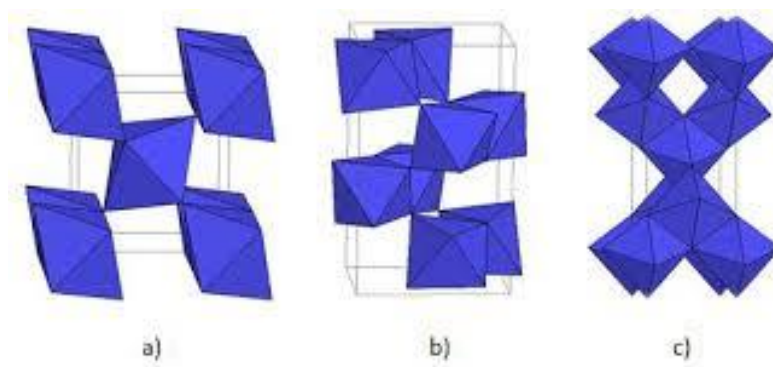
### 2.6.3. Titanijev(IV) oksid

Titanijev(IV) oksid ističe se kao najučinkovitiji fotokatalizator te se koristi za tretiranje otpadne vode.  $\text{TiO}_2$  je toplinski stabilan, netoksičan, kemijski i biološki inertan i promiče oksidaciju organskih spojeva. Lako se proizvodi i koristi, nije opasan po ljude, a svojom cijenom je pristupačan [27].

Primjenjiv je u širokom rasponu koncentracija zagađivala, osigurava potpunu mineralizaciju gotovo svih organskih zagađivala te omogućuje uklanjanje toksičnih spojeva i štetnih metala. Spektralna apsorpcijska karakteristika  $\text{TiO}_2$  omogućuje njegovu aktivaciju u svim UV područjima, od UV-A do UV-C, 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.  $\text{TiO}_2$  je atraktivan poluvodički materijal koji se primjenjuje u raznim područjima.

Valentna vrpca mu je u potpunosti popunjena, a vodljiva vrpca je prazna. Ima veliki energetski procjep, 3,2 eV, koji zahtjeva energiju pobuđivanja valnih duljina kraćih od 400 nm. Elektromagnetsko zračenje valnih duljina ispod 400 nm pri ozračivanju čestice  $\text{TiO}_2$  pokreće prijelaz elektrona iz valentne vrpce u vodljivu.

Elementarni  $\text{TiO}_2$  pojavljuje se u tri kristalna oblika, kao rutil, brukit i anatas, prikazanim na slici 8. U fotokatalitičkim procesima najčešće se primjenjuju anatas i rutil.



**Slika 8.** Prikaz struktura: a) rutila, b) brukita i c) anatas [31]

Većina eksperimenata potvrđuje činjenicu da je kristalni oblik anatas učinkovitiji u razgradnji organskih tvari u vodi. 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 [32].

Ako se  $\text{TiO}_2$  izloži djelovanju fotona energije  $h\nu$ , koja je jednaka ili veća od energije zabranjene zone poluvodiča, elektron ( $e_{\text{BC}}^-$ ) se pobuđuje iz valentne u vodljivu vrpcu, pri čemu nastaje šupljina  $h_{\text{HV}}^+$ :

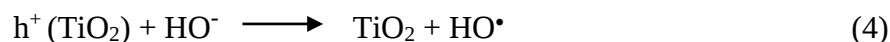


Šupljine putuju u suprotnom pravcu od pravca gibanja elektrona. Pobuđeni elektroni u vodljivoj vrpce i šupljine u valentnoj vrpce mogu reagirati s elektron-donorima i elektron-akceptorima adsorbiranim na površini poluvodiča ili može nastupiti rekombinacija i oslobađanje energije. Kada dođe do pobuđivanja elektrona, nastali par (elektron-šupljina), može sudjelovati u prijenosu naboja na međupovršinu poluvodiča i otopine ili plinovite faze. Ako je poluvodič inertan, a stalan je prijenos naboja na adsorbirane molekule, dolazi do egzotermnog procesa. Takav proces naziva se heterogeni fotokatalitički proces.

Fotoinducirani elektron ili šupljina mogu migrirati na površinu poluvodiča. Ako je na površini prisutan elektron akceptor A u reakciji s fotogeneriranim elektronima vodljive vrpce, nastaje  $A^-$ , a šupljina može primiti elektron od molekule donora D koja se oksidira.

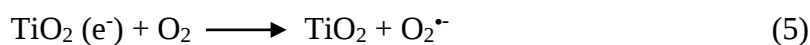


Hidroksilni radikali ( $\cdot\text{OH}$ ) mogu nastati na dva načina: fotogenerirane šupljine difundiraju na površinu fotokatalizatora i reagiraju ili s molekulom adsorbirane vode ili s hidroksidnim ionom na površini  $\text{TiO}_2$ .



Nastali  $\cdot\text{OH}$  radikal je jaki oksidans s oksidacijskim potencijalom 2,80 V (neznatno niži od oksidacijskog potencijala najjačeg oksidansa-fluora) [27].

Na površini fotokatalizatora elektron akceptor  $\text{O}_2$  reagira s elektronima vodljive vrpce pri čemu nastaje superoksid radikal anion odnosno hidroperoksidni radikal ( $\text{HO}_2\cdot$ ):



Razgradnja zagađivala može se odvijati direktnom oksidacijom šupljinama na površini fotokatalizatora ili indirektnom oksidacijom nastalim hidroksilnim radikalima. 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  $\text{TiO}_2$  nije nužan uvjet za odvijanje reakcije, takvi uvjeti povoljno pogoduju povećanju ukupne reaktivnosti [33]. U slučaju potpune fotokatalitičke oksidacije konačni produkti razgradnje organskih spojeva su ugljik dioksid i voda.

Zbog široke zabranjene zone  $\text{TiO}_2$  (anatasni i rutilni oblik) uglavnom apsorbira fotone UV-zračenja. Kako sunčeva svjetlost sadrži samo malu količinu UV zračenja, a i svjetiljke u kućama emitiraju uglavnom svjetlost vidljivog spektra, posljednjih godina se nastoji promijeniti prag apsorpcije  $\text{TiO}_2$  (uglavnom anatasa) iz UV područja prema vidljivom dijelu spektra. Ovi naponi uključuju različite postupke, kao što su: dopiranje  $\text{TiO}_2$  spojevima metala, uparivanje  $\text{TiO}_2$  s bliskim poluvodičima, dopiranje  $\text{TiO}_2$  kationima i anionima i dr. Posljednjih nekoliko godina najviše pozornosti privlači dopiranje nemetalima i pritom je postignut pomak apsorpcije  $\text{TiO}_2$  u vidljivi dio spektra [26].

#### 2.6.3.1. Čimbenici koji utječu na učinkovitost razgradnje [26]

##### ➤ **Koncentracija kisika**

Molekula kisika je jak elektrofil i povećanje koncentracije kisika vjerojatno smanjuje mogućnost nepoželjnih rekombinacija. No, rad pri velikim koncentracijama kisika dovodi do smanjenja ukupne brzine reakcije zbog hidroksiliranja površine  $\text{TiO}_2$ , što inhibira adsorpciju reaktanata na aktivne centre katalizatora. Kako se reakcije fotokatalitičke razgradnje hlapljivih organskih spojeva uobičajeno provode pri standardnim uvjetima, obično je koncentracija kisika stalna.

##### ➤ **Katalizator i način njegove izvedbe**

Brzina fotorazgradnje povećava se primjenom veće količine katalizatora zbog veće aktivne površine koja se može iskoristiti za adsorpciju i fotokatalitičku reakciju. Prilikom rada s većim količinama  $\text{TiO}_2$  može doći do nastajanja manje reaktivnih radikala  $\text{HO}_2^\bullet$  iz znatno reaktivnijih radikala  $\text{HO}^\bullet$  što rezultira smanjenjem brzine fotorazgradnje. Ako je katalizator

nanosen kao imobilizirani sloj na čvrstu podlogu, postoji optimalna debljina tog sloja. Deblji slojevi su pogodniji za oksidaciju, no povećanjem debljine katalitičkog sloja povećava se otpor prijenosu tvari kroz katalizator, što istodobno pogoduje i rekombinaciji.

Najčešće se pripremaju filmovi koji se nanose na odgovarajuće supstrate primjenom prekursora na bazi organotitanata te uporabom sol–gel metode i naknadne toplinske obrade pri povišenim temperaturama.

#### ➤ **Temperatura**

Temperatura nema znatan utjecaj na brzinu fotokatalitičke oksidacije zbog male energije aktivacije (nekoliko kJ/mol) koju imaju takve reakcije u usporedbi s uobičajenim kemijskim reakcijama. Temperatura može utjecati na prijenos elektrona na molekule kisika te na brzine desorpcije međuprodukata i supstrata, koje su manje na nižim temperaturama.

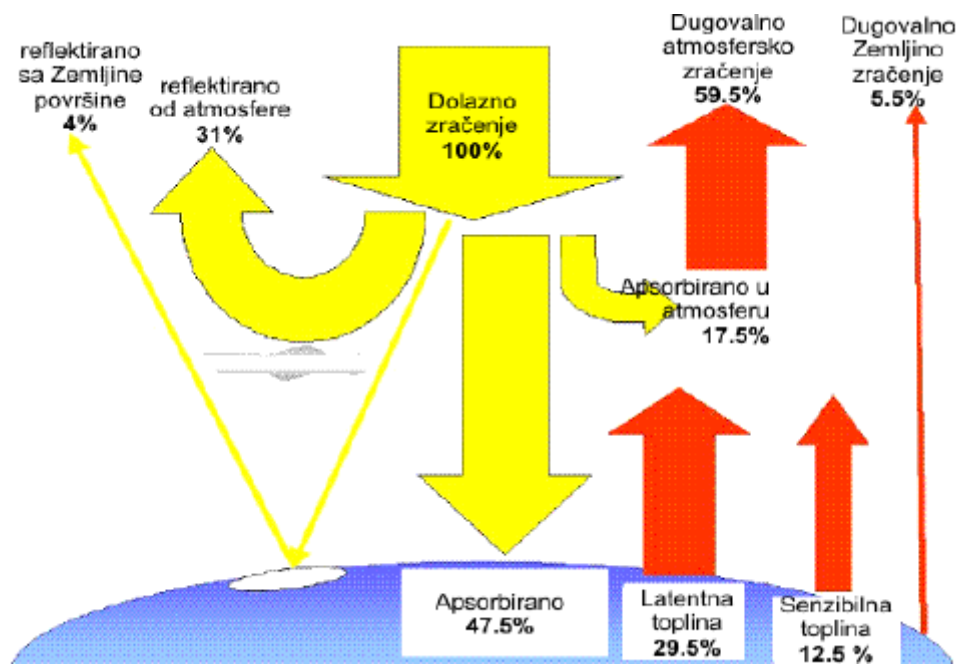
#### ➤ **Intenzitet i vrsta zračenja**

Izvor svjetlosti jedan je od najvažnijih dijelova fotokatalitičkog sustava. Nažalost, vrlo je česta situacija da izvedba pa čak i veličina fotoreaktora koji se rabe pri istraživanjima ovisi o komercijalno dostupnim izvorima zračenja.

#### **2.6.4. Izvori zračenja za fotokatalizu**

Kao izvor zračenja za fotokatalitički postupak mogu se koristiti UV lampe i sunčeva svjetlost. Umjetne UV lampe koje sadrže živu najčešće su korišteni izvor UV zračenja. Živine lampe mogu se podijeliti na četiri osnovne skupine: niskotlačne, srednjetačne, visokotlačne i specijalne izvedbe. Osim živine lampe postoje i druge vrste lampi, kao što su Xe-lučna (300–800 nm), Hg-lučna i Hg–Xe-lampa. Sunčeva svjetlost se također koristi u fotokatalitičkim procesima, približno 4-5 % sunčeve svjetlosti koja dopire do površine Zemlje je u rasponu od 300-400 nm [27].

Fotokatalitička reakcija bitno ovisi o apsorpciji UV zračenja na površini  $\text{TiO}_2$  fotokatalizatora. S porastom intenziteta zračenja raste i brzina razgradnje. Priroda i vrsta zračenja ne utječu na reakcijski mehanizam. Drugim riječima, širina zabranjene vrpce ne utječe na fotokatalitičku razgradnju ako je valna duljina zračenja dovoljna za svjetlosnu pobudu, tj.  $h\nu > E_g$ . Samo 5 % prirodnog sunčevog svjetla ima energiju dovoljnu za uspješnu fotoindukciju. Svjetlosna energija se najčešće gubi refleksijom, transmisijom i pretvorbom u toplinu (slika 9.), a takvi gubici su neizbježni pri fotokatalitičkoj razgradnji.



**Slika 9.** Raspodjela Sunčevog zračenja u atmosferi [34]

S obzirom na tip reaktora upotrebljavaju se i različite lampe, npr. klasične ili cijevne halogene lampe, te lampe kompleksnijih oblika, npr. U-profila.

Osim izvora zračenja bitan je i položaj lampe, posebice s obzirom na smještaj katalizatora u reaktoru, jer je bitno osigurati jednoliku osvijetljenost ukupne površine fotokatalizatora. Kako je širina zabranjene zone poluvodičkih fotokatalizatora od 2,8 do 3,2 eV, najprikladnija valna duljina zračenja nalazi se u UV-području. Uobičajeno se upotrebljavaju UV-lampe kontinuiranog zračenja u dijelu spektra UV-A s maksimumom valne duljine između 300 i 370 nm. Međutim primjenjuju se i živine lampe koje emitiraju uglavnom u području UV-C (200 – 280 nm).

## 2.7. Procesi koji se zasnivaju na primjeni vodikovog peroksida

Vodikov peroksid je jako oksidacijsko sredstvo te se primjenjuje u procesima pretvorbe organskih tvari u  $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$  (mineralizacija). Međutim, vodikov peroksid nije podjednako učinkovit za oksidaciju složenijih spojeva. U kombinaciji s drugim reagensima ( $\text{O}_3$ ) ili izvorom UV zračenja, učinkovitost vodikovog peroksida značajno se povećava.

U novije vrijeme sve se više istražuje i primjenjuje oksidacija vodikovim peroksidom i to samim ili u kombinaciji s drugim reagensima. Prednost mu je povoljna cijena u odnosu na druge oksidanse. Termički je stabilan, njegovim raspadom ne nastaju novi, štetni sporedni produkti, nego samo voda i kisik. Zbog svega toga koristi se u različite svrhe kao što su [24]:

- priprava pitke vode – zajedno s UV zračenjem ili ozonom omogućava uklanjanje organskih nečistoća i neugodnih mirisa,
- kondicioniranje vode u kanalizaciji – koristi se proces kojim se uklanjaju sulfidi do sulfata i sumpora, uz to stvaranjem ozona omogućava se aeracija u slučaju nedostatka kisika,
- obrada industrijskih otpadnih voda – koristi se za uklanjanje sintetskih bojila, cijanidnih i krom(III) iona, klor, nitrita i drugo,
- obrada otpadnih plinova – upotrebljava se za uklanjanje različitih neugodnih mirisa ( $\text{H}_2\text{S}$  i drugih sulfidnih organskih spojeva), uklanjanje  $\text{SO}_2$ , kao i agresivnih organskih spojeva (npr. fenol, formaldehid).

