

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Kristina D. Radosavljević

**DEGRADACIJA AMOKSICILINA I
AZITROMICINA U VODENOJ SREDINI
PRIMENOM RAZLIČITIH FIZIČKO-
HEMIJSKIH METODA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Kristina D.Radosavljević

**DEGRADATION OF AMOXICILLIN AND
AZITHROMYCIN IN AN AQUEOUS
ENVIRONMENT USING VARIOUS
PHYSICO-CHEMICAL METHODS**

doctoral dissertation

Belgrade, 2018

MENTOR:

Dr Dušan Antonović, redovni profesor
Tehnološko-metalurškog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Jelena Lović, naučni saradnik
Instituta za hemiju, tehnologiju i
metalurgiju u Beogradu

Dr Milka Avramov-Ivić, naučni savetnik
Instituta za hemiju, tehnologiju i
metalurgiju u Beogradu

Dr Tatjana Đurkić, redovni profesor
Tehnološko-metalurškog fakulteta
Univerziteta u Beogradu

Dr Slobodan Petrović, profesor emeritus
Tehnološko-metalurškog fakulteta
Univerziteta u Beogradu.

DATUM ODBRANE

Zahvalnica

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije urađen je u laboratoriji katedre za Organsku hemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i u Institutu za elektrohemiju i Centru za hemiju IHTM, Univerziteta u Beogradu.

Želela bih da se zahvalim svima koji su doprineli da ova doktorska disertacija dobije konačnu formu.

Dr Slobodanu Petroviću, profesoru emeritusu Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu, beskrajno se zahvaljujem na iskrenom nesebičnom angažovanju, sugestijama i podršci u toku doktorskih studija i doprinosu u uspešnoj realizaciji planiranih istraživanja.

Mentoru, dr Dušanu Antonoviću, redovnom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, najsrdačnije zahvaljujem na stručnoj pomoći i komentarima.

Najiskreniju zahvalnost dugujem dr Milki Avramov Ivić, naučnom savetniku IHTM, za veliki doprinos u toku realizacije rada, pomoć i savete tokom izrade eksperimentalnog dela u vezi sa elektrohemijskim ispitivanjem, kao i pri pisanju doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem dr Milki Jadranin, redovnom profesoru Hemijskog fakulteta, na pomoći u eksperimentalnoj analizi i pruženoj mogućnosti da deo eksperimenatalnih određivanja bude urađen u Centaru za hemiju i dr Antoniju Onjia iz hemijske laboratorije Anahem, na pomoći u eksperimentalnoj analizi.

Svojim stručnim savetima mnogo mi je pomogao dr Dušan Mijin, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, na čemu se iskreno zahvaljujem.

Ostalim članovima Komisije, docent dr Jeleni Lović, komentoru, i prof. dr Tatjani Đurković, zahvaljujem se na interesovanju i korisnim sugestijama u završnoj fazi disertacije.

Izuzetnu zahvalnost dugujem dr Kristijanu Halleru na sveobuhvatnoj podršci u realizaciji ove disertacije.

Najdublje se zahvaljujem svojim roditeljima i bratu, na безусловnoj ljubavi, poverenju i podršci koju mi pružaju svih ovih godina.

Degradacija amoksicilina i azitromicina u vodenoj sredini primenom različitih fizičko-hemijskih metoda

IZVOD

Predmet ove doktorske disertacije je proučavanje degradacije amoksicilina i azitromicina u vodenoj sredini, primenom određenih elektrohemijjskih i unapređenih oksidacionih procesa, ispitivanjem degradacionih proizvoda nakon različitih tipova forsiranih degradacija. Naučni cilj doktorske disertacije je da se primenom viših oksidacionih procesa izvrši potpuna oksidacija amoksicilina u kratkom vremenskom periodu, bez nastajanja policikličnih produkata, i da se ispita mogućnost uklanjanja azitromicina iz ekosistema postupkom forsirane razgradnje. U tom smislu vodeni rastvor amoksicilina je bio podvrgnut odabranim fotokatalitičkim degradacionim procesima. Radi sticanja potpunijeg uvida u stepen mineralizacije odabrane su jonska hromatografija (IC) i metoda određivanja ukupnog organskog ugljenika (TOC). Ispitivana je indirektna oksidacija azitromicina na Ti/RuO₂ anodi, galvanostatskom tehnikom u vodenom elektrolitu koji sadrži NaCl. Na elektrodi od staklastog ugljenika je elektroanalitički praćeno smanjenje koncentracije azitromicina kao posledica njegove degradacije u gore pomenutom elektrolitu. Za proučavanje stepena degradacije azitromicina korišćena je diferencijalna pulsna voltometrija (DPV) i tačna hromatografija visokih performansi sa detektorom u ultraljubičastoj oblasti (HPLC-UV), a za detekciju proizvoda degradacije tačna hromatografija-masena spektrometrija (LC-MS). Za definisanje stepena mineralizacije odabrana je metoda određivanja ukupnog organskog ugljenika (TOC).

Ključne reči: amoksicilin, azitromicin, TiO₂, nanokristal, optimizacija, Ti/RuO₂, galvanostatska tehnika, indirektna elektrohemijjska degradacija, DPV

Investigation of amoxicillin and azithromycin in an aqueous environment using various physico-chemical methods

ABSTRACT

Nanocrystalline TiO₂, synthesized by sol-gel route and characterized by XRPD, BET and SEM measurements, was applied in the photocatalytic degradation of amoxicillin, using an Osram Ultra-Vitalux® lamp as the light source. Amoxicillin is a semi-synthetic penicillin type antibiotic active against a widerange of gram-positive and a limited range of gram-negative organisms. The continuous release of antibiotics and their persistence in the environment may result in serious irreversible effects on aquatic and terrestrial organisms. Heterogeneous catalysis, which uses catalysts like TiO₂, is a promising route for the degradation of organic pollutants including antibiotics. The effects of initial concentration of catalyst, initial salt concentration (NaCl and Na₂SO₄), ethanol and pH on the photocatalytic degradation of amoxicillin were studied. The mineralization of amoxicillin was analyzed by ion chromatography as well as by total organic analysis. The catalytic properties of nanocrystalline TiO₂ were compared to Evonik P25 catalyst. The electrodegradation of azithromycin was studied by its indirect oxidation using dimensionally stable Ti/RuO₂ anode as catalyst in the electrolyte containing methanol, 0.05 M NaHCO₃, sodium chloride and deionized water. The optimal conditions for galvanostatic electrodegradation for the azithromycin concentration of 0.472 mg cm⁻³ were found to be NaCl concentration 7 mg cm⁻³ and the applied current 300 mA. The differential pulse voltammetry using glassy carbon electrode was performed for the first time in the above mentioned content of electrolyte for the nine concentration of azithromycin (0.075 mg cm⁻³ - 0.675 mg cm⁻³) giving the limits of azithromycin detection and of quantification. The calibration curve was constructed enabling the electrolyte analysis during its electrodegradation process. The electrolyte was analyzed and by high performance liquid chromatography and electro spray ionization time-of-flight mass spectrometry. The electrooxidation products were identified and after 180 min there was no azithromycin in the electrolyte while TOC analysis showed that 79% of azithromycin was mineralized. The proposed degradation scheme is presented.

SKRAĆENICE

AOP _s	unapređeni oksidacioni procesi
E ₀	energija osnovnog stanja molekula
E ₁	energija pobuđenog stanja
<i>h</i>	Planck-ova konstanta
<i>v</i>	frekvencija elektromagnetnog zračenja
<i>c</i>	brzina svetlosti
e ⁻	provodni elektron
λ	talasna dužina
h ⁺	valentna šupljina
VB	valentni energetski nivo
CB	provodni energetski nivo
<i>r</i>	brzina reakcije
<i>k</i>	konstanta brzine reakcije
<i>K</i>	adsorpcioni koeficijent reaktanta
<i>C₀</i>	početna koncentracija reaktanata
<i>k_{app}</i>	konstanta brzine reakcije pseudo prvog reda
<i>C_{kat}</i>	koncentracija katalizatora
HPLC-UV	tečna hromatografija visokih performansi sa detektorom u ultraljubičastoj oblasti
LC-MS	tečna hromatografija-masena spektrometrija
FTIR	infracrvena spektroskopija sa Furijevom transformacijom
m/z	odnos mase i naelektrisanja
SRM	praćenje izabrane reakcije

CV	ciklična voltometrija
DPV	diferencijalna pulsna voltometrija
TOC	metoda određivanja ukupnog organskog ugljenika
XRD	rendgenska-difrakciona analiza
SEM	skenirajuća elektronska mikroskopija
BET	metoda za određivanje specifične površine, prema Brunauer, Emmet & Teller
IC	jonska hromatografija
pH _{IET}	pH izoelektrične tačke