### 2.7.1. UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ postupak

UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  je napredni oksidacijski postupak u kojem se dodaje vodikov peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) u prisutnosti ultraljubičastog svjetla da bi se stvorili hidroksilni radikali. UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  postupak temelji se na dva mehanizma, prvi je apsorpcija energije UV zračenja što dovodi do prelaska molekula prirodne organske tvari iz osnovnog stanja u pobuđeno stanje što rezultira pucanjem veza. Drugi je reakcija prirodne organske tvari s hidroksilnim radikalima koji su nastali fotolitičkim cijepanjem veza vodikovog peroksida [35]. Hidroksilni radikal može najjednostavnije nastati iz vodikovog peroksida direktnim fotokemijskim procesom. Količina energije koja se oslobađa u ovom procesu je vrlo velika. Stehiometrijski nastaju dva hidroksilna radikala po jednom apsorbiranom kvantu energije:



Hidroksilni radikal dobiven na taj način reagira sa supstratom, te nastaje produkt:



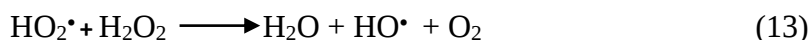
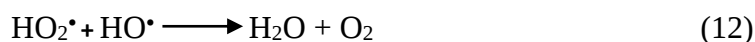
U praksi, najveći doseg kvantnog zračenja pogodan za razvijanje hidroksilnog radikala je 0,5 mol  $\text{H}_2\text{O}_2$ /1 einstein (1 einstein = 1 mol fotona,  $6,022 \times 10^{23}$ ). Ta se vrijednost naziva osnovna energija fotolize vodikovog peroksida. Ako se koristi energija veća od osnovne, dolazi do rekombinacije hidroksilnog radikala i nastajanja vodikovog peroksida prema [24]:



Poznato je da u primjeni UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  postupka postoji optimalna vrijednost koncentracije vodikovog peroksida pri kojoj se postiže maksimalna koncentracija  $\text{HO}^\bullet$  radikala, a time i maksimalna razgradnja prirodnih organskih tvari. Međutim, visoke koncentracije vodikovog

peroksida djeluju nepovoljno na ukupnu učinkovitost UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> postupka jer vodikov peroksid hvata hidroksilne radikale tvoreći hidroperoksilne radikale (HO<sub>2</sub>•) [36].

Ostale značajne reakcije za UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> proces [24]:



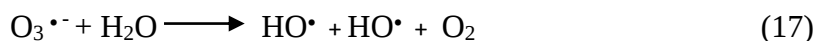
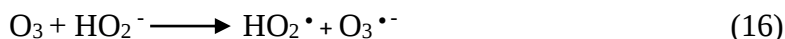
## 2.8. Procesi koji se zasnivaju na primjeni ozona, O<sub>3</sub> (ozonoliza)

Ozon je poslije fluora najjače oksidacijsko sredstvo. To je plin karakteristična mirisa, a u vodi ima topljivost oko 50 puta veću nego kisik. Upotreba ozona zasniva se uglavnom na njegovim oksidacijskim osobinama. Tako se primjenjuje za ubijanje bakterija i izbjeljivanje organske boje [37].

Oksidacija ozonom primjenjuje se već mnogo godina, posebno za dobivanje pitke vode. Međutim, taj proces sam po sebi ne proizvodi dovoljno visoku koncentraciju hidroksilnih radikala. Izravna oksidacija molekularnim ozonom u kiselom mediju relativno je spora u usporedbi s oksidacijom slobodnim radikalima. U neutralnom i lužnatom mediju, ozon je nestabilan i razlaže se nizom lančanih reakcija, pri čemu nastaju hidroksilni radikali (15):



Dodatak vodikovog peroksida ili UV zračenje u značajnijoj mjeri ubrzavaju raspad ozona i povećavaju koncentraciju hidroksilnih radikala (16, 17). Također, prisutnost suspenzije aktivnog ugljena može stimulirati nastajanje HO• radikala iz ozona.



Taj se proces nadalje može poboljšati kombiniranjem s fotokemijskom obradom u O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV procesu.

## 2.9. Kromatografija

Da bi se odredila prisutnost farmaceutika u okolišu, kao i da bi se pratila razgradnja farmaceutika tijekom naprednih oksidacijskih procesa, potrebne su točne i osjetljive analitičke metode. Sve manje koncentracije analita koje je moguće pouzdano odrediti u velikoj mjeri možemo pripisati napretku analitičkih tehnika i instrumenata. Za određivanje farmaceutika, danas se uglavnom koriste tekućinska i plinska kromatografija vezane sa spektrometrijom masa [19].

Kromatografija je fizikalno-kemijska metoda separacije u kojoj se sastojci ispitivane tvari razdjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna, dok se druga kreće u određenom smjeru (pokretna faza). Ispitivana tvar nalazi se u dinamičkoj ravnoteži između tih dviju faza tijekom kromatografskog procesa. Zbog narušavanja ravnotežnog stanja ispitivana tvar putuje s pokretnom fazom, zadržavajući se s vremena na vrijeme u nepokretnoj fazi. Nepokretna faza mora se odabrati tako da zadržavanje molekula u njoj bude selektivno, tj. da različiti sastojci smjese budu uz nju različito dugo vezani, što uzrokuje razdvajanje smjese.

Informacija o uspješnosti separacije sadržana je u kromatogramu, tj. u zapisku koncentracijskog ili masenog profila sastojaka uzorka nakon završenog procesa razdvajanja. Na temelju broja opaženih koncentracijskih profila može se zaključiti o složenosti ispitivanog uzorka. Položaj kromatografske krivulje na kromatogramu pomaže u dokazivanju kvalitativnog sastava uzorka, a na temelju površine kromatografske krivulje, odnosno njezine visine, može se dobiti kvantitativna procjena [38].

Prema obliku kromatografske podloge kromatografija može biti:

- kolonska - nepokretna faza se nalazi unutar cijevi, odnosno kolone, i
- plošna - nepokretna faza je ploha ili se nanosi na plohu.

Prema fizikalnom stanju obiju faza kromatografija se dijeli na plinsko-tekućinsku kromatografiju, plinsko-čvrstu kromatografiju, tekućinsko-tekućinsku kromatografiju, tekućinsko-čvrstu kromatografiju, a prema fizikalnom stanju pokretne faze dijeli se na plinsku, tekućinsku i fluidnu kromatografiju pri superkritičnim uvjetima.

Mehanizmi separacije u kromatografiji mogu biti različiti. Prema prevladavajućem mehanizmu kromatografija se dijeli na [39]:

- adsorpcijsku kromatografiju - razdvajanje je temeljeno na različitim afinitetima sastojaka uzorka prema adsorpciji na površini aktivne čvrste tvari,

- razdjelnu kromatografiju - kod plinske kromatografije temelji se na razlici topljivosti sastojaka uzorka u nepokretnoj fazi, a kod tekućinske na razlikama topljivosti u pokretnoj i nepokretnoj fazi,
- ionsku izmjenjivačku kromatografiju - različiti afiniteti sastojaka uzorka prema ionskoj izmjeni,
- kromatografija isključenjem - do razdvajanja dolazi radi isključenja zbog razlika u veličini, obliku ili naboju čestica i
- afinitetnu kromatografiju - na površini čvrste faze nalaze se različite funkcionalne skupine s definiranim prostornim rasporedom, a vezanje nastaje zbog specifičnih interakcija molekula s kemijski vezanim ligandom na površini nepokretne faze.

Prema kromatografskom sustavu pri tekućinskoj je kromatografiji moguća uporaba tzv. normalnih i obratnih faza.

Kromatografija normalnih faza pretpostavlja da je nepokretna faza polarna, a pokretna nopolarna. Odjeljivanje smjese spojeva u tom slučaju ovisi o interakciji polarnog analita s polarnom nepokretnom fazom. Napolarni spojevi, npr. ugljikovodici, bez polarnih funkcionalnih skupina u tom slučaju vrlo slabo reagiraju s nepokretnom fazom. Kao nepokretna faza pri toj se kromatografiji upotrebljava uglavnom silikagel, a katkad i neutralni aluminijev oksid. Kao pokretna faza služi sustav organskih otapala, kojemu se prema potrebi dodaju voda ili elektrolit radi podešavanja polarnosti.

U kromatografiji obratnih faza, pri kojoj je nepokretna faza nopolarna, a pokretna polarna, mehanizam razdvajanja temelji se na hidrofobnosti analita. I ovdje je silikagel temeljna nepokretna faza, ali ga zbog smanjivanja njegove polarne moći treba modificirati. Stoga se na površinu silikagela vežu alkilne i arilne skupine, amino, cijano, nitro ili diolne skupine te kiralni dodaci. Pokretna faza pri kromatografiji obratnih faza jest smjesa vode i polarnog organskog otapala (metanola, acetonitrila, tetrahidrofurana). Izbor otapala ovisi o njegovoj moći eluiranja analita, što je povezano s viskoznošću, dielektričnom konstantom te proton-akceptorskim, odnosno proton-donorskim svojstvima [38].

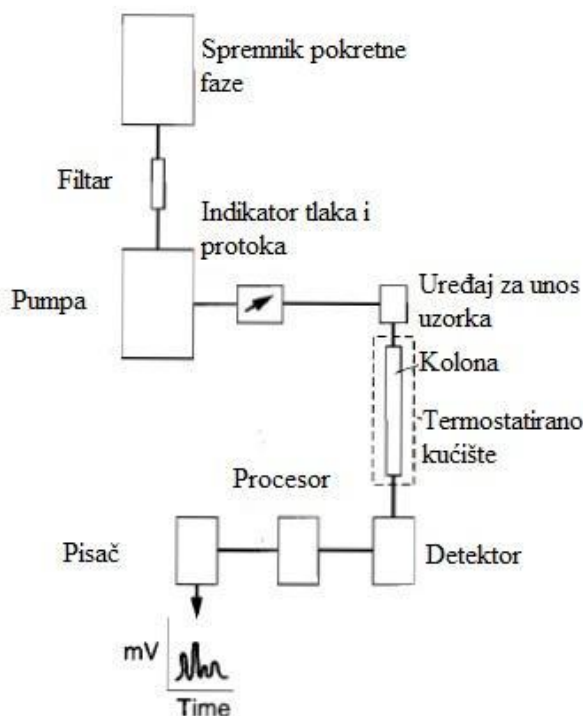
### **2.9.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti**

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high performance liquid chromatography*, HPLC) jedna je od najviše primjenjivanih i najučinkovitijih metoda kojom se može odijeliti veliki broj farmaceutika. Uglavnom se koristi za neionske i teško hlapljive spojeve, kao što su veterinarski farmaceutici. Uzorci moraju biti u tekućem stanju. Najčešće se injektira volumen od 5 do 10  $\mu\text{L}$  uzorka. Trajanje analize ovisi o složenosti uzorka.

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti kombinirana s UV detektorom ili s detektorom s nizom dioda pokazala se kao važna analitička metoda u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi. Prednosti HPLC metode su višekratna upotreba kolona, automatsko unošenje uzorka i skraćeno trajanje analize. Zbog primjene visoko osjetljivih detektora dovoljne su nanogramske količine uzorka, a omogućeno je visoko razlučivanje sastojaka smjese. Ove prednosti omogućuju točnost i preciznost rezultata analize. Ograničenja HPLC metode su: identifikacija spoja može biti otežana ako HPLC nije povezan sa spektrometrijom masa, razlučivost je teško postići s kompleksnim uzorcima, ne može se analizirati više uzoraka istovremeno te je za optimizaciju separacije potrebno znanje i iskustvo rada na instrumentu i, kada se analiziraju uzorci iz okoliša, neophodna je priprema uzorka [40, 41].

#### **2.9.1.1. Princip rada tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti**

Uspješna primjena tekućinske kromatografije zahtijeva optimalnu kombinaciju različitih radnih uvjeta kao što su vrsta punjenja kolone, duljina i promjer kromatografske kolone, sastav pokretne faze, protok pokretne faze, temperatura kolone i volumen uzorka. Kako bi odabrali optimalne kromatografske uvjete potrebno je razumjeti razne faktore koji mogu utjecati na separaciju. HPLC se sastoji od osam osnovnih komponenata: spremnik pokretne faze, pumpe, uređaja za unošenje uzorka, kolona, detektor, posude za otpad, računalo i pisac. Na slici 10. dan je shematski prikaz osnovnog uređaja za tekućinsku kromatografiju.

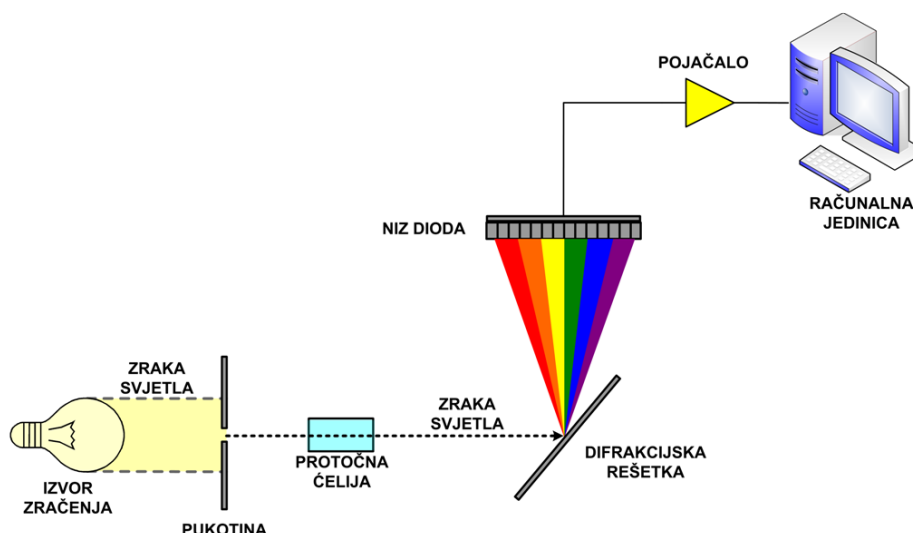


**Slika 10.** Shematski prikaz HPLC-a [41]

## 2.9.2. Detektori

Postoje razne vrste detektora koji se koriste u tekućinskoj kromatografiji, kao što su refrakcijski detektori, UV/Vis detektori, fluorescencijski detektori, konduktometrijski detektori i spektrometar masa. UV/Vis detektori najviše se koriste, preko 70 %. Postoje tri vrste detektora: s fiksnom valnom duljinom, s promjenjivom valnom duljinom i s nizom dioda [41].

Detektor s nizom dioda (engl. *photo diode array detector*, PDA ili *diode array detector*, DAD) prikazan je na slici 11. Svjetlo iz deuterijeve lampe usmjerava se prozirnom lećom tako da cijeli snop svjetla prolazi kroz detektorsku ćeliju na holografsku rešetku. Na taj način je uzorak izložen svjetlu svih valnih duljina koje dolaze iz lampe. Raspršeno svjetlo od rešetke zatim se fokusira na niz dioda. Niz može sadržavati stotine dioda, čiji odziv se bilježi na računalu. DAD detektori, za razliku od UV/Vis detektora, omogućuju dobivanje spektra ispitivane tvari. Nedostatak ovog tipa detektora je da je njegova rezolucija ograničena brojem dioda koje se nalaze u nizu dioda [39].



Slika 11. Detektor s nizom dioda [39]

## 2.10. Spektrometrija masa

Tijekom posljednjih godina vezanje tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti sa spektrometrijom masa (engl. *mass spectrometry*, MS) postala je pouzdani analitički postupak. Njome je omogućena kvantitativna i kvalitativna analiza malih organskih molekula [42].

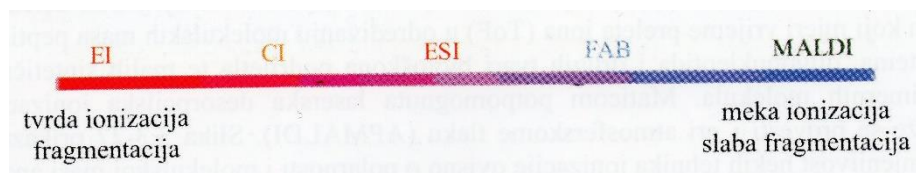
Spektrometrija masa je analitička tehnika u kojoj se molekule ioniziraju, a zatim slijedi razdvajanje te određivanje iona prema njihovoj masi. Osim za kvantitativnu i kvalitativnu analizu, ova tehnika koristi se za određivanje: izotopskog sastava uzorka, strukture molekule promatrajući fragmentaciju molekula, molekulске mase, fizikalnih i kemijskih svojstava tvari te proučavanje ponašanja iona u vakuumu. Prednost ove tehnike detekcije je niska granica dokazivanja ( $10^{-12}$  g) i dobra ponovljivost određivanja.

Spektrometar masa sastoji se od sustava za unošenje uzoraka, ionskog izvora, analizatora masa, detektora te sustava za obradu signala i prikaz rezultata.

### 2.10.1. Ionski izvor

Ionski izvor je dio spektrometra masa u kojem se tvari u parnoj fazi ioniziraju i fragmentiraju. Za hlapljive uzorke najviše se primjenjuju: ionizacija elektronima (eng. *electron ionization*, EI), kemijska ionizacija (eng. *chemical ionization*, CI), ionizacija fotonima (eng. *photoionization*, PhI) i ionizacija u polju (eng. *field ionization*, FI). Za nehlapljive uzorke najčešće se primjenjuju: tehnike ionizacije raspršenjem i desorpcijom s površina: elektroraspršenjem (eng. *electrospray ionization*, ESI), djelovanjem čestica visoke energije

(eng. *fast atom bombardment*, FAB; eng. *secondary ion mass spectrometry*, SIMS), toplinskim raspršenjem (eng. *thermospray ionization*, TSP) i laserom (eng. *laser ionization mass spectroscopy*, LIMS; eng. *matrix-assisted laser desorption ionization*, MALDI). Postoje dva oblika ionizacije; meka i tvrda. Pri mekoj ionizaciji molekula je manja ili je nema, a u tvrdoj dolazi do pucanja kovalentnih veza u molekuli i do stvaranja većeg broja fragmentiranih iona [43]. Na slici 12. prikazana je usporedba tehnika ionizacije analita u spektrometriji masa.



**Slika 12.** Usporedba tehnika ionizacije analita u spektrometriji masa [43]

#### 2.10.1.1. Ionizacija elektroraspršenjem

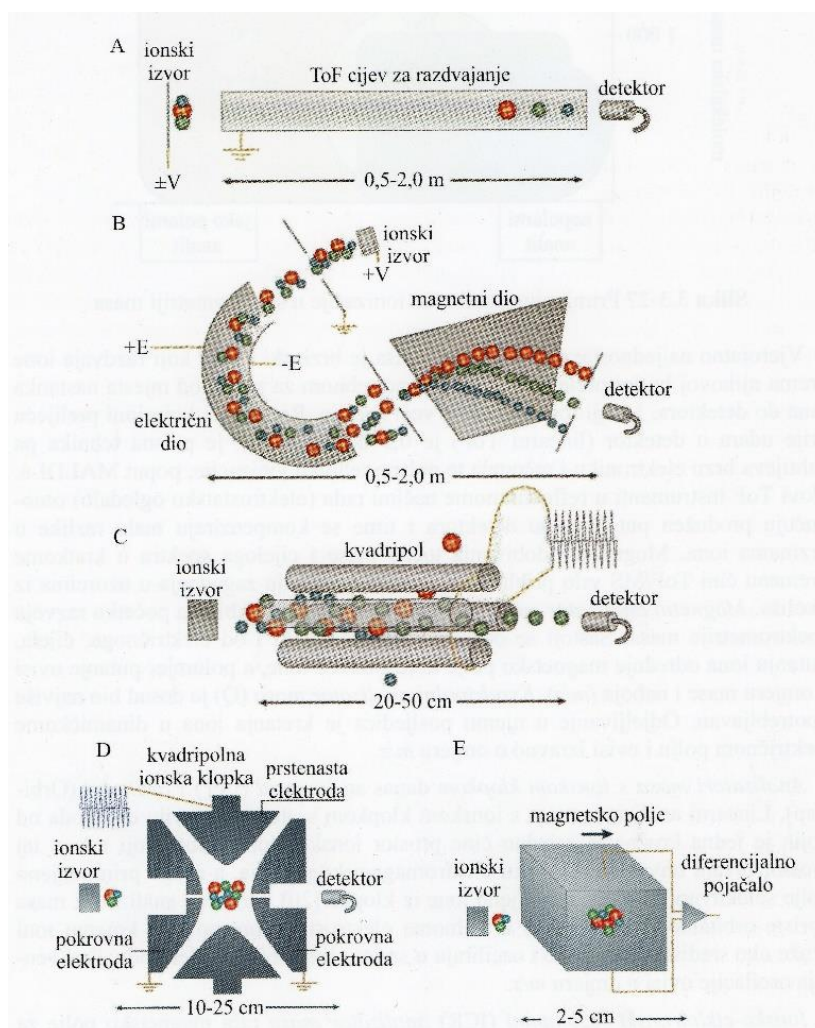
Ionizacijom elektroraspršenjem ioni se stvaraju iz tekućine pri atmosferskom tlaku. Način rada prilično je jednostavan: šuplja igla kroz koju protječe tekućina (obično 1 – 1000  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) je nabijena električnim potencijalom. Visoko polje na vrhu igle uzrokuje nastajanje raspršenih, visoko nabijenih kapljica, čije daljnje isparavanje rezultira stvaranjem iona [42].

Prednosti ionizacije elektroraspršenjem su stvaranje višestruko nabijenih čestica koje omogućuje analizu makromolekula. Kako je to blaga tehnika ionizacije, ne dolazi do razaranja čak ni nekovalentno vezanih biomolekularnih kompleksa kao što su proteini pa čak ni virusa. Nedostatak ove tehnike je njena osjetljivost na smanjenje ili povećanje signala zbog djelovanja matice uzorka.

Ovaj oblik ionizacijskog izvora je najvjerojatnije najkorišteniji ionizacijski izvor koji se kombinira s različitim sustavima analizatora npr. HPLC-MS [42].

#### 2.10.2. Analizator masa

Ionizirane čestice ulaze u analizator masa gdje se ioni razdvajaju. Vrste analizatora masa su analizator s mjerenjem vremena preleta (eng. *time of flight*, ToF), magnetni (sektorski), kvadripolni filtar masa (eng. *quadrupole*, Q), ionska klopka (eng. *ion trap*, IT) i ionsko-ciklotronski rezonantni (ICR) analizator [43]. Sheme navedenih analizatora masa prikazane su na slici 13.



**Slika 13.** Sheme analizatora masa, A) ToF, B) magnetni, C) kvadripolni, D) kvadripolna ionska klopka, E) FT-ICR [43]

#### 2.10.2.1. Kvadripolni analizator masa

Noviji i jednostavniji instrumenti za razdvajanje iona koriste se kvadripolnim analizatorom masa. Dio u kojem se razdvajaju ioni sastoji se od četiri štapića koji stvaraju oscilirajuće električno polje. Ioni nastali u ionizacijskoj komori dovode se u vakumirani prostor između štapića. Samo ioni s određenim vrijednostima omjera  $m/z$  tijekom prolaska kroz električno polje rezoniraju s kvadripolnom frekvencijom. Ostali ioni su "izvan rezonancije" i nemaju stabilnu putanju, tj. ne usmjeravaju se prema detektoru. Osim što je jeftiniji, za kvadripolni analizator masa nije potreban vrlo nizak tlak koji je preduvjet za analizator s magnetskim sektorom. Razdvajanje na takvom instrumentu je mnogo brže. Glavno ograničenje kvadripolnih analizatora jest u tome što moć razdvajanja iona znatno opada kod uzoraka s relativnom molekulskom masom većom od 1000 Da.

### 2.10.3. Spregnuta spektrometrija masa

Tijekom posljednjih nekoliko godina vezani spektrometri masa (eng. *tandem mass spectrometers*, MS<sup>n</sup>) postali su značajni i pouzdani analitički uređaji. Ti su analizatori, osobito ako su povezani tehnikama razdvajanja temeljenim na tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti, omogućili provedbu kvantitativne i kvalitativne analize malih organskih molekula. Zbog toga se njihova uporaba proširila u farmaceutskoj industriji, istraživačkim ustanovama, a tijekom posljednjeg desetljeća i u kliničkim laboratorijima. Tijekom posljednjih desetljeća razvijene su raznolike strategije za kombiniranje kromatografskih tehnika razdvajanja analita sa spektrometrijom masa.

Vezani spektrometar masa također poznat kao trostruki kvadripolni (QqQ) spektrometar masa sastoji se od tri kvadripola poredana tako da je središnji kvadripol omeđen dvama prijenosnim kvadripolima. Takav razmještaj omogućuje kontroliranu fragmentaciju iona u drugom kvadripolu koji se koristi kao ćelija sraza. Dobivena sekundarna raspodjela iona može poslužiti kao skup strukturnih parametara u identifikaciji analita.

Izlaz iz HPLC koji se sastoji od analita, sastojaka matice i pokretne faze dovodi se do izvora iona kroz čeličnu kapilaru koja služi kao elektroda. Tu analiti i sastojci matice koje je moguće ionizirati dobivaju naboj, dok veći dio otapala ostaje bez naboja. Dodaci pokretnoj fazi, kao što su hlapljive organske kiseline i soli (npr. trikloroctena kiselina, mravlja kiselina, octena kiselina i njihove amonijeve soli) olakšavaju proces ionizacije prijenosom iona. Odabir analita započinje već u ionskom izvoru jer su parametri (tj. temperatura izvora, potencijal za razdvajanje) usklađeni tako da je maksimalno povećana relativna količina iona željenog analita. Nadalje, taj primarni ion odabire se unutar prvog kvadripola. Zbog prirode tog procesa svi ionizirani sastojci uzorka pod istim tlakom s omjerom mase i naboja ( $m/z$ ) koji je istovjetan analitu također se odabiru, dok su ioni s različitim vrijednostima  $m/z$  izbačeni iz ionske putanje. Reakcijom plinske faze u ćeliji sraza, primarni ion analita se fragmentira u postupni niz fragmenata. Nadalje, očitava se omjer  $m/z$  samo sekundarnog iona u trećem kvadripolu te se prenosi na ploču detektora. Takva kombinacija tvorbe primarnog iona (izvora), odabranog iona (kvadripol 1), fragmenata (ćelija sraza) i odabranog fragmenta (kvadripol 2) čini osnovu visoke selektivnosti vezane spektrometrije masa. Tradicionalno se za analit prate odabrane reakcije (eng. *selected reaction monitoring*, SRM); jedan fragment koristi se za kvantifikaciju, a drugi (obično manjeg intenziteta) kao dodatna potvrda identiteta analita.

Povezivanje HPLC i MS omogućuje analizu različitih spojeva, uključujući termički nestojane analite i analite s visokom molekularnom masom za koje je analiza plinskom kromatografijom nemoguća. Spajanje tekućinske kromatografije i spektrometrije masa ograničava izbor otapala u HPLC-u na hlapljive puferne i organske aditive radi izbjegavanja taloženja soli u spektrometru masa. Zbog toga su natrijevi ili kalijeve fosfatni puferi, koji su često korišteni kao otapala u HPLC-u, zamijenjeni amonijskim formijatom ili acetatima.

Optimizaciju HPLC-MS metode moguće je provesti mijenjanjem ključnih parametara kromatografskog razlučivanja kao što su svojstva pokretne faze (vrste otapala, aditivi za otapala, koncentracije pufera, pH...) i nepokretne faze te spektrometra masa poput postavki ionskog izvora kojima se određuje koji će se ion i fragmenti pratiti [42].

#### **2.10.4. Detektor**

Ioni prolaze kroz analizator masa, a zatim se detektiraju i pretvaraju u signal u detektoru. Danas postoji nekoliko tipova detektora. Sam izbor detektora ovisi o dizajnu instrumenta i analitičkoj metodi koja će se koristiti. Detekcija iona uvijek se temelji na naboju, masama ili brzini iona. U modernim se MS instrumentima kao detektori najčešće upotrebljavaju Faradayev kolektor, multiplikator elektrona, fotomultiplikator ili scintilacijski detektor [43].

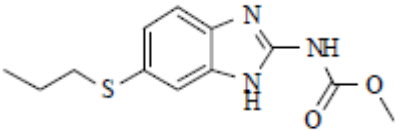
### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali

##### 3.1.1. Albendazol

Fizikalno-kemijska svojstva ispitivanog farmaceutika albendazola prikazana su u tablici 2.

**Tablica 2.** Fizikalno-kemijska svojstva albendazola

|                            |                                                                                                                           |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Generičko ime</b>       | Albendazol (ALBE)                                                                                                         |
| <b>CAS broj</b>            | 54965-21-8                                                                                                                |
| <b>Naziv po IUPAC-u</b>    | metil N-[6-(propilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-2-il] karbamat                                                             |
| <b>Molekulska formula</b>  | $C_{12}H_{15}N_3O_2S$                                                                                                     |
| <b>Strukturna formula</b>  |                                        |
| <b>Molarna masa, g/mol</b> | 265,33                                                                                                                    |
| <b>Konstante</b>           | Log $K_{OV}$ =3,07<br>Log $K_{OC}$ =2,939<br>$K_{OC}$ =869,2 L/kg<br>Točka tališta=209 °C<br>$S(\text{voda})$ =4,402 mg/L |
| <b>Proizvođač</b>          | Veterina (99 %)                                                                                                           |

##### 3.1.2. Kemikalije

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

**Tablica 3.** Popis korištenih kemikalija

| Naziv            | Molekulska formula                           | Čistoća  | Proizvođač                           |
|------------------|----------------------------------------------|----------|--------------------------------------|
| Metanol          | CH <sub>3</sub> OH                           | HPLC     | J. T. Baker, Deventer,<br>Nizozemska |
| Voda             | H <sub>2</sub> O                             | milipore | -                                    |
| Natrijev azid    | NaN <sub>3</sub>                             | p.a.     | Kemika, Zageb, Hrvatska              |
| Benzokinon       | C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> | p.a.     | Sigma-Aldrich, München,<br>Njemačka  |
| Acetonitril      | CH <sub>3</sub> CN                           | HPLC     | J. T. Baker, Deventer,<br>Nizozemska |
| Mravlja kiselina | HCOOH                                        | p.a.     | OrkaLab, Zagreb, Hrvatska            |

## 3.2. Instrumenti

### 3.2.1. Analitička vaga

Analitička vaga je uređaj koji se koristi za precizno određivanje mase tvari. Nije moguće napraviti nijednu kvantitativnu kemijsku analizu bez njezine upotrebe jer je uvijek potrebno odvagati uzorak za analizu i odgovarajuću količinu reagensa za pripremu otopina. Analitičke vage smještaju se u staklene ormariće koji ih štite od prašine i zračnih struja koje bi mogle poremetiti položaj ravnoteže.

Tijekom eksperimenta korištena je analitička vaga XS204 DeltaRange proizvođača Mettler Toledo (Greifensee, Švicarska) prikazana na slici 14.