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DEO.....	4
2.1 Značaj vode i njenog višenamenskog korišćenja.....	4
2.2. Resursi i ugroženost vode za piće u Republici Srbiji.....	5
2.3. Mere za zaštitu voda.....	5
2.4 Prisustvo i ponašanje antibiotika u vodenoj sredini.....	6
2.5 β -LAKTAMSKI ANTIBIOTICI.....	9
2.5.1 Penicilini.....	9
2.5.2 Podela penicilina i farmakokinetika.....	10
2.5.3 Reakcije hidrolize β -laktamskih antibiotika.....	11
2.5.4 Enzimaska hidroliza penicilina i nastajanje 6-APK.....	12
2.5.5 Stabilnost penicilina u baznoj sredini.....	13
2.5.6 Stabilnost penicilina u kiseloj sredini.....	13
2.5.7 Uticaj strukture na biološku aktivnost penicilina.....	14
2.5.8 Penicilini stabilni u kiselinama.....	16
2.5.9 Penicilini otporni na β -laktamazu.....	16
2.5.10 Penicilini širokog spektra delovanja.....	17
2.5.11 Amoksicilin.....	18
2.6 MAKROLIDNI ANTIBIOTICI.....	20
2.6.1 Hemijska struktura i podela.....	21
2.6.2 Mehanizam i mesto delovanja.....	22
2.6.3 Hemijska struktura i svojstva eritromicina.....	23
2.6.4 Hemijska struktura i svojstva azitromicina.....	24
2.6.5 Farmakodinamički podaci o azitromicinu.....	26
2.6.6 Farmakokinetički podaci o azitromicinu.....	26
2.6.7 Neželjena delovanja i toksičnost makrolida.....	27
2.7 OPŠTE METODE DEGRADACIJE ANTIBIOTIKA.....	27
2.7.1 Dosadašnji rezultati proučavanja degradacije amoksicilina.....	28
2.7.2 Dosadašnji rezultati određivanja i degradacije azitromicina.....	29

2.8 HETEROGENA FOTOKATALIZA.....	31
2.8.1 Mehanizam heterogene katalize.....	31
2.8.2 Kinetika heterogene fotokatalize	34
2.8.3 Faktori koji utiču na mehanizam heterogene fotokatalize.....	36
2.8.3.1 Uticaj masene koncentracije fotokatalizatora.....	36
2.8.3.2 Uticaj pH vrednosti rastvora.....	37
2.8.3.3 Uticaj prisustva neorganskih jona.....	38
2.8.3.4 TiO ₂ kao fotokatalizator	38
2.8.3.5 Mehanizam heterogene fotokatalize u prisustvu TiO ₂	42
2.9 ELEKTROHEMIJSKE METODE.....	45
2.9.1 Ciklična voltometrija (CV).....	46
2.9.2 Diferencijalna pulsna voltometrija (DPV).....	46
2.9.3 Masena spektrometrija (MS).....	47
2.9.4 Tečna hromatografija-masena spektrometrija (LC-MS).....	48
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	50
3.1 Hemijske supstance.....	50
3.2 Aparati , uređaji i elektrode.....	50
3.3 Fotokatalitička degradacija amoksicilina.....	51
3.3.1 Priprema nanokristalnog TiO ₂	51
3.3.2 Fotokatalitički eksperiment.....	52
3.3.3 Analitičke procedure ispitivanja površine nanoTiO ₂ (XRD, SEM, BET)...	53
3.3.4 UV analiza.....	54
3.3.5 Određivanje pH vrednosti rastvora.....	54
3.3.6 Jonsko-hromatografska analiza (IC).....	54
3.3.7 Metoda određivanja ukupnog organskog ugljenika (TOC).....	54
3.4 Elektrohemijaska degradacija azitromicina.....	54
3.4.1 Diferencijalna pulsna voltometrija (DPV).....	55
3.4.3 Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC).....	56

3.4.4 LC - ESI - MS analiza uzoraka azitromicina.....	56
3.4.5 Analize ukupnog organskog ugljenika (TOC).....	56
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	57
4.1 FOTOKATALITIČKA DEGRADACIJA AMOKSICILINA.....	57
4.1.1 Metode karakterizacije nanokristalnog TiO ₂ (XRPD, SEM).....	57
4.1.2 Sinteza TiO ₂ katalizatora.....	60
4.1.3 Inicijalni eksperiment	60
4.1.4 Uticaj pH vrednosti rastvora.....	64
4.1.5 Uticaj soli.....	66
4.1.6 Uticaj hvatača OH radikala.....	68
4.1.7 Očitavanje rezultata jonske hromatografije i TOC analize	69
4.2 ELEKTROHEMIJSKA DEGRADACIJA AZITROMICINA	71
4.2.1 Indirektna elektrohemijska oksidacija azitromicina.....	71
4.2.2. Uticaj reakcionih parametara na stabilnost azitromicina.....	73
4.2.3 Određivanje koncentracije azitromicina DPV metodom.....	78
4.2.4 Strukturno tumačenje proizvoda elektrodegradacije.....	83
5. ZAKLJUČAK.....	88
6. LITERATURA.....	91
7. BIOGRAFIJA KANDIDATA.....	110
8. IZJAVA O AUTORSTVU.....	113
9. IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE...114	
10. IZJAVA O KORIŠĆENJU.....	115

1. UVOD

Sa stanovišta zaštite životne sredine antibiotici, kao klasa veoma značajnih lekova, su grupa hemijskih supstanci koja zahteva izuzetnu pažnju, jer se masovno upotrebljavaju širom sveta. Neprekidno oslobađanje i prisutnost antibiotika u ekosistemu, čak i pri niskim koncentracijama, ozbiljno i nepovratno utiče na vodene organizme, jer oštećuju mikro floru i faunu kroz akumulaciju u lancima ishrane, ubrzavanjem razvoja rezistentnih super bakterija.

Shodno tome, antibiotici predstavljaju veoma značajne polutante i moraju biti razgrađeni ili uništeni neposredno pre izlivanja otpadnih voda u životnu sredinu. Neka od važnijih neželjenih dejstava, kao što su npr. oštećenja na nivou centralnog nervnog sistema, mutageneza, nefropatija, artropatija, preosetljivost na svetlost i sterilitet mogu biti posledica akumulacije antibiotika u tkivima. Amoksicilin spada u grupu β laktamskih antibiotika, sa širokim spektrom aktivnosti protiv Gram pozitivnih i ograničenim spektrom dejstva na Gram negativne organizme. Koristi se veoma mnogo u humanoj medicini kao i u veterinarskoj praksi. Ipak, penicilinski antibiotici se uobičajeno ne smatraju ozbiljnom pretnjom zbog ograničene enzimatske aktivnosti β -laktamaze i nestabilnog β -laktamskog prstena, pri različitim pH vrednostima. Otvaranje ovog prstena uzrokuje gubitak efikasnosti i mikrobioloske aktivnosti penicilina.

Mada je amoksicilin uobičajeno detektovan u tragovima, njegovo neprekidno oslobađanje u životnoj sredini povećava mogućnost sinergije ovog antibiotika sa drugim lekovima ili drugim hemijskim supstancama. U postrojenjima za preradu i prečišćavanje gradskih otpadnih voda postoje dva stepena uklanjanja štetnih supstanci. Prvi stepen obuhvata adsorpciju zagađujućih supstanci, a zatim taloženje i uklanjanje čvrste supstance, dok drugi obuhvata aerobnu i anaerobnu biodegradaciju na aktivnom mulju. Pre nego što se otpusti u površinske vode, u nekim postrojenjima se otpadna voda i dezinfikuje, obično hlorisanjem ili ultraljubičastim zračenjem. Korisno je i svrsishodno primeniti delotvorni hemijski tretman da bi se odstranio amoksicilin iz vode. Kada se radi o uklanjanju zagađivača koji su u niskim koncentracijama prisutni u vodi,

fotokatalitički procesi omogućavaju potpunu oksidaciju organskih zagađivača u kratkom vremenskom periodu, bez nastajanja policikličnih produkata.

Azitromicin je polusintetski derivat eritromicina, antimikrobni lek sa širokom primenom u humanoj i veterinarskoj praksi. Prisutnost ovog antibiotika u životnoj sredini ima za posledicu produkciju rezistentnih lanaca bakterija koje su opasne jednako i za ljude i za životinje.

Na osnovu literaturnih podataka i hemijske strukture, azitromicin predstavlja stabilan molekul. Iz tih razloga veoma je značajno njegovo prisustvo u ekosistemu kao polutanta. Da bi se ispitale mogućnosti uklanjanja azitromicina iz ekosistema sprovedeni su postupci forsirane razgradnje, te su u tom smislu vođeni rastvori navedene aktivne materije bili podvrgnuti odabranim fotokatalitičkim i elektrohemijским degradacionim procesima. Ispitivana je indirektna oksidacija azitromicina na Ti/RuO₂ anodi u vodenom elektrolitu koji sadrži NaCl. Na elektrodi od staklastog ugljenika diferencijalno pulsno voltometrijskom (DPV) metodom je praćeno smanjenje koncentracije azitromicina kao posledica njegove degradacije u istom elektrolitu.