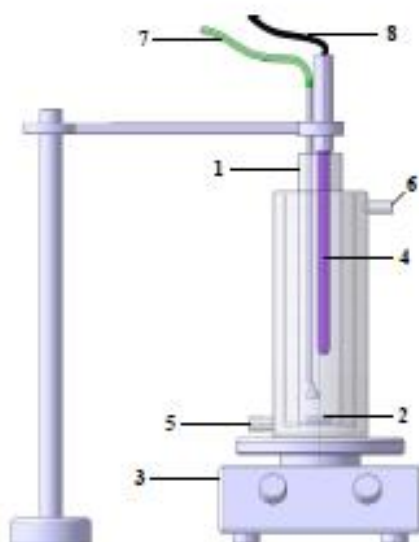
**Slika 14.** Analitička vaga XS204 DeltaRange, Mettler Toledo

Specifikacije vage:

- maksimalni kapacitet: 220 g
- očitavanje: 0,1 mg
- minimalna odvaga ( $U=1\%$ ,  $s=2$ ): 8 mg
- područje tare: 0 – 220 g
- linearnost: 0,2 mg
- ponovljivost pri maksimalnom kapacitetu ( $s$ ): 0,1 mg

### 3.2.2. Fotokemijski reaktor

Razgradnja farmaceutika albendazola, u ovom radu, provedena je u reaktoru prikazanom na slici 15.



**Slika 15.** Prikaz aparature za fotolitičku i fotokatalitičku te ozonolitičku razgradnju:

1 – reaktor, 2 – PTFE magnet za miješanje, 3 – magnetska miješalica, 4 – UV lampa, 5 – ulaz vode za hlađenje, 6 – izlaz vode za hlađenje, 7 – uvođenje kisika, 8 – izvor struje

Fotolitička i fotokatalitička razgradnja albendazola te razgradnja istoga uz prisutnost ozona ispitana je u reaktoru volumena 110 mL. Prilikom fotokatalitičke razgradnje korišten je reaktor sa tankim slojem  $\text{TiO}_2$ , koji je nanesen na stijenku sol-gel postupkom. Reaktor se sastoji od cilindričnog staklenog kućišta s priključcima za ulaz i izlaz rashladnog sredstva (voda) koji struji kućištem te epruvete od kvarcnog stakla smještene unutar kućišta. Reaktor je postavljen na magnetsku miješalicu, koja osigurava miješanje radne otopine. U epruveti se nalazi izvor UV zračenja: UV lampa tvrtke UVP, model Pen-Ray 90-0019-04, s  $\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ nm}$

i tokom ulaznog zračenja  $N_p = 4.295 \times 10^{-6}$  einstein  $s^{-1}$  (UV-A lampa) te model Pen-Ray 90-0004-07 s  $\lambda_{\max} = 254/185$  nm (UV-C lampa) i tokom ulaznog zračenja  $N_p = 1.033 \times 10^{-6}$  einstein  $s^{-1}$  (UVP, Upland, CA, USA). Korištene lampe prikazane su na slici 16.



**Slika 16.** UV lampa koja emitira zračenje pri valnoj duljini od 365 nm (crna) te UV lampa koja emitira pri valnoj duljini od 254/185 nm (bijela)

Osim UV lampe u reaktoru se nalazi cjevčica pomoću koje se, preko kamenčića (radi boljeg dispergiranja), upuhuje zrak zbog rekombinacije.

### 3.2.3. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti

Analiza uzoraka albendazola provedena je tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti vezanom sa spektrometrom masa koji mjeri vrijeme preleta (ToF) (UHPLC-iFunnel-Q/TOF, Agilent, Santa Clara, Kalifornija, SAD) (slika 17).



**Slika 17.** UHPLC-iFunnel-Q/TOF Agilent

Analiza uzoraka u eksperimentima u kojima se ispitivao mehanizam razgradnje albendazola provedena je na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti, Waters Alliance 2795, Milford, Massachusetts, SAD (slika 18.) s DAD detektorom. Određivanje je izvedeno tekućinskom kromatografijom obratnih faza na koloni Synergi Fusion, dimenzije 150 x 4,6 mm i promjera čestica punjenja 4  $\mu\text{m}$  (Phenomenex, Torrance, Kalifornija, SAD).

Snimanje i obrada dobivenih rezultata mjerenja napravljena je uz pomoć računalnog programa Mass Hunter.



**Slika 18.** Kromatografski sustav Waters Alliance 2795

### **3.3. Metoda rada**

#### **3.3.1. Priprema standardnih otopina albendazola**

Temeljna standardna otopina masene koncentracije  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pripravljena je vaganjem standarda na analitičkoj vagi ( $0,00500 \text{ g}$ ). Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od  $10 \text{ mL}$  te otopljen u metanolu. Da bi se standard lakše otopio, tikvica je stavljena u ultrazvučnu kupelj na  $20$  minuta.

Radna otopina ispitivanog farmaceutika albendazola, masene koncentracije  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pripravljena je vaganjem standarda na analitičkoj vagi ( $0,00100 \text{ g}$ ). Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od  $1000 \text{ mL}$  te otopljen u MiliQ vodi. Da bi se standard lakše otopio, tikvica je stavljena u ultrazvučnu kupelj na  $20$  minuta.

U eksperimentima u kojima se ispitivao mehanizam razgradnje, korištene su  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  otopine albendazola. Prva otopina pripravljena je vaganjem standarda na analitičkoj vagi ( $0,00250 \text{ g}$ ). Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od  $500 \text{ mL}$  te otopljen u MiliQ vodi. Druga otopina u kojoj je bio natrijev azid, pripravljena je vaganjem natrijevog azida ( $0,01625 \text{ g}$ ) i standarda ( $0,00250 \text{ g}$ ) na analitičkoj vagi. Odvagani natrijev azid kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od  $500 \text{ mL}$ , otopljen u MiliQ vodi, zatim je standard kvantitativno prenesen u tu istu odmjernu tikvicu te otopljen u MiliQ vodi. Treća otopina u kojoj je bio benzokinon, pripravljena je vaganjem benzokinona ( $0,00034 \text{ g}$ ) i

standarda (0,00125 g) na analitičkoj vagi. Odvagani benzokinon kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od 250 mL, otopljen u MiliQ vodi, zatim je standard kvantitativno prenesen u tu istu odmjernu tikvicu te otopljen u MiliQ vodi.

Da bi se standard lakše otopio, sve tikvice su stavljene u ultrazvučnu kupelj na 20 minuta.

### 3.3.2. Osvjetljavanje otopine albendazola

Prilikom provođenja eksperimenata razgradnje, reaktor je bio obložen aluminijskom folijom kako bi se spriječio negativan utjecaj UV zračenja na okolinu (prvenstveno osobe u blizini). U epruveti se nalazila radna otopina. Zbog zagrijavanja svjetiljke tijekom rada, pored reaktora u visini lampe postavljen je ventilator za hlađenje. UV svjetiljka je uključivana 30 min prije početka ispitivanja da bi se ustalila temperatura, odnosno intenzitet zračenja.

Fotolitička ispitivanja provedena su na način da je pripremljena otopina albendazola stavljena u kvarcni reaktor. Volumen otopine u reaktoru iznosio je 105 mL. Prethodno zagrijana lampa, uronjena je u otopinu te je započeta reakcija koja se provodila 120, 180 ili 240 minuta, ovisno o vrsti reakcije. Uzimani su uzorci u prethodno određenim vremenskim intervalima, volumen uzorka bio je približno 1 mL, a uzorci su pohranjivani u viala i čuvani u hladnjaku.

Fotokatalitička ispitivanja provedena su na prethodno opisan način, no korišten je drugi reaktor u kojemu je na stijenci bio prisutan  $\text{TiO}_2$  nanosen sol-gel postupkom te je sadržavao dva kristalna oblika  $\text{TiO}_2$ , anatas kao glavnu fazu i rutil kao drugu fazu. Ispitivanja u kojima je korišten ozon i vodikov peroksid također su provedena na prethodno opisan način, ali je direktno u reaktor dodan određeni volumen ozona, odnosno peroksida. Kada su izvođeni eksperimenti s vodikovim peroksidom, ukupni volumen (vodikov peroksid + radna otopina) iznosio je 105 mL te je u ovim eksperimentima volumen radne otopine bio manji za volumen dodanog vodikovog peroksida.

Za vrijeme provođenja ispitivanja, otopine su miješane magnetskom miješalicom, uveden je zrak, a radna temperatura bila je  $25 \pm 0,5$  °C.

Eksperimenti su provedeni na više načina:

- uz prisutnost UV zračenja,
- uz prisutnost UV zračenja i  $\text{TiO}_2$ ,
- uz prisutnost  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,
- uz prisutnost  $\text{H}_2\text{O}_2$  i UV zračenja,

- uz prisutnost O<sub>3</sub> te
- uz prisutnost O<sub>3</sub> i UV zračenja.

### 3.3.3. Određivanje albendazola tekućinskom kromatografijom

Kromatografsko određivanje albendazola, nakon razgradnje, izvedeno je tekućinskom kromatografijom obratnih faza na koloni Synergi Fusion, opisanoj u poglavlju 3.2.4. Nakon postignute stabilizacije tlaka u koloni pokrenuta je analiza uzoraka. Injektirano je 20 µL uzorka. Eluiranje je bilo gradijentno prema prikazu u tablici 4. uz protok od 0,5 mL/min. Pokretna faza sastojala se od 0,1 % mravlje kiseline u vodi i 0,1 % mravlje kiseline u acetonitrilu.

**Tablica 4.** Udio vodene i organske faze u pokretnoj fazi tijekom analize

| Vrijeme, min | Vodena faza, % | Organska faza, % |
|--------------|----------------|------------------|
| 0            | 0              | 100              |
| 5            | 30             | 70               |
| 10           | 60             | 40               |
| 15           | 95             | 5                |
| 23           | 95             | 5                |
| 24           | 0              | 0                |
| 30           | 0              | 0                |

### 3.3.4. Određivanje mehanizma fotokatalitičke razgradnje albendazola

S ciljem utvrđivanja mehanizma fotokatalitičke razgradnje farmaceutika albendazola provedeni su eksperimenti opisani u poglavlju 3.3.2. Razlika u eksperimentima koji su provedeni u svrhu određivanja mehanizma razgradnje je u različitoj koncentraciji ispitivanog farmaceutika te u različitim otopinama korištenim za hvatanje ogovarajućih radikala. Provedeni su sljedeći eksperimenti:

Osvjetljavanje 1 mg·L<sup>-1</sup> otopine albendazola u vodi, UV-A i UV-C zračenjem uz TiO<sub>2</sub> fotokatalizator. Zatim su provedena osvjetljavanje otopine iste koncentracije, ali uz prisutnost metanola volumnog udjela (v/v) 0,2 i 10 %.

Nadalje, proveden je niz eksperimenta s radnom otopinom albendazola koncentracije  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  primjenom UV-A zračenja uz  $\text{TiO}_2$  i UV-C zračenja uz  $\text{TiO}_2$ . Navedeni eksperimenti provedeni su kako bi se mogli usporediti s eksperimentima opisanima pod A) i B).

- A) Pripremljenoj radnoj otopini koncentracije  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  dodan je natrijev azid,  $\text{NaN}_3$ , čija je koncentracija u ispitivanoj otopini iznosila  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ . Otopina je potom tretirana kao i u prethodnom eksperimentu, izlaganjem UV-A zračenju uz  $\text{TiO}_2$  i UV-C zračenju uz  $\text{TiO}_2$ .
- B) Pripremljenoj radnoj otopini koncentracije  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  dodan je benzokinon,  $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ , čija je koncentracija u ispitivanoj otopini iznosila  $1,25 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$ . Zatim, otopina je izložena djelovanju UV-A zračenju uz  $\text{TiO}_2$ .

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

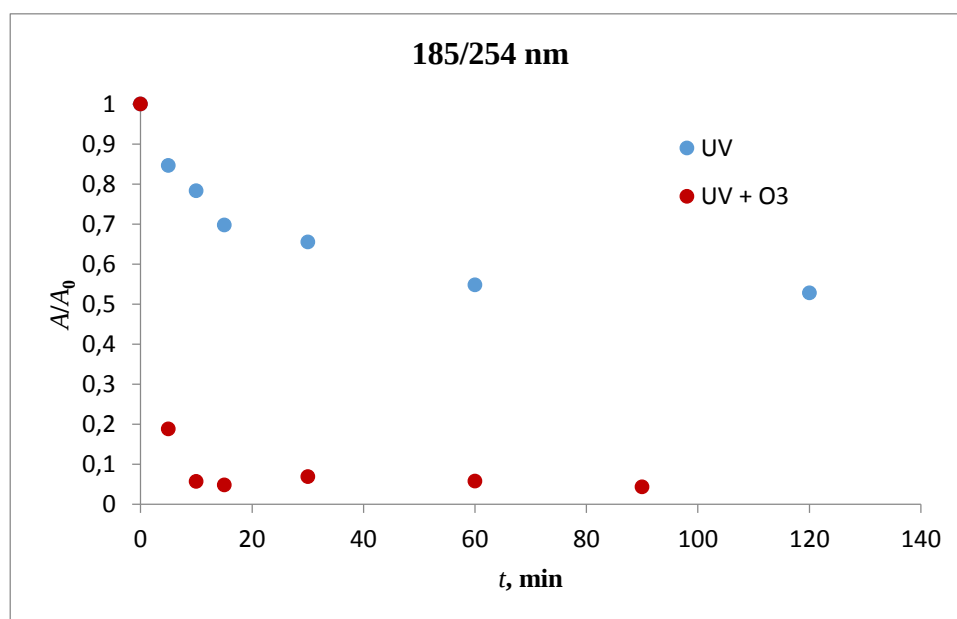
Cilj ovog rada je bio ispitati mogućnost razgradnje farmaceutika albendazola uz pomoć ekološki prihvatljivih i učinkovitih procesa kao što su fotoliza i fotokataliza, a ujedno i primjena takvih procesa u obradi otpadnih voda.

U ovom radu ispitana je fotolitička i fotokatalitička razgradnja farmaceutika albendazola te je provedena ozonizacija i razgradnja uz pomoć jakog oksidansa, vodikovog peroksida. Nadalje, određena je kinetika razgradnje, mehanizam razgradnje spomenutog farmaceutika te su identificirani glavni razgradni produkti.

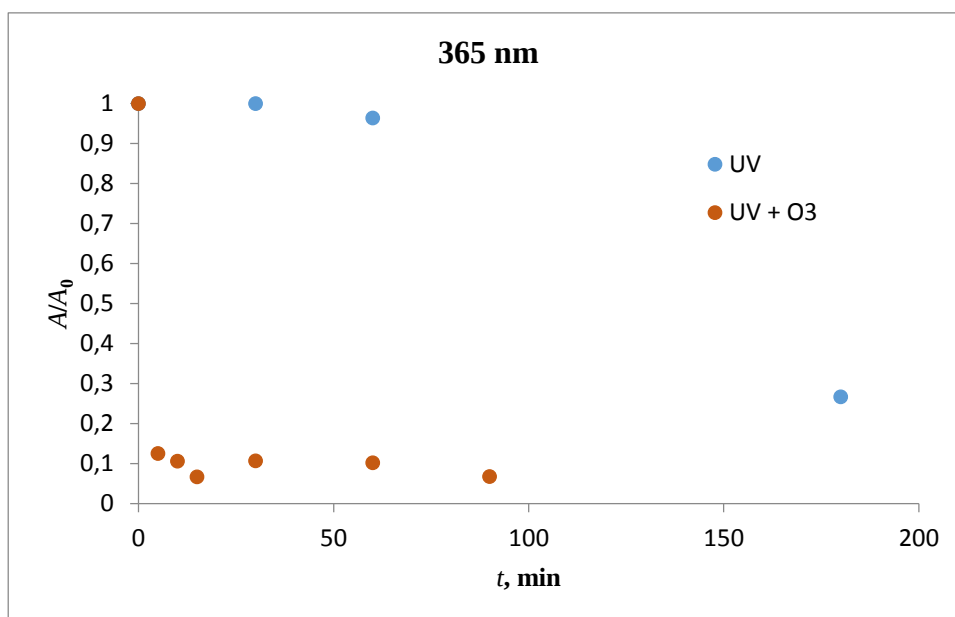
Iz dobivenih rezultata uočeno je da se koncentracija albendazola smanjuje tijekom ispitivanih procesa. Promjena koncentracije albendazola praćena je kao promjena površine ispod kromatografske vrpce i prikazana kao omjer  $A/A_0$ , pri čemu je  $A_0$  površina ispod kromatografske vrpce početne otopine analita prije fotolize/fotokatalize, a  $A$  je površina ispod kromatografske vrpce analita nakon određenog vremena ( $t$ ) trajanja određenog procesa.

### 4.1. Fotolitička razgradnja albendazola

Radna otopina albendazola izložena je djelovanju UV-C i UV-A zračenja samom te uz dodatak ozona. Osim u vodi, razgradnja je ispitana u 2 %-tnoj otopini metanola te uz prisutnost oksidansa vodikovog peroksida,  $H_2O_2$ . Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 19.-22.



**Slika 19.** Fotolitička razgradnja vodene otopine albendazola pri UV-C zračenju

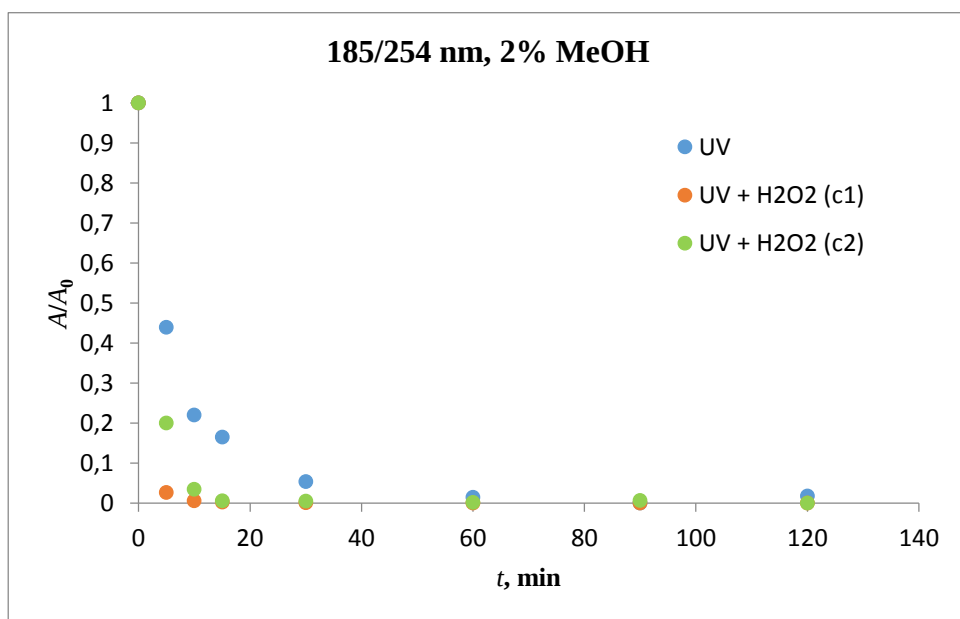


**Slika 20.** Fotolitička razgradnja vodene otopine albendazola pri UV-A zračenju

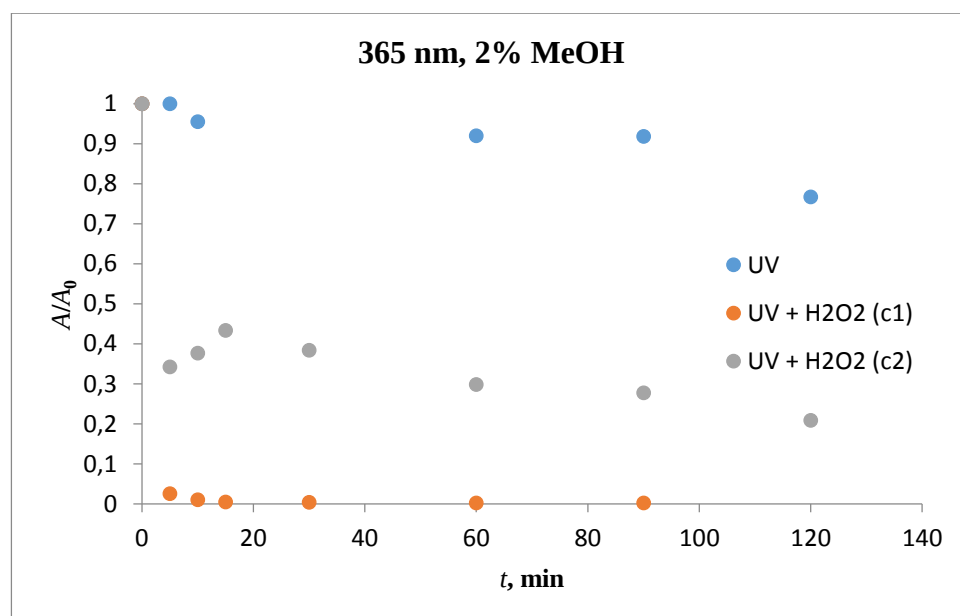
Na slikama 19. i 20. možemo vidjeti da se primjenom UV-A i UV-C albendazol djelomično razgradio, međutim, potpuna razgradnja albendazola nije postignuta niti uz UV-C niti uz UV-A zračenje unutar 120 minuta eksperimenta. Dodatak ozona ubrzava razgradnju u početku eksperimenata, ali niti nakon 90 minuta ne postiže se potpuna razgradnja bez obzira na izvor zračenja. Prije provođenja eksperimenata fotolitičke razgradnje uz dodatak ozona, ispitano je dolazi li do razgradnje albendazola samo reakcijom s ozonom (bez osvjetljavanja). Utvrđeno je da se koncentracija albendazola smanjila na 30 % početne koncentracije ispitivanog spoja tijekom 90 minuta. Stoga je razgradnja albendazola u fotolitičkim procesima rezultat oksidacije albendazola ozonom i fotolize.

Rezultati ispitivanja provedeni s 2 %-tnom metanolnom otopinom albendazola prikazani su na slikama 21. i 22.

Vodikov peroksid uobičajeno se koristi kao oksidans s najvažnijim prednostima: topljiv je u vodi, lako se transportira i ima veliki potencijal za razgradnju organskih zagađivala. U ovim istraživanjima korištene su dvije koncentracije vodikovog peroksida  $c_1=320,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  i  $c_2=64,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . U preliminarnim eksperimentima, vodikov peroksid dodan je u otopinu albendazola da bi se utvrdilo da li dolazi do oksidacije. Rezultati su pokazali da nema reakcije između vodikovog peroksida i albendazola te se razgradnja samo uslijed oksidacije može isključiti.



**Slika 21.** Fotolitička razgradnja albendazola u 2 %-tnoj metanolnoj otopini pri UV-C zračenju



**Slika 22.** Fotolitička razgradnja albendazola u 2 %-tnoj metanolnoj otopini pri UV-A zračenju

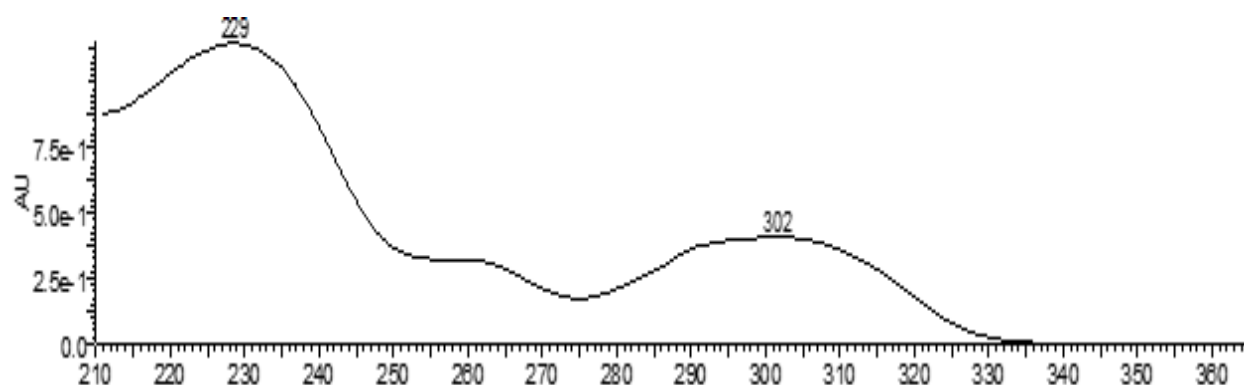
Dodatak vodikovog peroksida ubrzao je razgradnju albendazola uz UV-C i UV-A zračenje. U oba slučaja brža razgradnja uočena je pri višim koncentracijama vodikovog peroksida. Brža

razgradnja može se objasniti činjenicom da dodatkom vodikovog peroksida u ispitivanu otopinu, uz UV zračenje, dolazi do stvaranja hidroksil radikala uslijed fotolize peroksida:



Nastali hidroksil radikali imaju visoki oksidacijski potencijal i mogu razgraditi brojna organska zagađivala poput albendazola. S obzirom da je molarni apsorpcijski koeficijent vodikovog peroksida malen, količina apsorbiranog zračenja, od strane istoga, nije usporavala razgradnju farmaceutika.

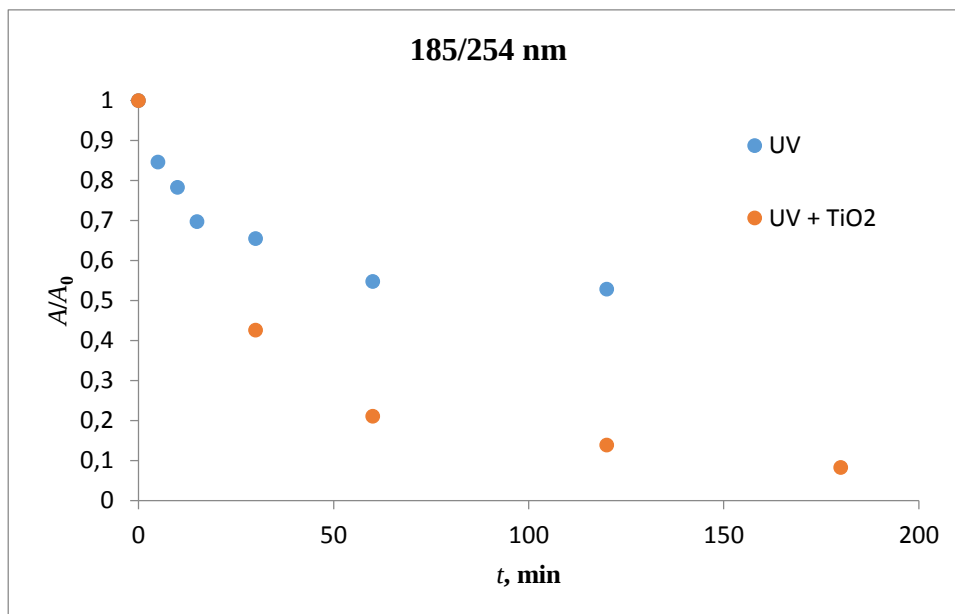
Razgradnja albendazola pri UV-C zračenju bila je i očekivana s obzirom na apsorpcijski spektar albendazola koji pokazuje apsorpcijske maksimumime na 229 i 302 nm (slika 23.) te su blizu valnoj duljini zračenja kojim je provedena razgradnja (UV-C zračenje – 254 nm).



**Slika 23.** Apsorpcijski spektar albendazola

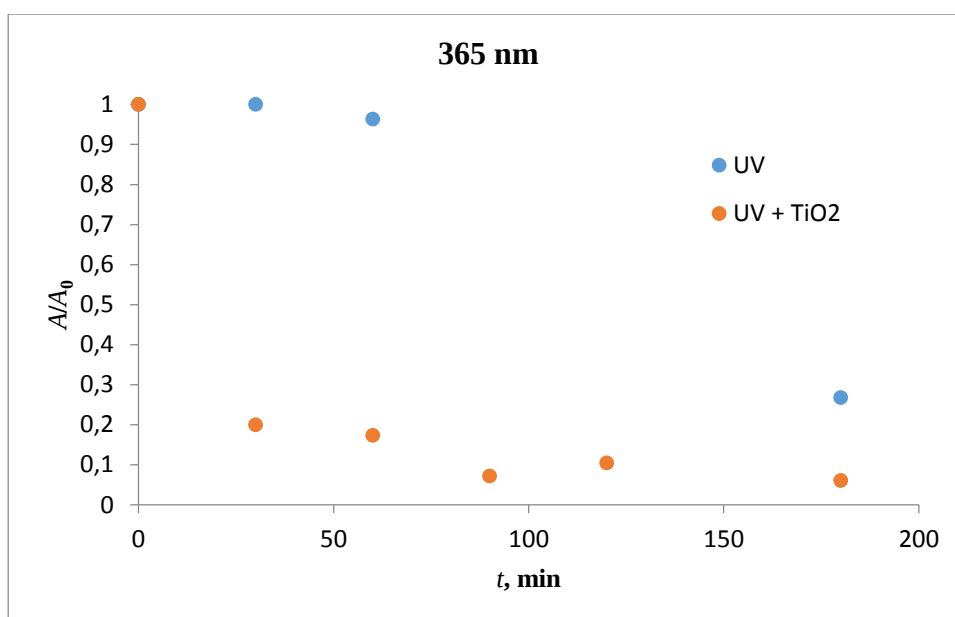
#### **4.2. Fotokatalitička razgradnja albendazola**

Fotokatalitička razgradnja albendazola provedena je s  $\text{TiO}_2$  tankim filmom nanesenim na stijenku reaktora. Kao što je i očekivano prisutnost fotokatalizatora uzrokovala je bržu razgradnju albendazola pri UV-A i UV-C zračenju, slika 24. i 25.



**Slika 24.** Fotokatalitička razgradnja albendazola uz UV-C zračenje

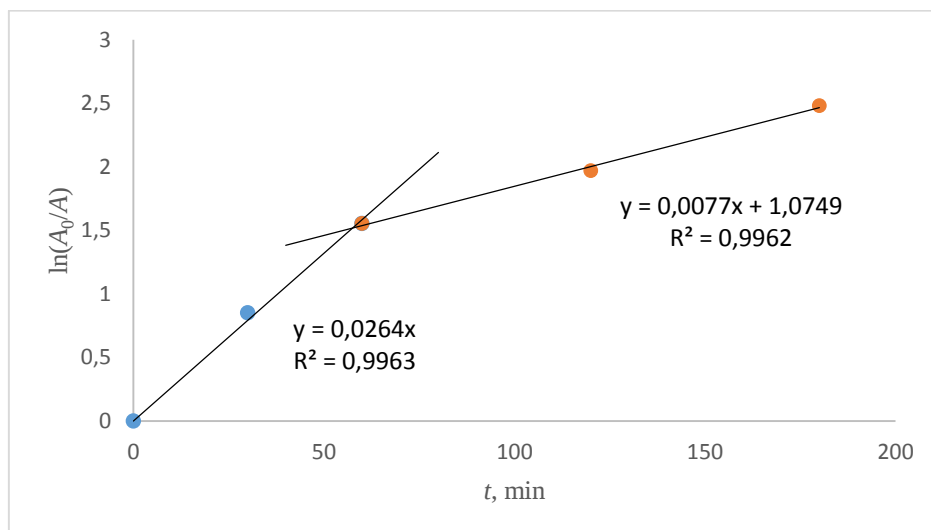
U fotolitičkim eksperimentima gdje su se koristila UV-A i UV-C zračenja albendazol se postupno razgrađivao i u ispitivanom vremenu nije postignuta potpuna razgradnja. Prisutnost titanijevog(IV) oksida uz primjenu navedenih zračenja, omogućila je nastajanje hidroksil radikala koji su sudjelovali u razgradnji. Uslijed zajedničkog djelovanja fotolize i fotokatalize razgradnja albendazola je uspješnija od same fotolitičke razgradnje.