Na osnovu predhodno izloženog predmeta istraživanja, preliminarnih ispitivanja i publikovanih rezultata studija, cilj ove disertacije je da se primenom unapređenih procesa oksidacije-AOP, izvrši ispitivanje mogućnosti heterogene katalitičke degradacije amoksicilina kao predstavnika penicilinskih antibiotika. Proučavan je fenomen fotokatalitičke degradacije kroz praćenje pomenutog procesa u osvetljenoj suspenziji TiO₂. Ispitan je uticaj parametara pod kojima se odvija reakcija njegove katalitičke fotolize. Na prvom mestu su to početni pH rastvora, početna koncentracija supstrata i fotokatalizatora, uticaj prisustva neorganskih jona, odnosno uticaj prisustva organskog rastvarača. Pored toga identifikacija nastalih jona u procesu degradacije pruža važne informacije o stepenu razgradnje amoksicilina i njegovim ostacima u vodi. Naime evolucija heteroatoma u jone kao što su SO₄²⁻, NO₃⁻, i Cl⁻ pruža dokaze da je došlo do degradacije. Osnovni cilj istraživanja bio je usmeren na praćenje efekata eksperimentalnih parametara koji utiču na brzinu degradacije amoksicilina. Izvršeno je ispitivanje kinetike i pretpostavljeni su mehanizmi degradacije amoksicilina do CO₂, H₂O i mineralnih materija koje su prihvatljive za životnu sredinu.

Cilj predložene doktorske teze je bila mogućnost primene testiranog model sistema na prečišćavanje kontaminirane vodene sredine i izvođenje degradacije amoksicilina i azitromicina ka smanjenju nastajanja sporednih proizvoda štetnih po zdravlje ljudi.

U ovom istraživanju je dat sledeći naučni doprinos:

- proširivanje fundamentalnih znanja iz oblasti inženjerstva zaštite životne sredine;
- bolje razumevanje uticaja molekulske strukture odabranih antibiotika na efekat njihove degradacije;
- proučavanje uticaja operacionih parametara, na brzinu reakcija degradacije amoksicilina;
- razvijanje nove elektroanalitičke metode za detekciju azitromicina u vodenim elektrolitima u prisustvu NaCl;
- identifikacija glavnih intermedijernih vrsta i finalnih produkata i pretpostavljenom mehanizmu elektrohemijske degradacije azitromicina;
- odgovor da li je i kolikoj meri moguća mineralizacija ovih antibiotika;
- razvoj primene unapredjenih oksidacionih i elektrohemijskih procesa za otklanjanje polutanata iz različitih vodenih resursa i doprinos unapređenju zaštite životne sredine.

TEORIJSKI DEO

ZNAČAJ VODE I NJENOG VIŠENAMENSKOG KORIŠĆENJA

*“ Ono što je retko, skupo je. Voda kao najvažnija stvar na svetu, naprotiv, nema cenu.“
(Platon, 427-347.godine p.n.e)*

Prirodni resursi ili prirodni izvori predstavljaju prirodna dobra koja čovek koristi za svoje potrebe. Voda kao najosnovnija životna materija ima nemerljiv značaj za živi svet, ekosisteme i planetu Zemlju. Voda neprestano kruži u prirodi između Zemlje i atmosfere. To neprestano kruženje vode naziva se hidrološki ciklus. Kruženje vode na Zemlji važan je proces koji omogućuje održavanje života. Voda konstantno cirkuliše između atmosfere, okeana i kopna.

Voda koja se troši nalazi se na Zemlji već stotine miliona godina. Voda se kreće, pri tome menja pojavni oblik, konzumiraju je biljke i životinje, ali nikada stvarno ne nestaje. U kružnom putu vode pet je procesa: kondenzacija, padavine, infiltracija, oticanje i evapotranspiracija. Tih pet procesa zajedno čine hidrološki ciklus. Kao izvor vode za piće čovek koristi podzemne i površinske vode.

Čista pijaća voda je kapitalni resurs svake države. Najmanje se kao resursi vode za piće koriste podzemne vode koje se ne obnavljaju, tzv.“fossilne vode,, ili paleovode. To su vode koje su usled različitih procesa u Zemljinoj kori pod zemljom ostale zarobljene dugi niz godina – milionima godina. Kao voda za piće koristi se i voda koja se u zamrznutom obliku nalazi duboko ispod glečera.

Oko 1/10 kopnene površine Zemlje prekrivena je ledenim masama poznatim kao glečeri ili lednici, koji sadrže više od 75 % slatke vode (NMW – raspored i količine). Glečeri predstavljaju veliki rezervoar čiste vode na koju nisu uticale atmosferske promene, a čija budućnost zavisi od globalnog zagrevanja.

RESURSI I UGROŽENOST VODE ZA PIĆE U REPUBLICI SRBIJI

Republika Srbija je zemlja koja ne spada u zemlje siromašne vodom. Prema podacima Food and Agriculture Organization, on the United Nations – FAO (Organizacija Ujedinjenih nacija za hranu i poljoprivredu), Srbija se nalazi na 47 mestu od 180 zemalja, po količini i kvalitetu resursa vode. U Republici Srbiji je veoma nizak stepen istraženosti i eksploatacije prirodnih izvora, što stvara mogućnosti da se u ovoj oblasti razvije i popne na postojećoj rang listi FAO organizacije. Prema procenama stručnjaka rezerve čiste pijaće vode u Republici Srbiji kao i svuda svetu su ograničene. U Republici Srbiji ključni izvor zagađenja vode za piće predstavljaju gradske i industrijske otpadne vode.

Gradske otpadne vode se sastoje od upotrebljenih voda iz domaćinstava, ustanova, škola, ugostiteljskih objekata, i dr. koje su u nekim slučajevima pomešane sa industrijskim otpadnim vodama. Gradske otpadne vode sadrže različite supstance koje kada se neprečišćene ispuste u vodoprijemnik (reke, kanali, jezera), na različite načine zagađuju životnu sredinu. Da bi se smanjili negativni uticaji otpadnih voda na vodne resurse i životnu sredinu uopšte, neophodno je pre ispuštanja otpadne vode izvršiti njeno prečišćavanje. Prema EU direktivi vezanoj za upravljenje vodama i prečišćavanje otpadnih voda (EU Directive 91/271/EEC) organizovano odvođenje svih komunalnih otpadnih voda predstavlja trajnu obavezu države. Skupština Srbije je 2010. godine usvojila novi Zakon o vodama (Sl. gl. R. Srbije 30/2010) koji velikim delom usklađuje domaću regulativu sa regulativom Evropske unije i uvodi dugoročne obaveze sakupljanja i prečišćavanja gradskih otpadnih voda (princip zagađivač plaća).

MERE ZA ZAŠTITU VODA

Zaštita vode od zagađivanja sprovodi se radi omogućavanja neškodljivog i nesmetanog korišćenja voda, zaštite zdravlja ljudi, životinjskog i biljnog sveta. Stalno praćenje kvaliteta vode jedan je od preduslova za pokretanje adekvatnih akcija zaštite. Plan zaštite voda od zagađivanja u Republici Srbiji definisan je Pravilnikom o zaštiti voda od zagađivanja stav 1. objavljen u Službenom glasniku br. 30/2010. Plan zaštite voda od zagađivanja donosi Vlada, na predlog Ministarstva, za period od šest godina.

Ministarstvo svake druge godine, računajući od dana donošenja plana zaštite voda od zagađivanja iz stava 1. ovog člana, podnosi izveštaj Vladi o izvršenju tog plana.

PRISUSTVO I PONAŠANJE ANTIBIOTIKA U VODENOJ SREDINI

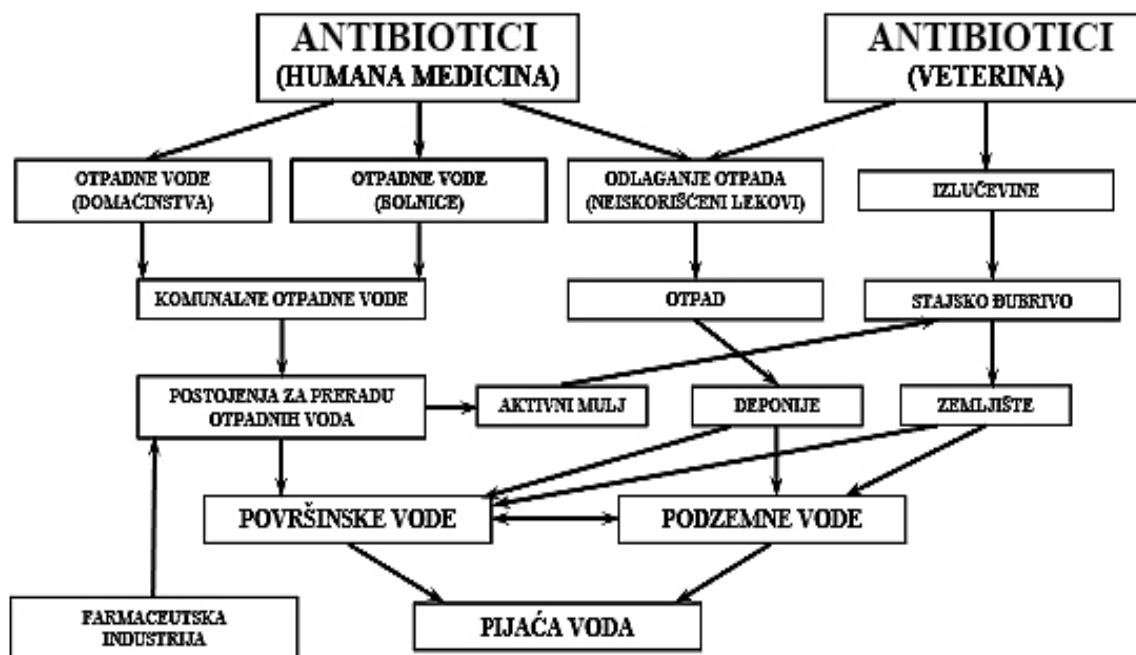
Savremena istraživanja u oblasti razgradnje zagađujućih supstanci u vodenoj sredini proširena su sa tradicionalnih zagađujućih supstanci, kao što su polihlorovani bifenili, policiklični aromatični ugljovodonici i pesticidi, na „nove zagađujuće supstance“ kao što su antibiotici i hormoni (Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Odjel za biologiju). Tragovi antibiotika u vodenoj sredini postali su poseban predmet interesovanja naučne javnosti u poslednjoj deceniji, s obzirom na to da niske koncentracije ovih analita ranije nisu mogle biti detektovane. Zbog ograničenog znanja o koncentraciji i degradaciji, tragovi antibiotika u vodi još uvek nisu zakonski regulisani.