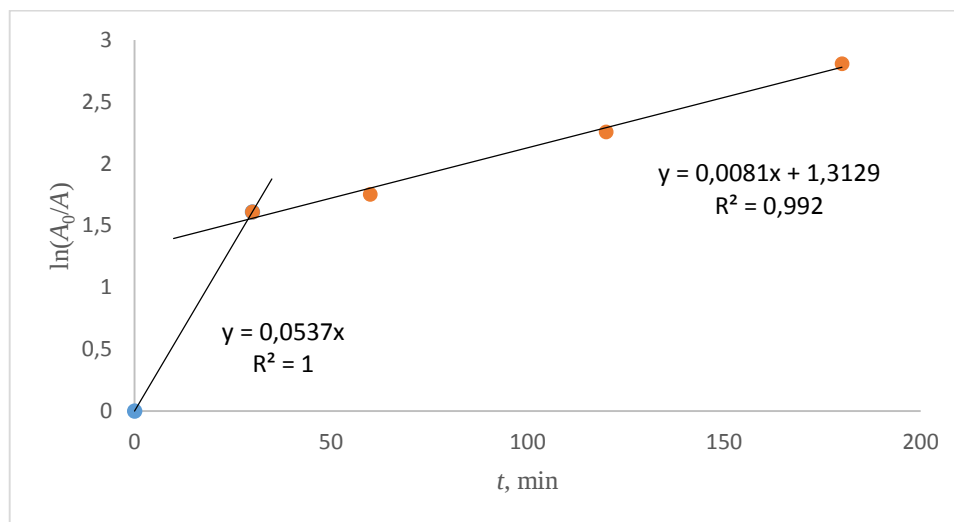
**Slika 25.** Fotokatalitička razgradnja albendazola uz UV-A zračenje

### 4.3. Kinetika razgradnje albendazola

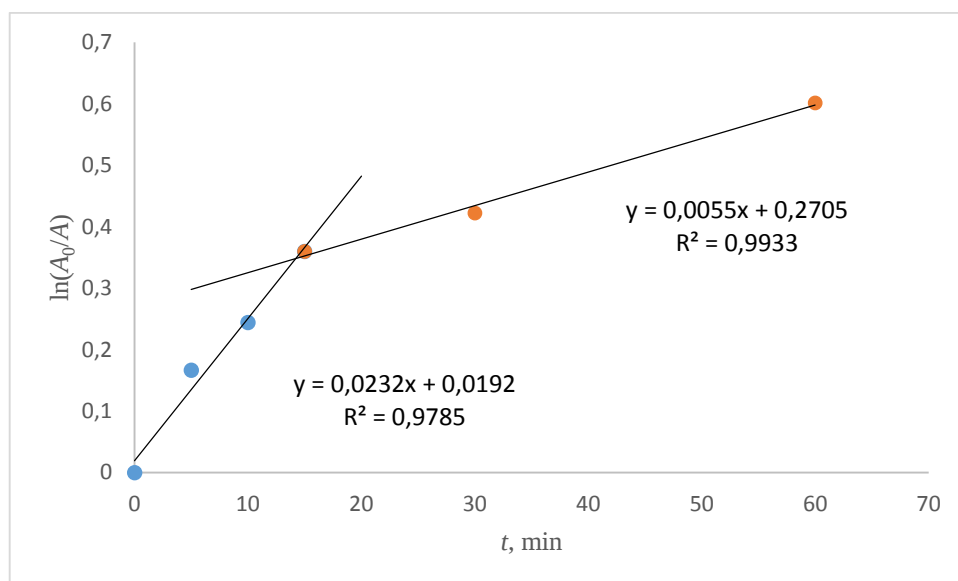
Da bi se odredila kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola pri UV-A i UV-C zračenju dobiveni rezultati prikazani su grafički kao ovisnost  $\ln(A_0/A)$  o vremenu što je prikazano na slikama 26.-28.



**Slika 26.** Kinetika fotokatalitičke razgradnje albendazola pri UV-C zračenju



**Slika 27.** Kinetika fotokatalitičke razgradnje albendazola pri UV-A zračenju



**Slika 28.** Kinetika fotolitičke razgradnje albendazola pri UV-C zračenju

Kao što se može vidjeti iz prikazanih grafova, kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola je složena i može se podijeliti u dva područja te u svakom od njih slijedi kinetiku prvog reda koju opisujemo sljedećom jednačinom:

$$A = A_0 \cdot e^{-kt}, \quad (19)$$

gdje je  $A_0$  površina ispod kromatografske vrpce za početnu koncentraciju spoja,  $A$  je površina kromatografske vrpce u određenom vremenu ( $t$ ), a  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ) je konstanta brzine razgradnje. Vremena poluraspada računamo prema izrazu:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (20)$$

Izračunate konstante brzine razgradnje ( $k$ ) za albendazol te vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) prikazani su u tablici 5.

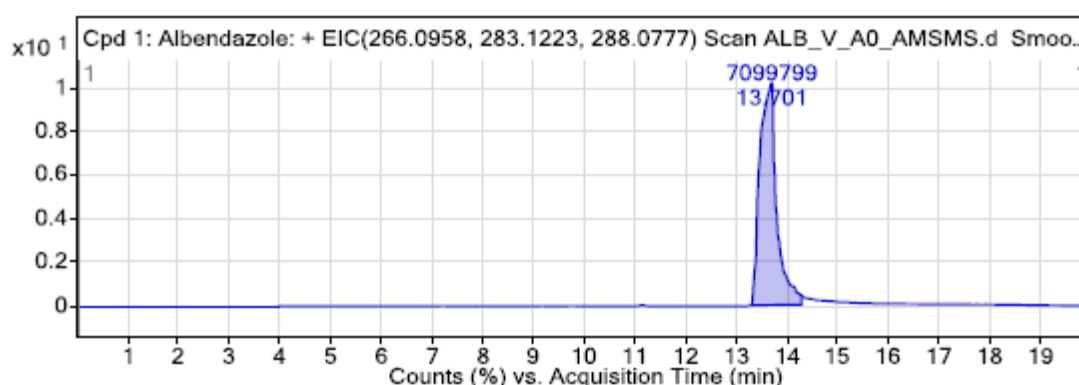
**Tablica 5.** Konstante brzine razgradnje albendazola i vremena poluraspada

|                       | $k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>1</sub> | $k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ ) <sub>2</sub> | $t_{1/2-1}$ (min) | $t_{1/2-2}$ (min) |
|-----------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------|-------------------|
| UV-C                  | 0,0232                                   | 0,0055                                   | 4,46              | 5,90              |
| UV-C/TiO <sub>2</sub> | 0,0264                                   | 0,0077                                   | 4,33              | 5,60              |
| UV-A/TiO <sub>2</sub> | 0,0537                                   | 0,0081                                   | 3,62              | 5,51              |

Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da fotolitička i fotokatalitička razgradnja slijedi reakciju prvog reda s koeficijentom determinacije ( $R^2$ ) većim od 0,97 u svim slučajevima. Na temelju vrijednosti konstanti brzine razgradnje albendazola i vremena poluraspada, prikazanih u tablici 5., razgradnja je u svim slučajevima brža na početku eksperimenata, a sporija u drugom dijelu.

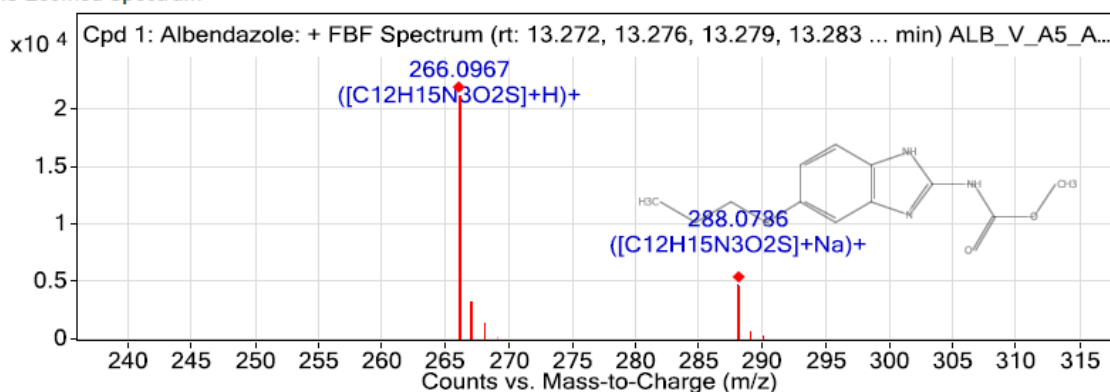
#### 4.4. Razgradni produkti fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola

Izlaganje otopine albendazola UV-A i UV-C zračenju te u procesu fotokatalize s tankim filmom titanijeva(IV) oksida kroz određeni vremenski period rezultiralo je nastankom novih kromatografskih vrpce iz čega se može pretpostaviti da su nastali novi spojevi – razgradni produkti. Nastanak razgradnih produkata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola praćen je tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti vezanom sa spektrometrom masa koji mjeri vrijeme preleta (ToF). Detektirane su dvije nove kromatografske vrpce, odnosno dva razgradna produkta koji su identificirani na temelju spektara masa. Na slikama 29. i 30. prikazani su kromatogram i spektar masa albendazola u početnoj vodenoj otopini.



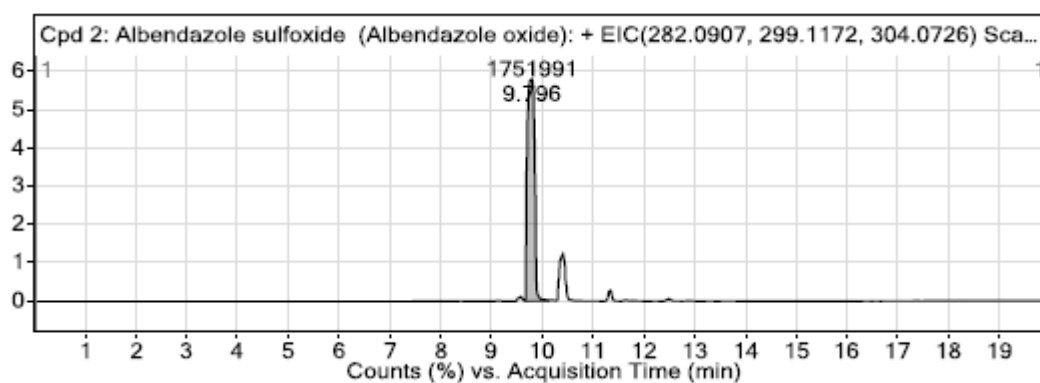
**Slika 29.** Kromatogram albendazola u početnoj vodenoj otopini

MS Zoomed Spectrum

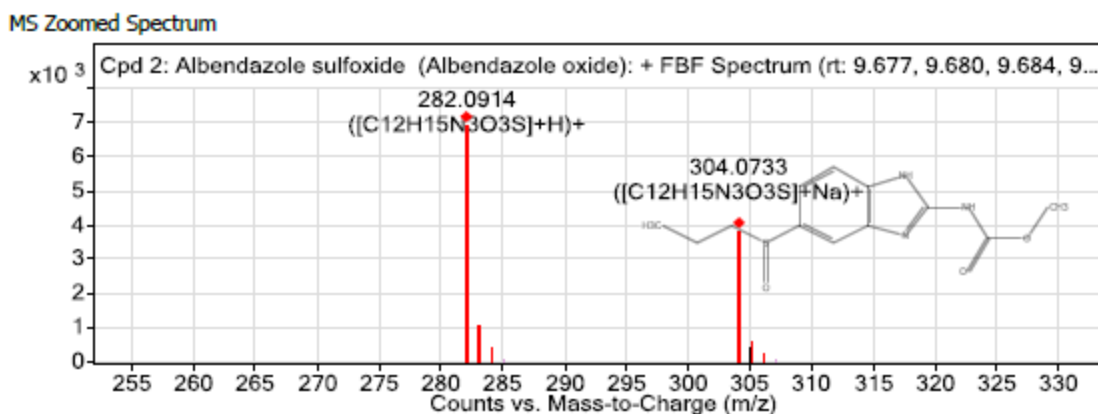


**Slika 30.** Spektar masa albandazola

Na slikama 31. i 32. prikazani su kromatogram i spektar masa razgradnog produkta  $m/z$  282,0914  $[M+H]^+$  i  $m/z$  304,0733  $[M+Na]^+$  koji se javlja pri vremenu zadržavanja  $t_R=9,796$  i koji je identificiran kao albandazol sulfoksid, metabolit albandazola (slika 2).

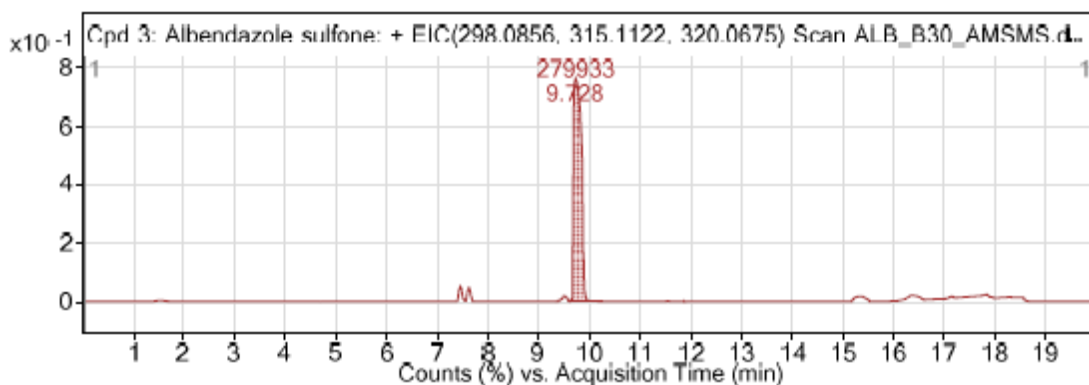


**Slika 31.** Kromatogram razgradnog produkta - albandazol sulfoksid (vodena otopina albandazola, UV-C, 15 min)

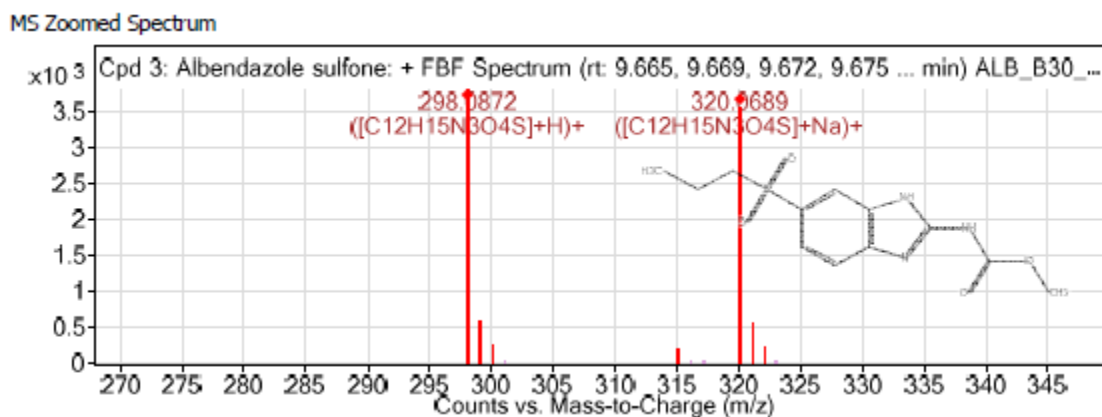


**Slika 32.** Spektar masa razgradnog produkta - albendazol sulfoksid (vodena otopina albendazola, UV-C, 15 min)

Na slikama 33. i 34. prikazani su kromatogram i spektar masa drugog razgradnog produkta  $m/z$  298,0872  $[M+H]^+$  i  $m/z$  304,0733  $[M+Na]^+$  320,0689 koji se javlja pri vremenu zadržavanja  $t_R=9,728$  i koji je identificiran kao albendazol sulfon, također metabolit albendazola (slika 2).