Antibiotici dospevaju u vodenu sredinu, u najvećoj meri, kao posledica nepotpunog uklanjanja iz komunalnih otpadnih voda. Međutim, u Srbiji, u svega nekoliko gradova postoje postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda, a Beograd nije jedan od njih. Procesi prečišćavanja površinske i podzemne vode takođe ne mogu u potpunosti ukloniti antibiotike, pa se u tragovima mogu naći i u vodi za piće. Iako su njihove koncentracije u vodi izuzetno niske, reda veličine $\mu\text{g dm}^{-3}$ ili ng dm^{-3} , za razliku od ostalih zagađujućih supstanci, antibiotici su napravljeni tako da imaju efekte na čoveka pri niskim koncentracijama. Zbog toga njihov kontinualan unos u vodenu sredinu može dovesti do dugoročnih negativnih posledica po zdravlje čoveka i vodenih životinja (Planet Voda).

Najnovija istraživanja su pokazala da niske količine antibiotika u vodi utiču na sporiji rast ljudskih embriona, da mogu izazvati upalu krvnih ćelija i da ubrzavaju razmnožavanje ćelija raka dojke (Bor Plastika – industrijske otpadne vode). Kod životinja je dokazan negativan uticaj na reproduktivnu funkciju i mogućnost borbe protiv infekcija.

Poznato je da prisustvo antibiotika u životnoj sredini predstavlja problem zbog pojave rezistentnih bakterijskih sojeva. Ako se uzme u obzir da se u Evropskoj Uniji godišnje upotrebi oko 8500 t antibiotika u humanoj medicini i 4700 t u veterini, moguće je shvatiti zbog čega je ovo jedan od najaktuelnijih problema u hemiji životne sredine.

Antibiotici dospevaju u vodenu sredinu kao posledica intenzivnog i konstantnog korišćenja u humanoj medicini i veterini. Glavni izvori zagađenja površinskih i podzemnih voda aktivnim supstancama antibiotika su gradske i poljoprivredne otpadne vode, odnosno domaćinstva, bolnice i poljoprivredna zemljišta (Halling- Sørensen i sar.,1998; Robinson i sar., 2007). Na Slici 1 su prikazani mogući izvori zagađenja i putevi kojima antibiotici dospevaju u površinske i podzemne vode.



Slika 1. Putevi kojima antibiotici dospevaju u površinske i podzemne vode (Heberer 2002)

Najznačajniji put kojim antibiotici dospevaju u vodenu sredinu su komunalne otpadne vode. Nakon konzumiranja, u ljudskom organizmu antibiotik podleže nizu metaboličkih reakcija, pri čemu nastaju metaboliti, koji su često polarniji od polaznog jedinjenja. Metaboliti su rastvorljiviji u vodi, a time i često toksičniji od polazne supstance (Diaz-Cruz i Barceló, 2005). Antibiotici se izlučuju delimično transformisani, pri čemu se i do 50% izluči u neizmenjenom obliku (Hirsch i sar., 1999; Heberer 2002). U vodenoj sredini, kao i u procesima prečišćavanja, metaboliti se mogu transformisati u polazno jedinjenje (Ternes 2001, Weigel i sar., 2004). Sledeći važan izvor tragova antibiotika u vodenoj sredini su farme na kojima se oni intenzivno koriste za lečenje infekcija i preventivno, ali i kao dodatak hrani radi pospešivanja rasta životinja (Hirsch *et al.* 1999). Upotrebom stajskog đubriva, antibiotici se dalje mogu preneti na poljoprivredno zemljište, a ispiranjem zemljišta i u podzemne vode (Hartig i sar., 1999; Heberer 2002). Izvor zagađenja površinskih i podzemnih voda je i farmaceutska industrija, odnosno otpadne vode iz proizvodnje antibiotika. Ipak, ovo je lokalno zagađenje, koje ima uticaj na ograničeno područje (Hirsch i sar., 1999). Odlaganjem antibiotika kojima je prošao rok upotrebe na deponije može doći do zagađenja podzemnih voda usled spiranja ovakvog zemljišta (Jørgensen i Halling-Sørensen 2000). Degradacija antibiotika u vodenoj sredini zavisi od fizičko - hemijskih osobina aktivne supstance. Zbog postojanja raznih funkcionalnih grupa u molekulu, kao što su karboksilna, hidroksilna, aldehidna ili amino grupa, kapacitet adsorpcije molekula na čvrstoj matrici, kao što je sediment, zavisi od pH sredine i sastojaka čvrste matrice (Halling-Sørensen i sar., 1998, Robinson i sar., 2007).

Mnogi antibiotici su lipofilni, zbog čega lako prolaze kroz ćelijsku membranu i bioakumuliraju se u vodenim životinjama. U vodenoj sredini aktivna supstanca se može dalje degradirati putem abiotičkih i biotičkih procesa. Abiotičke transformacije se odvijaju putem hidrolize i fotolize (Tixier i sar., 2003). Pošto su antibiotici po pravilu otporni na hidrolizu, jer su predviđeni za oralnu upotrebu, obim ove reakcije je za većinu zanemarljiv. Najznačajniji način abiotičke transformacije antibiotika u površinskim vodama je direktna i indirektna fotoliza (Andreozzi i sar., 2003). Direktna fotoliza se javlja direktnom apsorpcijom sunčeve svetlosti, dok indirektna fotoliza uključuje prirodne materije, kao što su huminske kiseline, koje pod uticajem sunčevog

zračenja stvaraju jake oksidacione agense, koji zatim degraduju ostatke antibiotika. Sporedni proizvodi ovakve degradacije često mogu biti toksičniji od polazne supstance (Nikolaou i sar., 2007). Iako je postojanost antibiotika u životnoj sredini relativno mala, oni su sveprisutni zbog toga što je brzina kojom se otpuštaju u okolinu mnogo veća od brzine njihove degradacije i transformacije (Benz i sar., 2005). Od antibiotika, sulfonamidi i fluorohinoloni su najpostojaniji u životnoj sredini, zatim makrolidi, tetraciklini, aminoglikozidi i β -laktami (Huang i sar., 2001).

β -LAKTAMSKI ANTIBIOTICI

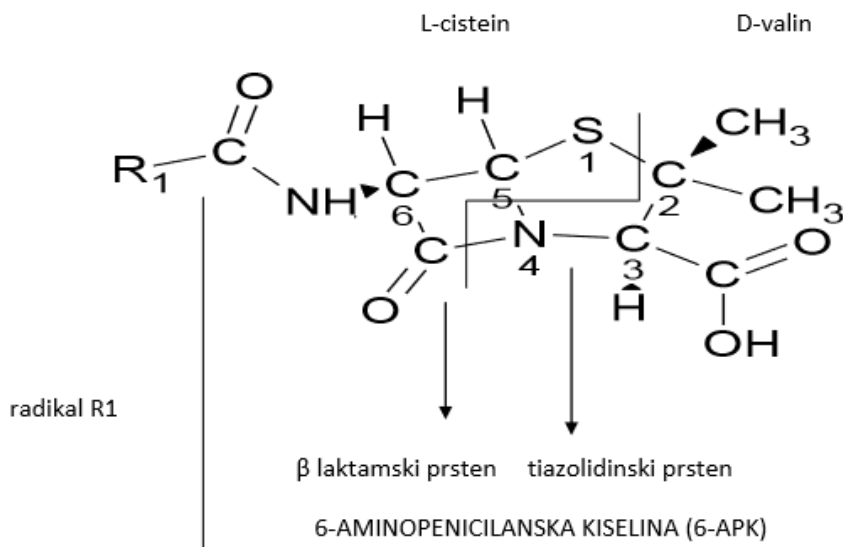
Kao antibiotici, β -laktami su najrasprostranjenija grupa lekova koji se zbog vrlo snažnog antimikrobnog delovanja i vrlo niske toksičnosti najčešće koriste u humanoj i veterinarskoj medicini prilikom lečenja bakterijskih infekcija. β -laktami su intramolekularni amidi sa jedinstvenim četvoročlanim β laktamskim prstenom u svojoj strukturi, koji je bitan za antibakterijsku aktivnost i može biti deo kondenzovanog bicikličnog sistema, pri čemu ova jedinjenja imaju povoljan odnos između terapijskih i toksičnih doza.

Penicilini

Slučajnim opažanjem sprečenog rasta bakterija u prisustvu plesni iz roda *Penicillium notatum* i *Penicillium chrisogenum*, 1928. g. Alexander Fleming otkrio je penicilin. Na početku penicilin je dobijen površinskom fermentacijom, a sada se isključivo dobija dubinskom fermentacijom u specijalnim fermentorima (Petrović i sar., 2005). Opsežne hemijske i fizičke studije pokazale su nedvosmisleno strukturu penicilina kao spojenog β -laktam-tiazolidin prstena, pri čemu ova dva prstena zaklapaju ugao od 120° , što je potvrđeno rentgenskom difrakcijom (Petrović i sar., 2005). Molekul penicilina sastoji se od jezgra i bočnog (R1) lanca.

Jezgro je poznato kao 6-aminopenicilanska kiselina koja se sastoji od dve aminokiseline, L-cisteina i D-valina spojenih u ciklički dipeptid (Slika 2). Bočni lanac R1 doprinosi različitosti penicilina s obzirom na fizička, hemijska i biološka svojstva (Clarke i sar., 1949).

Najosetljivije mesto je β -laktamska veza koja se u kiseljoj sredini raskida (Petrović i sar., 2005). Zbog toga se prirodni penicilin ne može primenjivati oralno već samo injekcijski. Dostupnost 6-aminopenicilanske kiseline omogućila je sintezu velikog broja novih polusintetičkih penicilina (Johnson i sar., 1966)



Slika 2. Osnovna struktura penicilina

Penicilini su danas jedni od najvažnijih antibiotika koji se odlikuju snažnim antimikrobnim delovanjem. Uz vrlo malu toksičnost i relativno veliku terapijsku širinu, prvi su izbor u lečenju infekcija uzrokovanih osetljivim uzročnicima.

Podela penicilina i farmakokinetika

S obzirom na hemijsku strukturu bočnog lanca koji se veže za 6-aminopenicilansko jezgro, penicilini se dele u tri osnovne grupe, a neke od njih dalje u podgrupe koje se međusobno razlikuju primarno po svom antimikrobnom spektru:

- penicilini s klasičnim uskim spektrom (penicilin G, penicilin V)
- penicilini delotvorni protiv stafilokoka koji proizvode β -laktamazu (nafcilin, kloksacilin, dikloksacilin, flukloksacilin)

- penicilini proširenog spektra delotvorni protiv Gram-negativnih mikroorganizama:
- aminopenicilini: ampicilin i amoksicilin
- karboksipenicilini: karbeniclin
- ureidopenicilini: azlocilin (Petri i sar., 2006)

Apsorpcija oralno primenjenog leka u velikoj se meri razlikuje kod različitih penicilina i delimično zavisi od njihove stabilnosti u kiselom medijumu i vezivanju za proteine.

Hrana smanjuje apsorpciju većine oralnih penicilina (amoksicilin je izuzetak), pa se stoga ovi lekovi moraju primeniti najmanje 1-2 sata pre ili nakon obroka. Penicilini su široko rasprostranjeni u tkivnim tečnostima i tkivu, uz nekoliko izuzetaka. S obzirom na to da su polarni molekuli, njihova koncentracija u ćelijama mnogo je niža od one u vanćelijskim tečnostima. Koncentracije penicilina u većini tkiva jednake su onoj u serumu. Penicilini se izlučuju u slini i mleku u koncentracijama koje čine 3-15% koncentracije leka u serumu. Brzo se izlučuju preko bubrega, a male se količine izlučuju drugim putevima (Katzung i sar., 2011)

Reakcije hidrolize β -laktamskih antibiotika

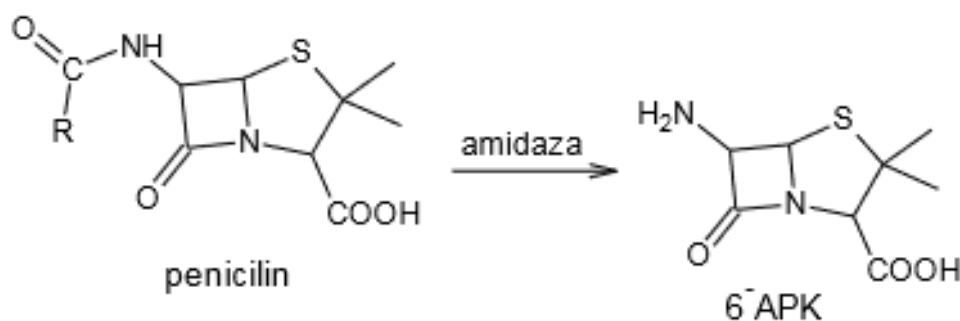
Hidrolitičke reakcije su česte reakcije biotransformacije kod metabolizma lekova. Hidrolizom lekova često se delimično ili potpuno gubi delovanje leka, ali se ovom reakcijom može i osloboditi aktivan oblik iz neaktivnog oblika leka (prolek). Reakcijama hidrolize menjaju se fizičko-hemijske osobine lekova, kao na primer povećava se rastvorljivost u vodenoj sredini i kiselost. Promena ovih parametara utiče na ukupnu sudbinu leka u organizmu, kroz promenu distribucije, metabolizma i eliminacije leka. Prema opšte prihvaćenom načelu, što je neki lek postojaniji prema hidrolitičkoj razgradnji, veće mu je poluvreme zadržavanja u organizmu, tj. $t_{1/2}$, a prema tome i duže delovanje.

Hidroliza lekova se može odvijati posredovanjem enzima ili neenzimski, što uglavnom zavisi od strukture supstrata. Enzimi koji katalizuju hidrolitičke reakcije nazivaju se hidrolaze. Oni se dele prema strukturnim karakteristikama i nazivima preovladavajućih supstrata, a najznačajniji su karboksil-esteraze, holin-esteraze, aril-esteraze, sterol-

esteraze, epoksid-hidrolaze, fosfataze i peptidaze. Najčešći supstrati hidroliza, pri biotransformacijama lekova su estri i amidi. Hidrolizom estara i amida nastaju karboksilne kiseline i alkoholi, odnosno amini. Na brzinu hidrolize veliki uticaj imaju veličina, položaj i dužina lanca supstituenta u blizini estarske odnosno amidne veze i elektronska svojstva supstituenta u molekuli supstrata (Rendić i sar., 2013).

Enzimska hidroliza penicilina i nastajanje 6-APK

Acil radikal na aminogrupi (R-NH) β -laktamskog prstena može se raskinuti pomoću enzima amidaze. Tako nastaje 6-aminopenicilinska kiselina koja je polazna supstanca za sintezu polusintetskih penicilina (Kunec-Vajić i sar., 1993) (Slika 3)

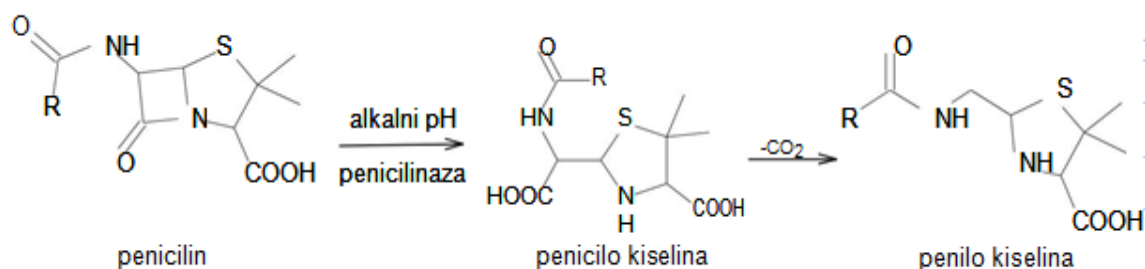


Slika 3. Enzimska hidroliza penicilina i nastajanje 6-APK

Penicilin je molekul koji sadrži nestabilnu, veoma reaktivnu β -laktamsku amidnu vezu. Razgradnja penicilina se može odvijati u različitim uslovima, to jest. alkalnim ili kiselim sredinama, u prisustvu enzima β -laktamaze ili reakcijom sa slabim nukleofilima poput vode i jona metala.