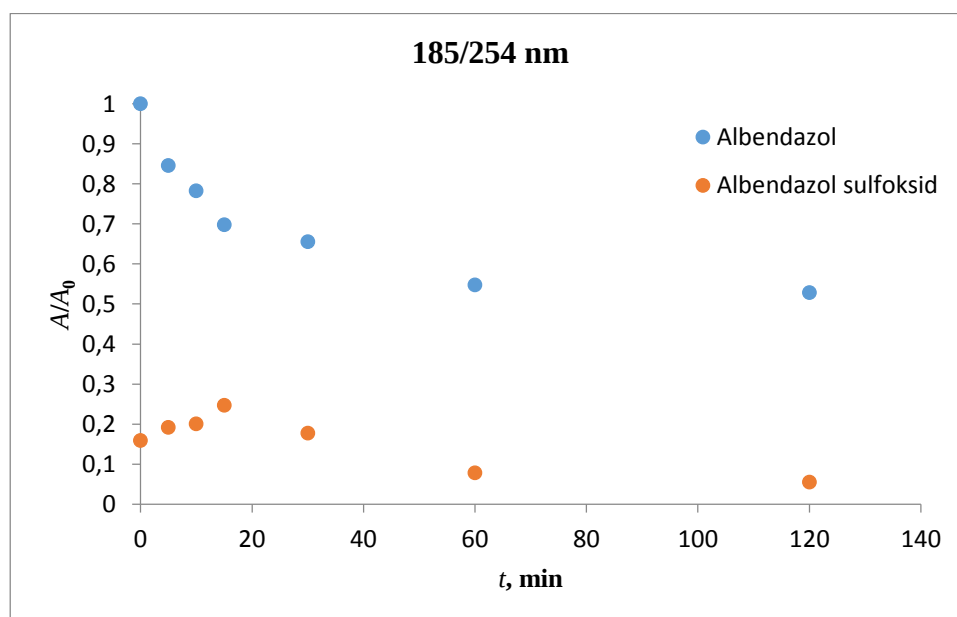


**Slika 33.** Kromatogram razgradnog produkta - albendazol sulfon (vodena otopina albendazola, UV-C/TiO<sub>2</sub>, 30 min)



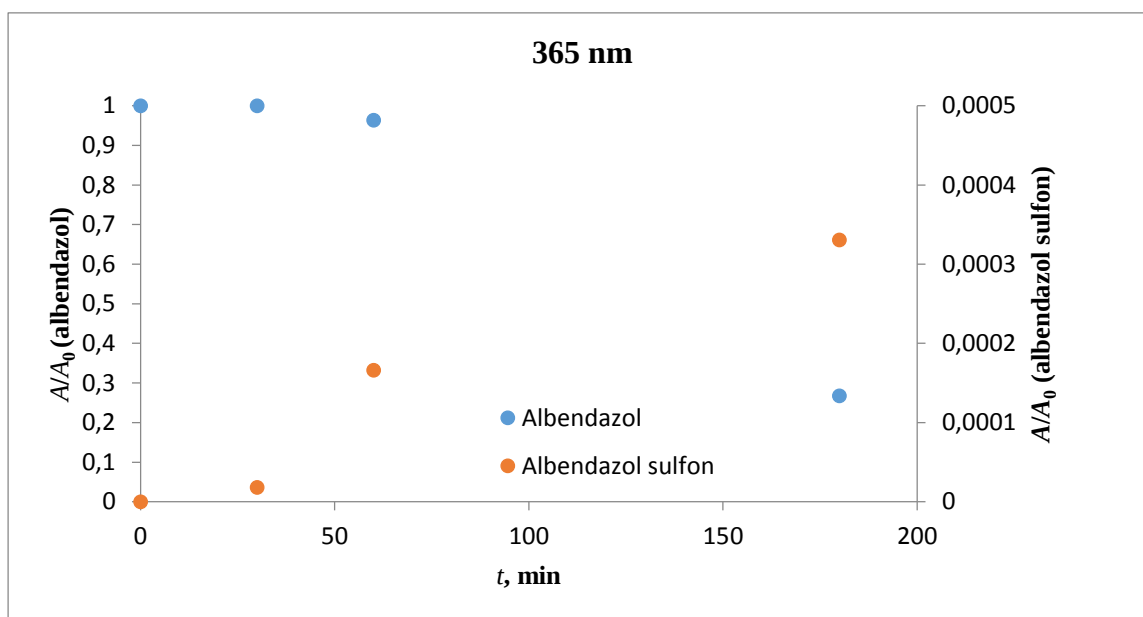
**Slika 34.** Spektar masa razgradnog produkta - albendazol sulfon (vodena otopina albendazola, UV-C/ $TiO_2$ , 30 min)

Nastanak i razgradnja nastalih razgradnih produkata također je praćena tijekom provođenja ispitivanih procesa. Primjeri profila nastajanja i razgradnje albendazol sulfoksida i albendazol sulfona prikazani su na slikama 35. i 36.



**Slika 35.** Promjena koncentracije albendazola i nastanak razgradnog produkta albendazol sulfoksida (UV-C)

Na slici 35. vidi se kako se tijekom procesa koncentracija početnog spoja smanjuje, a razgradnog produkta povećava te nakon 15 minute počinje razgradnja albendazol sulfoksida, a razgradnja početnog spoja se usporava. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima kinetike koji su pokazali da za ovaj proces (UV-C) razgradnja teče sporije od petnaeste minute (slika 28.).



**Slika 36.** Promjena koncentracije albendazola i nastanak razgradnog produkta albendazol sulfona (UV-A)

Na slici 36. također se može uočiti kako se tijekom procesa koncentracija početnog spoja počinje znatnije smanjivati tek nakon 60 minute. U početku procesa koncentracija razgradnog produkta se lagano povećava i počinje naglo rasti nakon 60 minute kada započinje i brža razgradnja albendazola te koncentracija albendazol sulfona nastavlja rasti tijekom cijelog trajanja procesa.

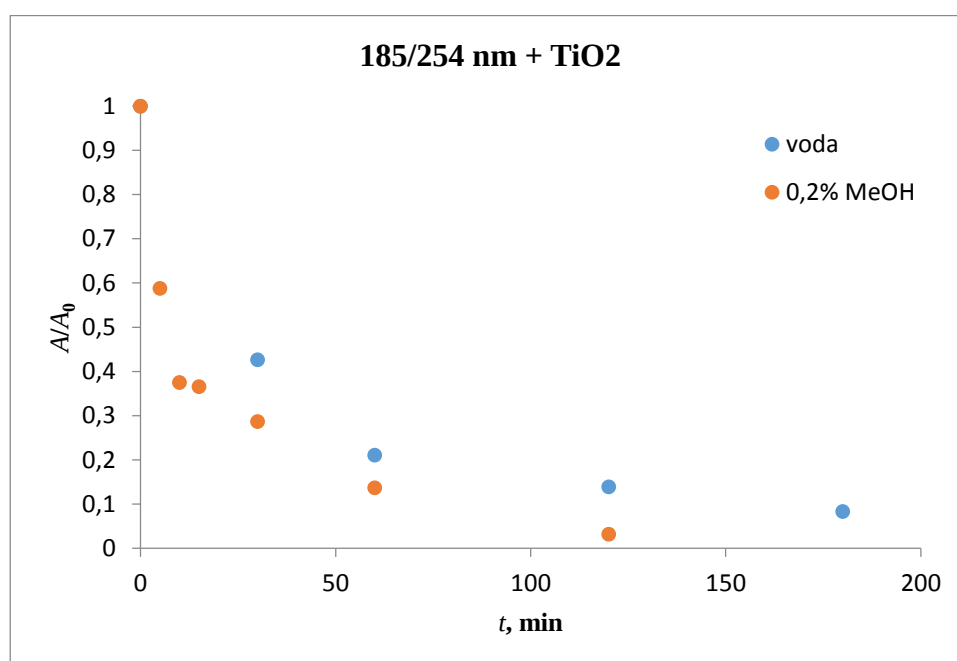
#### 4.5. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje albendazola

Razgradnja organskih komponenata zasniva se 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 energetski potencijal. Dearomatizacija je vrlo brz postupak, alifatska veza na aromatskom prstenu lako puca, ali daljnja mineralizacija je vrlo spor proces. Radikali koji potječu od kisika predstavljaju najznačajniju vrstu slobodnih radikala, a najčešći su hidroksil, superoksid radikal te singletni kisik.

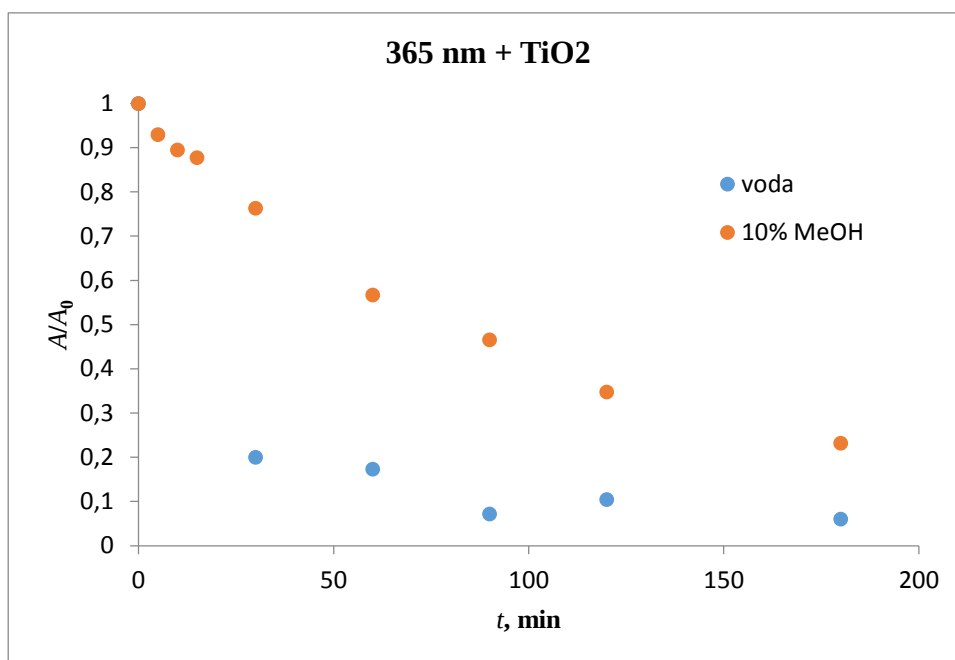
Cilj ovih istraživanja bio je odrediti mehanizam fotokatalitičke razgradnje farmaceutika albendazola. Ispitan je utjecaj triju „hvatača“ elektrona, tj. radikala (metanol, benzokinon i natrijev azid) na fotokatalitičku razgradnju albendazola.

Pobuđivanjem fotokatalizatora  $\text{TiO}_2$  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. Hidroksil radikal,  $\text{OH}^\bullet$  je najaktivniji i najtoksičniji reducirani oblik kisika. Zbog njegove velike reaktivnosti i kratkog životnog vijeka, teško ga je dokazati.

Uloga hidroksil radikala u fotokatalitičkoj razgradnji određena je pomoću metanola, „hvatača“ hidroksil radikala. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 37. i 38. iz kojih se može vidjeti da dodatkom metanola u radnu otopinu albendazola dolazi do slabog ubrzanja fotokatalitičke razgradnje ispitivanog spoja pri UV-C. Kada je korišteno UV-A zračenje, dolazi do bitnog usporavanja fotokatalitičke razgradnje albendazola (slika 38.) što upućuje na značajnu ulogu hidroksil radikala u razgradnji albendazola.



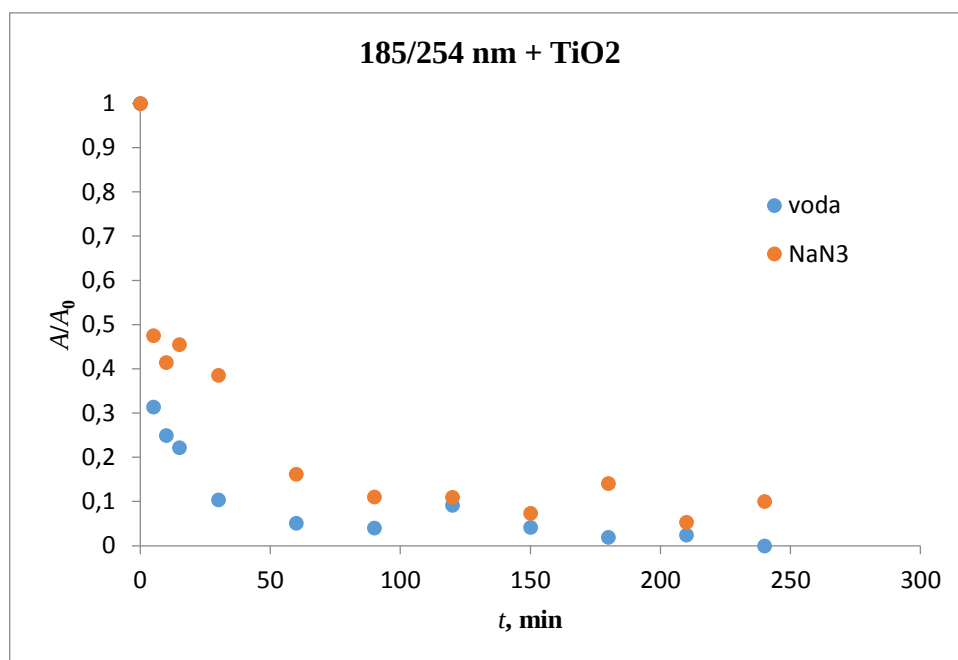
**Slika 37.** Fotokatalitička razgradnja albendazola sa i bez metanola uz UV-C zračenje



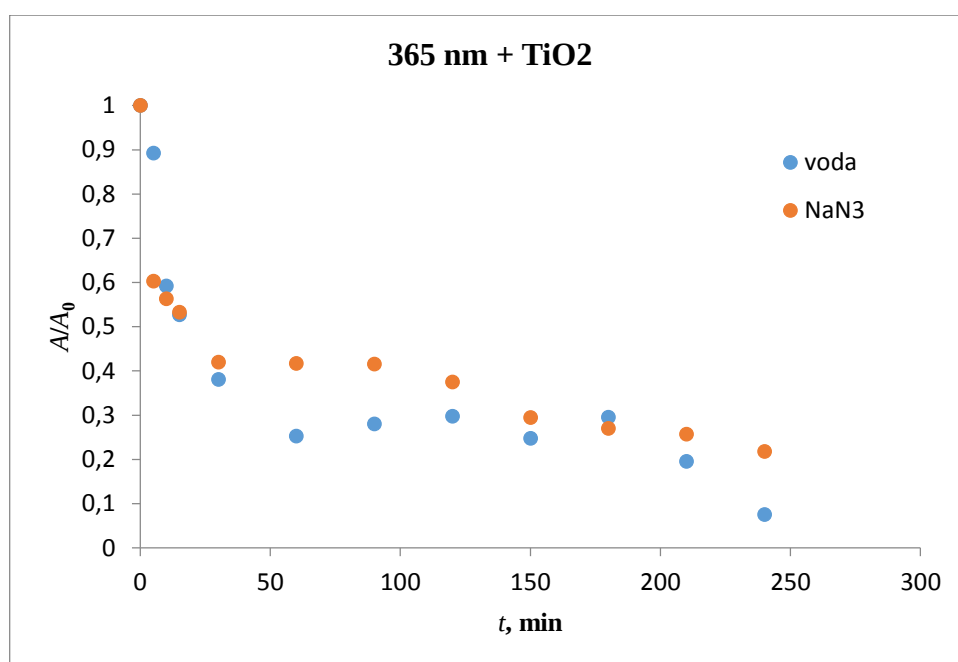
**Slika 38.** Fotokatalitička razgradnja albendazola sa i bez metanola uz UV-A zračenje

Singletni (aktivirani) oblici kisika nastaju u fotokemijskim ili termičkim reakcijama premještanjem jednog nesparenog elektrona iz nevezne  $\pi^*$  orbitale molekula kisika, imaju visok sadržaj energije i veoma lako mogu započeti slobodno radikalske reakcije. Uloga singletnog kisika u razgradnji određena je pomoću natrijevog azida, „hvatača“ singletnog kisika.