Stabilnost penicilina u baznoj sredini

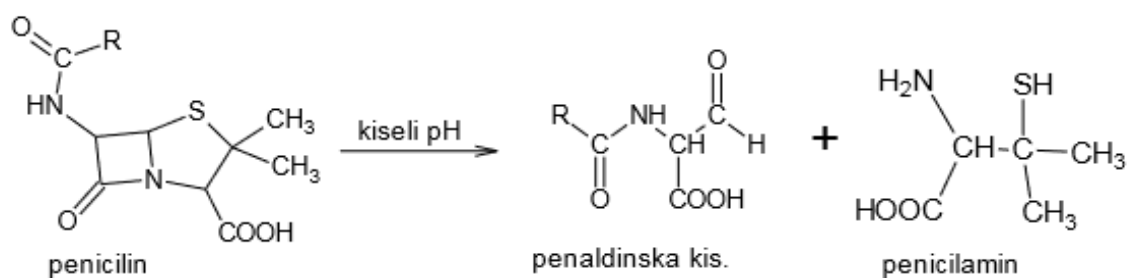
Penicilini se brzo razgrađuju u baznoj sredini pri čemu se raskida amidna veza i nastaje penicilo kiselina, koja dekarboksilacijom prelazi u penilo kiselinu (Slika 4), čime dolazi do potpune inaktivacije (Deshpandei sar., 2004) Penicilini pod uticajem β -laktamaze (penicilinaze) u bakterijama prelaze u inaktivnu penicilo kiselinu (Slika 4).



Slika 4. Razgradnja penicilina u baznoj sredini

Stabilnost penicilina u kiseljoj sredini

Spregnuti β -laktamski prsten i amidna veza se raskidaju u kiseljoj sredini, dajući niz kompleksnih proizvoda. Konačni proizvodi razgradnje su penaldinska kiselina i penicilamin (Deshpandei sar., 2004) (Slika 5).



Slika 5. Razgradnja penicilina u kiseljoj sredini

Tri su parametra kod penicilina G odgovorna za nestabilnost u kiseljoj sredini:

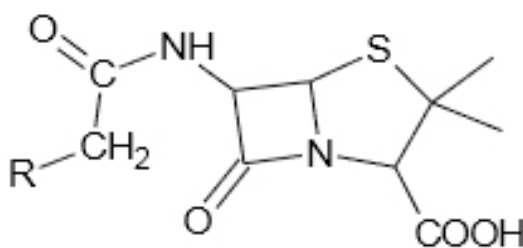
- *prstenasta struktura*: postoji velika torzijska napetost zbog bicikličke strukture penicilina, a ta napetost se smanjuje u kiseljoj sredini jer dolazi do kiselinski kataliziranog otvaranja spregnutog β -laktamskog prstena.
- *visoko reaktivna karbonilna grupa β -laktamskog prstena*: karbonilna grupa β -laktamskog prstena podložna je nukleofilnom napadu i ne ponaša se tipično za tercijarni amid, jer je tercijarni amid stabilan prema nukleofilnom napadu zbog susjednog

kiseonikovog atoma. Atom kiseonika i karbonilna grupa tercijarnog amida stvaraju dipolarnu rezonantnu strukturu sa uglom od 120° između veza. Takva stabilizacija nije moguća u β -laktamskom prstenu jer bi došlo do povećanja ugaone napetosti i stvaranja dvostruke veze unutar prstena. Kao rezultat slobodan elektronski par ostaje na atomu kiseonika β -laktamskog prstena, zbog čega je karbonilna grupa β -laktamskog prstena puno elektrofilnija nego što bi se očekivalo za tercijarni amid (Graham 2013).

- *acilni bočni lanac*: susedna acilna grupa u strukturi penicilina G, aktivno učestvuje u mehanizmu otvaranja β -laktamskog prstena (Tsukinaka i sar., 1974).

Uticaoj strukture na biološku aktivnost penicilina

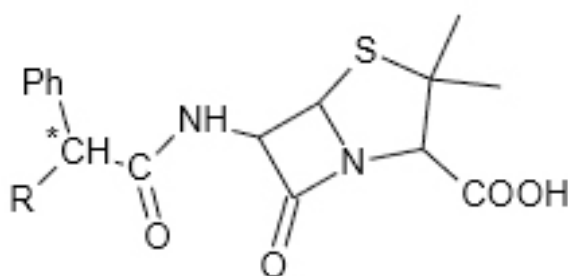
Monosupstituisani metilpenicilini (Slika 6) uopšteno imaju dobru aktivnost protiv većine Gram- pozitivnih bakterija, kao što su streptokoke i mnogi stafilokoke. Koncentracije od $0,01 \mu\text{g/mL}$ ili manje postaju inhibitorne kada se u bočnom lancu nalazi fenilna grupa (penicilin G), heterociklička grupa slične veličine ili fenoksi- grupa (penicilin V). Nažalost, ovi penicilini nisu delotvorni protiv sve učestalijih rezistentnih sojeva stafilokoka koji proizvode β -laktamazu, enzim koji katalizuje hidrolitičko otvaranje β -laktamskog prstena dajući pri tome biološki neaktivnu penicilo kiselinu.



Slika 6. Monosupstituisani metilpenicilin

Značajnije promene antibakterijske aktivnosti su dobijene kod penicilina koji sadrže drugi supstituent na α -poziciji (Slika 7). Blaga aktivnost penicilina G protiv Gram-negativnih organizama poboljšana je uvođenjem hidrofilnih nejoni-zovanih α -supstituenata, kao što su hidroksi- i ureido- grupe.

Međutim, uvođenjem amino- (ampicilin) ili aminometilne grupe kao α -supstituenta postiže se puno veće poboljšanje aktivnosti. Ipak, aktivnost ovih penicilina je ograničena samo na neke Gram-negativne bakterije kao što su salmonella, shigella, haemophilus i neke vrste escherichia coli i proteus. Ampicilin i slični aminopenicilini su osjetljivi na stafilokokne β -laktamaze. Anjonski α -supstituenti kao što su karboksil- (karbenicilin) ili sulfatne grupe povećavaju spektar delovanja na ampicilin rezistentne vrste proteusa i pseudomonasa. Aktivnost većine penicilina iz ove grupe protiv Gram-pozitivnih bakterija je dobra.



Slika 7. α -supstituisani benzilpenicilin

Preostala važna grupa penicilina je ona u kojoj je karbonilna grupa amidne veze povezana direktno s karbocikličkim ili heterocikličkim prstenom. Fenilpenicilin, prvi penicilin iz ove grupe je manje aktivan od benzilpenicilina i neaktivan protiv Gram-negativnih bakterija. Međutim, uvođenje orto supstituenta na fenilnu grupu dovodi do sterne smetnje oko amidne veze što uveliko smanjuje afinitet za aktivno mesto β -laktamaze. Jedan orto supstituent, ako je odgovarajuće dužine kao npr. karboksil- ili fenil- grupa, omogućuje aktivnost protiv rezistentnih stafilokoka, ali najbolji rezultati su dobijeni s dva orto supstituenta Prvi dobijeni penicilin s dobrom aktivnošću protiv rezistentnih staflokoka in vitro kao i in vivo je 2-6-dimetoksifenilpenicilin, odnosno meticilin. Sterni lanac može biti biciklički (kao kod nafcilina) ili heterociklički, ali stepen antibakterijske aktivnosti se razlikuje između različitih prstenova (Nayler 1971).

Penicilini stabilni u kiselinama

Smanjena osetljivost penicilina u kiseljoj sredini veliki je izazov, s obzirom da su dve od tri karakteristike penicilina koje su uzrok toj nestabilnosti esencijalne za aktivnost. Kao rešenje ostaje modifikacija treće karakteristike odnosno smanjenje sudelovanja susednih grupa u mehanizmu otvaranja β -laktamskog prstena. To se postiže uvođenjem grupa u bočni lanac koje imaju svojstvo privlačenja elektrona s karbonilnog kiseonika pri čemu se smanjuje njegova nukleofilnost.

Fenoksimetilpenicilin (penicilin V) poseduje kiseonik koji ima svojstva privlačenja elektrona na acilnom bočnom lancu. Njegov molekul se pokazao stabilnijim u kiselinama od penicilina G što je omogućilo i oralnu primenu tog penicilina. Takođe, penicilini koji posjeduju supstituent koji privlači elektrone na α -ugljenikovom atomu bočnog lanca su pokazali stabilnost prema hidrolizi u kiselinama i mogu se primenjivati oralno, kao na primer ampicilin. Može se zaključiti da je rešenje za nestabilnost penicilina u kiselinama uvođenje elektron privlačeće grupe na acilni bočni lanac u strukturi penicilina (Graham 2013).

Penicilini otporni na β -laktamazu

Otpornost penicilina prema β -laktamazama najviše zavisi od strukture bočnog lanca (Tsukinaka i sar., 1974). Strategija „sterne smetnje“ se koristila uspešno za sprečavanje vezivanja penicilina za aktivno mesto enzima, a zasnivala se na postavljanju velike grupe u bočni lanac strukture penicilina. Grupa je morala biti tolike veličine da ne ometa vezivanje penicilina na ciljani enzim (transpeptidazu) i da onemogući vezivanje β -laktamaze. Meticilin je prvi dobijeni polusintetički penicilin otporan na *S. aureus* β -laktamazu. Njegov „sterni štiti“ čine dve metoksi- grupe u orto položaju na aromatičnom prstenu bočnog lanca. Ali, meticilin nije idealan lek, ne poseduje elektron privlačnu grupu u bočnom lancu zbog čega je osetljiv na kiselinu i mora se parenteralno primenjivati. U novije vrijeme postoje mnogo bolji antibiotici pa meticilin nije više u kliničkoj upotrebi. Nafcilin je takođe otporan na β -laktamaze, sadrži naftalenski prsten kao „sterni štiti“. Nažalost, 96% bolničkih sojeva *s.aureus* je rezistentno na ove

peniciline zbog sposobnosti mutacije enzima transpeptidaze. Te su bakterije poznate kao MRSA, to jest, meticilin rezistentni *S. aureus* (Graham 2013).

Penicilini širokog spektra delovanja

Spektar delovanja penicilina zavisi od njihove strukture, sposobnosti prolaska kroz ćelijsku membranu Gram-negativnih bakterija, osetljivosti prema β -laktamazama i afinitetu za transpeptidaze. Svaki od tih činilaca je od različite važnosti za različite bakterijske vrste što pokazuje da ne postoji jedinstvena metoda za poboljšanje spektra delovanja. Ipak su varijacijama bočnih lanaca dobijeni određeni rezultati. Prisutnost hidrofobne grupe preferira aktivnost protiv Gram-pozitivnih bakterija, dok je aktivnost protiv Gram-negativnih minimalna. Ako se povećava hidrofobni karakter molekula leka, smanjuje se i aktivnost protiv Gram-pozitivnih bakterija. Hidrofilne grupe nemaju značaj za Gram-pozitivnu aktivnost ili je smanjuju, no znatno povećavaju Gram-negativnu aktivnost. Prisustvo hidrofilne grupe vezane za ugljenik na α -položaju prema karbonilnoj grupi bočnog lanca povećava Gram-negativnu aktivnost (Graham 2013).

Penicilini koji poseduju Gram-pozitivnu i Gram-negativnu aktivnost su poznati kao penicilini širokog spektra delovanja i dele se u tri grupe od kojih svaka poseduje α -hidrofilnu grupu u bočnom lancu:

Aminopenicilini: amoksicilin i ampicilin imaju sličnu strukturu i spektar delovanja, aktivniji su od penicilina G protiv Gram-negativnih koka i enterobakterija (Katzung i sar., 2011). Zbog prisustva elektron privlačne amino grupe, stabilni su u kiselinama i mogu se primenjivati oralno, no slabo se apsorbuju zbog prisustva hidrofilne amino i karboksilne grupe, s tim da se amoksicilin bolje apsorbuje (Graham 2013). Imaju jednaki antibakterijski spektar i aktivnost i koriste se kao prva linija u lečenju infekcija (Katzung i sar., 2011)

Karboksipenicilini: karbenicilin je prvi primer ove grupe, poseduje široku antibakterijsku aktivnost zbog hidrofilne karboksilne grupe u bočnom lancu, nestabilan je u kiselinama i mora se primeniti parenteralno (Graham 2013). Prvi je penicilin aktivan protiv *P. aeruginosa*, ako se uporedi sa ampicilinom aktivniji je protiv Gram-

negativnih bakterija, ali zaheva veće doze. U primeni je najviše njegov prolek indanil karbenicilin koji se primenjuje oralno za urinarne infekcije (Katzung i sar., 2011).

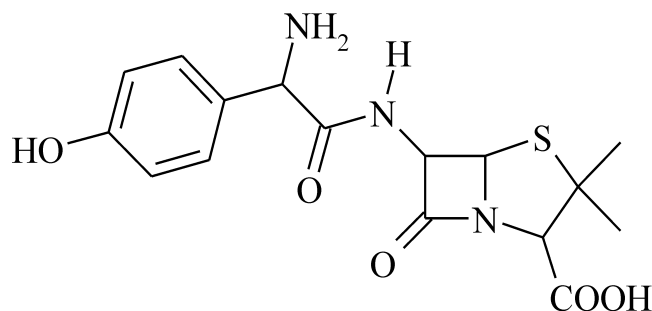
Ureidopenicilini: najnovija grupa penicilina širokog spektra delovanja koja poseduje urea funkcionalnu grupu na α -poziciji. Moraju se primenjivati parenteralno, ali zbog dobre antibakterijske aktivnosti zamenili su karboksipeniciline u kliničkoj praksi. Ureidopenicilin azlocilin je 2-4 puta aktivniji protiv *p. aeruginosa* od karbenicilina i primarno se koristi za tretiranje infekcija tog uzročnika (Graham 2013).

Amoksicilin

Amoksicilin je četvrti najprodavaniji generički lek na svetu, sa količinom potrošnje od 1,1 milion kilograma, 52,3 miliona prepisanih recepata i 2,41 milijardi dolara vrednom prodajom na godišnjem nivou (FiercePharma), što svedoči o velikoj upotrebnoj vrednosti i, zbog toga, velikom zagađivačkom potencijalu ovog β -laktama.

Po strukturi je derivat ampicilina, sa jedinom razlikom u vidu fenolne grupe, sa istim antibakterijskim spektrom ali sa nekim prednostima: oralno primenjen, amoksicilin se značajno bolje apsorbuje od ampicilina, mada razlozi za ovo nisu poznati, hrana ne smanjuje resorpciju, postiže više koncentracije u plazmi, daje se u manjim dozama, i ima veću efikasnost. Spada u peniciline (proširenog spektra dejstva) i u toj grupi je najčešći izbor kada je reč o oralnoj primeni, jer je stabilan u kiseloj sredini, dobro apsorbuje u poređenju sa drugim sličnim antibioticima, i generalno se dobro podnosi.

Podložan je degradaciji u prisustvu nukleofila i β -laktamaze (penicilinaza koju stvaraju bakterije) pa se često kombinuje sa inhibitorom istih, najčešće klavulonskom kiselinom, i takvi preparati su efikasni protiv stafilokoknih infekcija kao i infekcija koje izazivaju *e.coli* i *h.influenzae*. Amoksicilin u kombinaciji sa metronidazolom koristi se u kurama za eradikaciju *helicobacter pylori* i terapiju ulkusne bolesti (Kažić, 2001)



Slika 8. Strukturna formula amoksicilina

Amoksicilin (Slika 8), kao i svi penicilini, inhibira sintezu ćelijskog zida bakterija. Vezuje se za enzime transpeptidaze, uz otvaranje laktamskog prstena, i time sprečava formiranje postojanih peptidnih veza između lanaca peptidoglikana. Ovo smanjuje integritet i modifikuje permeabilnost ćelijskog zida, pa se smatra da amoksicilin deluje baktericidno.

Uvođenjem amino grupe u bočni niz, povećava se polarnost molekula pa i u izvesnoj meri proširuje spektar dejstva na Gram-negativne bakterije. Amoksicilin je primarno prilagođen oralnoj primeni, i dostupan je u vidu tableta, kapsula i sirupa najčešće u obliku amoksicilin-trihidrata (Amoksicilin®, Sinacilin®...). 95% unete količine se apsorbuje iz digestivnog trakta i oko 30% metaboliše u jetri. Metaboliti i lek u neizmenjenom obliku izlučuju se gotovo isključivo putem urina. Osim oralne, natrijumova so amoksicilina primenjuje se i intravenski. Terapijske doze kod odraslih variraju između 750 i 1500 mg dnevno. Dostupan je prolek amoksicilina — pivampicilin (pivaloiloksimetilestar amoskicilina) — koji ima bolju bioraspoloživost kod per os primene.

Upotreba amoksicilina indikovana je kod infekcija gornjih respiratornih organa i uha izazvanih podložnim vrstama pneumokoka, stafilokoka i hemofilusa, zatim, kod infekcija urinarnog trakta, streptokoknih infekcija donjeg respiratornog trakta i gonoreje. Efikasan je primarno kod Gram-pozitivnih bakterija.

Preparat sa dodatkom klavulanske kiseline (Amoksiklav®, Panklav®...) može se primenjivati kod sojeva koji luče β -laktamazu, ali je neophodno prethodno uraditi antibiogram. Osim reakcija preosetljivosti koje se mogu javiti kod primene penicilina u kom slučaju je upotreba kontraindikovana, amoksicilin se dobro podnosi. Mogu se javiti lakše alergijske reakcije u vidu promena na koži. Pojava osipa uglavnom zahteva prekid terapije.

Drugi neželjeni efekti su ograničeni na lakše stomačne tegobe. Kod primene preparata sa klavulanskom kiselinom mogu se javiti i drugi neželjeni efekti, uglavnom holestatična žutica ili hepatitis samoograničavajućeg karaktera.