U prisutnosti „hvatača“ singletnog kisika, natrijevog azida, rezultati razgradnje albendazola prikazani su na slikama 39. i 40. Fotokatalitička razgradnja albendazola s UV-C/TiO<sub>2</sub> te UV-A/TiO<sub>2</sub> procesima uz dodatak natrijevog azida prikazana je na slikama 39. i 40. Vidljivo je da dodatak natrijevog azida nema značajniji utjecaj na brzinu fotokatalitičke razgradnje albendazola iz čega možemo zaključiti da singletni kisik ne igra značajnu ulogu u fotokatalitičkoj razgradnji albendazola.



**Slika 39.** Fotokatalitička razgradnja albendazola sa i bez NaN<sub>3</sub> uz UV-C zračenje

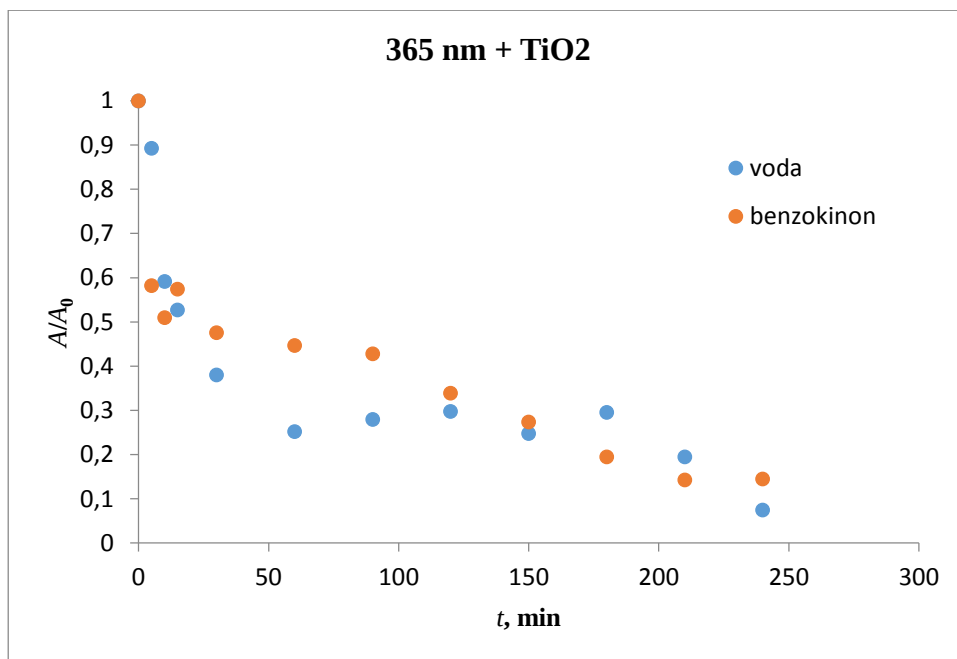


**Slika 40.** Fotokatalitička razgradnja albendazola sa i bez NaN<sub>3</sub> uz UV-A zračenje

Kao posljednji, korišten je benzokinon kao „hvatač“ superoksid radikala ( $O_2^{\cdot-}$ ). Superoksid radikal nastaje jednelektronskom redukcijom molekula kisika ili oksidacijom  $H_2O_2$  na

različite načine. Izlaganje otopine albendazola sa benzokinonom UV-C zračenju nije provedeno s obzirom da molekula benzokinona može apsorbirati UV-C zračenje.

Iz dobivenih rezultata može se uočiti da prisutnost benzokinona u otopini albendazola ne utječe na brzinu fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje farmaceutika (slika 41.) te se može zaključiti da superoksid radikal ne igra važnu ulogu u razgradnji albendazola.



**Slika 41.** Fotokatalitička razgradnja albendazola sa i bez benzokinona uz UV-A zračenje

## 5. ZAKLJUČCI

U ovom radu istraživana je fotolitička i fotokatalitička razgradnja albendazola te je provedena ozonizacija i razgradnja uz pomoć jakog oksidansa, vodikovog peroksida. Razgradnja je praćena tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti, a uz mehanizam razgradnje određena je i kinetika reakcije razgradnje te su identificirani glavni razgradni produkti. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- Tijekom svih ispitivanih procesa uočeno je smanjenje koncentracije albendazola.
- Fotolitičkom razgradnjom s UV-C i UV-A zračenjem postignuta je razgradnja farmaceutika no u oba slučaja nije postignuta potpuna razgradnja unutar 180 minuta.
- Dodatkom ozona razgradnja je ubrzana, osobito u početku eksperimenata, no nije potpuna unutar 90 minuta trajanja eksperimenta.
- Prisutnost vodikovog peroksida uzrokovala je bržu razgradnju, naročito pri višoj koncentraciji oksidansa.
- $\text{TiO}_2$  film je ubrzao reakciju razgradnje albendazola bez obzira na izvor zračenja.
- Kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje albendazola je složena i može se podijeliti u dva područja te u svakom od njih slijedi kinetiku prvog reda. Razgradnja je u svim slučajevima brža na početku eksperimenata, a sporija u drugom dijelu.
- Detektirana su dva razgradna produkta koji su identificirani kao albendazol sulfoksid i albendazol sulfon, metaboliti albendazola.
- Ispitivanjem mehanizma fotokatalitičke razgradnje albendazola ustvrđeno je da  $\text{OH}^\bullet$  radikal ima značajnu ulogu u razgradnji albendazola pri UV-A zračenju, a singletni kisik te superoksidni radikal ne sudjeluju u fotokatalitičkoj razgradnji.

## 6. LITERATURA

- [1] M. Periša, Kromatografsko određivanje fotorazgradnih produkata farmaceutika u okolišu, Disertacija, Zagreb, veljača 2015.
- [2] A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta, Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and waste water environments, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387** (2007) 1255-1234.
- [3] M. Gros, M. Petrović, A. Ginebreda, D. Barceló, Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes, *Environment International*, **36** (2010) 15–26.
- [4] K. Kümmerer, Pharmaceuticals in the environment, *The Annual Review of Environment and Resources*, **35** (2010) 57-75.
- [5] M. Petrović, S. Pérez, D. Barcelo, Analysis, removal, effects and risk of pharmaceuticals in the water cycle, Elsevier, Second edition, **62** (2013) 23-34.
- [6] K. Kümmerer, Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I, *Chemosphere*, **75** (2009) 417-434.
- [7] K. Kümmerer, Pharmaceutical in the Environment, Springer, Germany, 2008.
- [8] M. Bahmani, M. Rafieian – Kopaei, H. Hassanzadazar, K. Saki, S. A. Karamati, B. Delfan, A review on most important herbal and synthetic antihelmintic drugs, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **7** (2014) 29–33.
- [9] A. Kar, *Medicinal Chemistry*, New Age International (P) Ltd., Publishers, New Delhi, 2007.
- [10] <http://www.chemicaland21.com/lifescience/pharALBENDAZOLE.htm>, travanj, 2016.
- [11] A. D. Dayan, Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics, *Acta Tropica* **86** (2003) 141–159.
- [12] D. M. Rathod, K. R. Patel, H. N. Mistri, A. G. Jangid, P.S. Shrivastav, M. Sanyal, Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of albendazole and albendazole sulfoxide in human plasma for bioequivalence studies, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, (2016) doi:10.1016/j.jpha.2016.02.002.
- [13] <http://www.stetoskop.info/antihelmintici-b13-bs227-p97-uc1-book.htm>, travanj, 2016.
- [14] [https://en.wikipedia.org/wiki/Drug\\_metabolism](https://en.wikipedia.org/wiki/Drug_metabolism), travanj, 2016.

- [15] <http://veterina.com.hr/?p=27654>, lipanj, 2016.
- [16] G. Shyam Prasad, S. Girisham, S. M. Reddy, Studies on microbial transformation of albendazole by soil fungi, *Indian Journal of Biotechnology*, **8** (2009) 425-429.
- [17] <http://www.slideshare.net/onthewight/prof-graham-mills-the-fate-of-pharmaceutical-residues-in-the-aquatic-environment>, travanj, 2016.
- [18] H. B. Jayasiri, C. S. Purushothaman, A. Vennila, Pharmaceutically Active Compounds (PhACs): A Threat for Aquatic Environment? *Journal of Marine Science: Research & Development* **4** (2013) 1-2.
- [19] A. B. A. Boxall, M. A. Rudd, B. W. Brooks, D. J. Caldwell, K. Choi, S. Hickmann, E. Innes, K. Ostapyk, J. P. Staveley, T. Verslycke, G. T. Ankley, K. F. Beazley, S. E. Belanger, J. P. Berninger, P. Carriquiriborde, A. Coors, P. C. DeLeo, S. D. Dyer, J. F. Ericson, F. Gagné, J. P. Giesy, T. Gouin, L. Hallstrom, M. V. Karlsson, D. G. J. J. Larsson, J. M. Lazorchak, F. Mastrocco, A. McLaughlin, M. E. McMaster, R. D. Meyerhoff, R. Moore, J. L. Parrott, J. R. Snape, R. Murray-Smith, M. R. Servos, P. K. Sibley, J. O. Straub, N. D. Szabo, E. Topp, G. R. Tetreault, V. L. Trudeau, G. Van Der Kraak, Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions?, *Environmental Health Perspectives*, **120** (2012) 1221-1229.
- [20] <https://en.wikipedia.org/wiki/Photodegradation>, travanj 2016.
- [21] [https://hr.wikipedia.org/wiki/Sunčeva\\_svjetlost](https://hr.wikipedia.org/wiki/Sunčeva_svjetlost), travanj 2016.
- [22] D. Ljubas, Tehnološka primjena sunčeva zračenja za razgradnju organskih tvari površinskih voda, magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2000.
- [23] R. Sellappan, Mechanisms of Enhanced Activity of Model TiO<sub>2</sub>/Carbon and TiO<sub>2</sub>/Metal Nanocomposite Photocatalysts, Thesis for the degree of doctor of philosophy, Department of Applied Physics Chalmers, University of Technology Göteborg, Švedska, 2013.
- [24] D. Vujević, Uklanjanje organskih tvari iz obojenih otpadnih voda primjenom naprednih oksidacijskih procesa, Doktorska disertacija, FKIT, Zagreb, ožujak 2007.
- [25] A. Lončarić Božić, Obrada industrijskih otpadnih voda, (predavanja), Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2013.
- [26] V. Tomašić, F. Jović, Heterogena fotokataliza: osnove i primjena za pročišćavanje zraka, *Chemistry in industry*, **60** (2011) 387-403.

- [27] M. Umar, H. A. Aziz, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water, Chapter 8.
- [28] [https://www.google.hr/search?q=prikaz+anatas+rutil+brukit&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj4\\_pyy9anMAhVmP5oKHQ\\_rCkYQ\\_AUIBygB&biw=1366&bih=631#imgsrc=MvFx6cAPc3rxbM%3A](https://www.google.hr/search?q=prikaz+anatas+rutil+brukit&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj4_pyy9anMAhVmP5oKHQ_rCkYQ_AUIBygB&biw=1366&bih=631#imgsrc=MvFx6cAPc3rxbM%3A), travanj 2016.
- [29] <https://www.google.hr/search?q=Mehanizam+fotokataliti%C4%8Dke+reakcije+tio2&client=firefox-b-ab&tbm=isch&source=lnms&tbs=ic:specific,isc:orange&sa=X&ved=0ahUKEwjdwfGnz5vNAhVGtBQKHW5aBGkQpwUIEw&dpr=1&biw=1366&bih=631#imgsrc=TedIvuifxiMq5M%3A>, travanj, 2016.
- [30] H. Choi, S. R. Al-Abed, D. D. Dionysiou, E. Stathatos, P. Lianos, TiO<sub>2</sub>-Based Advanced Oxidation Nanotechnologies for water Purification and Reuse, *Sustainability Science and Engeneering*, **2** (2010) 229-254.
- [31] [https://www.google.hr/search?q=prikaz+anatas+rutil+brukit&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj4\\_pyy9anMAhVmP5oKHQ\\_rCkYQ\\_AUIBygB&biw=1366&bih=631#imgsrc=MvFx6cAPc3rxbM%3A](https://www.google.hr/search?q=prikaz+anatas+rutil+brukit&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwj4_pyy9anMAhVmP5oKHQ_rCkYQ_AUIBygB&biw=1366&bih=631#imgsrc=MvFx6cAPc3rxbM%3A), travanj 2016.
- [32] J. M. Herrmann, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water, *Catalysis Today*, **53** (1999) 115-129.
- [33] 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.
- [34] I. Turčin, Elektromotorno vozilo pogonjeno fotonaponskim sustavom, Završni rad, Karlovac, 2015.
- [35] E. Neyens i sur., Pilot-scale peroxidation (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) of sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* **98** (2003) 91-106.
- [36] G. S. Wang, S.T. Hsieh i C.S. Hong, 2000. Destruction of humic acid in water by UV light - Catalyzed oxidation with hydrogen peroxide. *Water Research* **34** (15) 3882-3887.
- [37] I. Filipović, S. Lipanović, Opća i anorganska kemija II.dio, IX. izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1995.
- [38] M. Kašelan-Macan, Kemijska analiza u sustavu kvalitete, Zagreb, 2003.
- [39] T. Bolanča, Š. Ukić, Ionska kromatografija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.
- [40] M. Kah, C. D. Brown, LogD: Lipophilicity for ionisable compounds, *Chemosphere*, **72** (2008) 1401-1408.

- [41] F. Settle, *Hanbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice Hall PTR, New Jersey, 1997.
- [42] C. Seger, A. Griesmacher, Važni aspekti uspostave dvojne spektrometrije masa u uvjetima rutinskoga kliničkog laboratorija, *Biochemia Medica* **17** (2007) 29-51.
- [43] M. Kaštelan Macan, M. Petrović, *Analitika okoliša*, Hinus, Zagreb, 2013.

## Životopis

Rođena sam 24. veljače 1993. godine u Zagrebu. Godine 2007. završavam Osnovnu školu Lučko, u Lučkom, a 2011. srednju školu Zdravstveno učilište u Zagrebu, smjer Farmaceutski tehničar. Praksu u sklopu srednje škole odradila sam 2010. godine u Gradskoj ljekarni Zagreb. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, studij Kemija i inženjerstvo materijala upisujem 2011. godine, a u veljači 2014. odradila sam stručnu praksu u Plivi, Kontrola kvalitete. Preddiplomski studij završila sam 2014. godine obranom završnog rada pod nazivom „*Utjecaj udjela punila na svojstva biorazgradivog polikaprolaktona*“ uz mentorstvo prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić. Iste godine upisujem diplomski studij, a 2016. godine sudjelovala sam pod vodstvom dr. sc. Mirte Čizmić na 16. Festivalu znanosti, s radionicom „*Stvori umjetnost kemijom*“ te na Danima otvorenih vrata Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije 2016. godine.