MAKROLIDNI ANTIBIOTICI

Makrolidni antibiotici dugi niz godina predstavljaju predmet intenzivnih analitičkih, elektrohemijskih i spektroskopskih proučavanja u cilju produbljivanja znanja o efikasnosti njihovog delovanja, a time i proširenju aspekata antimikrobnih i farmakokinetičkih svojstava ali i razvijanju metoda za njihovu efikasnu degradaciju u sistemima životne sredine. Makrolidi pripadaju klasi prirodnih proizvoda, poliketida. Osnovu njihove strukture čini makrociklični laktonski prsten sa 14 do 16 ugljenikovih atoma koji je odgovoran za antibiotsko delovanje, a za koji je najčešće vezan glikozidnom vezom jedan ili više dezoksi šećera kao što su kladinoza i dezosamin.

Prisustvo amino grupe daje makrolidima karakter slabih baza. Prvi i najviše upotrebljavani makrolidni antibiotik, eritromicin, izolovan je kao produkt fermentacije kulture *Saccharopolyspora erythraea*. Efikasan je prema onim mikroorganizmima koji su otporni na dejstvo penicilina, streptomicina, tetraciklina i drugih antibiotika. U grupu makrolidnih antibiotika odobrenih za upotrebu od strane FDA (Američka agencija za hranu i lekove-Food and Drug Administration) spadaju: azitromicin, klaritromicin i eritromicin, roksitromicin, telitromicin i dritomicin. Grupi makrolida prema hemijskoj strukturi pripadaju i takrolimus, pimekrolimus i sirolimus, koji ne poseduju antibiotsko dejstvo, ali se koriste kao imunomodulatori i imaju aktivnost sličnu kao ciklosporin.

Mehanizam delovanja makrolida je inhibicija sinteze proteina u bakterijama vezivanjem za bakterijsku 50S subjedinicu ribozoma. To se ostvaruje tako što se makrolidi upliću u translokaciju peptidil-transportne ribonukleinske kiseline na ribozomima i time

zaustavljaju sintezu proteina u bakterijskim ćelijama što na kraju dovodi do njihove smrti. Njihovo dejstvo može biti baktericidno ili bakteriostatsko, što zavisi od koncentracije leka i tipa mikroorganizama (Nie i sar., 2014).

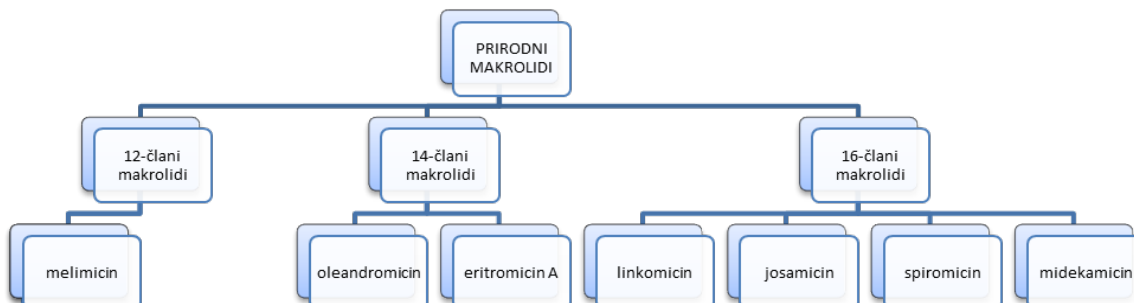
Obzirom na relativno širok spektar delovanja, mogućnost oralne primene i neškodljivost, makrolidni antibiotici zauzimaju važno mesto u lečenju zaraznih bolesti. U kliničkoj praksi su najzastupljeniji eritromicin, klaritromicin i azitromicin. Zbog sličnog antibakterijskog spektra sa prirodnim penicilinima primena makrolidnih antibiotika se svodi na tretiranje infekcija uzrokovanih Gram pozitivnim bakterijama kao što su: streptococcus sp., staphylococcus sp., clostridium perfringens, corynebacterium diphtheriae i listeria monocytogenes. Takođe, ispoljavaju delovanje i na Gram negativne koke kao što su neisseria meningitidis i neisseria gonorrhoeae, Gram negativne aerobne bacile pasteurella multocida, bordetella pertussis, legionella sp. i campylobacter sp. Makrolidi deluju antibiotski i na sojeve mikoplazme, borelije i hlamidija, dok na haemophilus influenzae, ureplasma sp. i toxoplasma sp. deluju klaritromicin i azitromicin (Skalasky i sar., 2013; Asadi i sar., 2012).

Rezistencija na makrolidne antibiotike se razlikuje u različitim regionima sveta, ali se ona stalno povećava. Rezistentni mikroorganizmi umanjuju ulazak makrolida u ćelije i izazivaju promene na ribozomima pod uticajem enzima metilaze koji sprečavaju vezivanje leka, dok enterobakterije hidrolizuju makrolide esterazama. Rezistencija se razvija relativno sporo i može biti potpuna ili delimična-ukrštena rezistencija (Hackel i sar., 2013).

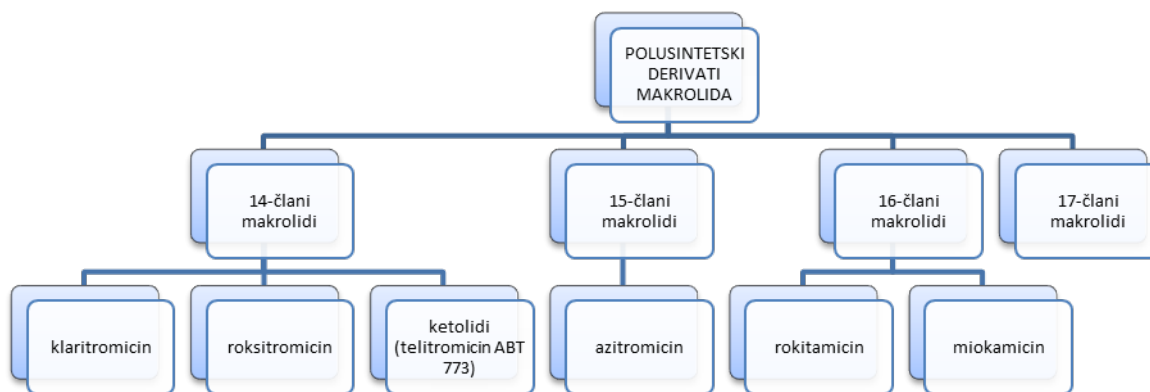
Hemijska struktura i podela

Strukturu makrolida karakteriše visokosupstituisan makrociklički laktonski prsten, aglikon (kojeg formiraju atomi ugljenika i heteroatoma), na čije su hidroksilne grupe glikozidno vezani jedan ili više šećernih supstituenata. Makrolidni antibiotici su kristalne supstance (bele ili blede žute boje), slabo rastvorne u vodi, slabe baze nereaktivne u srednje jakim kiselinama (Retsema i Fu, 2001).

Zavisno od veličine laktonskog prstena makrolidi se dele u nekoliko grupa (Slika 9).



Slika 9. Podela makrolida u zavisnosti od veličine laktoskog prstena (Ivetić-Tkalčević i Dominis-Kramarić, 2012)



Karakteristika prirodnih makrolida je prisustvo 12-, 14- ili 16 atoma u makrocikličkom laktoskom prstenu, na koji se može vezati nekoliko amino šećera. Šećeri koji su vezani za makrociklični prsten su važni za dejstvo i farmakokinetičke osobine. Prvi šećer sadrži amino grupu koja se može protonovati, utiče na katjonski karakter svih makrolida i određuje farmakokinetiku. Drugi šećer je veoma važan za kliničku aktivnost, jer se njegovim uklanjanjem aktivnost smanjuje (Mulazimoglu i sar., 2004). Modifikovanje

makrolidnih antibiotika utiče na njihovu aktivnost i na promenu farmakokinetike (Gonzales - Pinera i sar., 1998). U kliničkoj praksi najefikasnijim su se pokazali 14- i 16-člani makrolidi.

Mehanizam i mesto delovanja

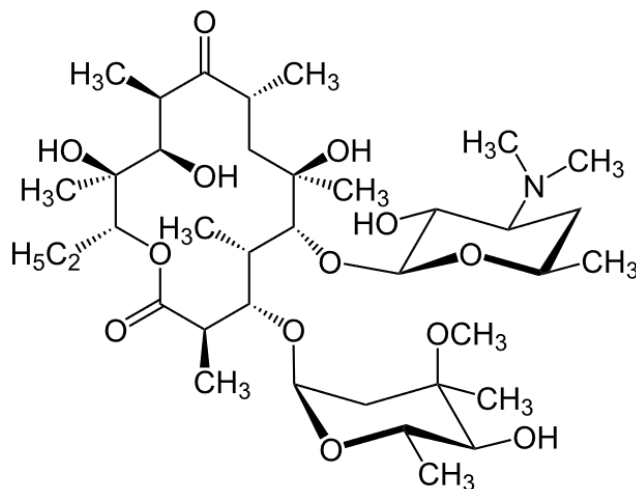
Makrolidi su antibakterijske supstance koje sprečavaju sintezu proteina. Deluju na bakteriju kad je u stanju deobe i to tako što se vezuju za 50S ribozomalnu podjedinicu sprečavajući translokaciju peptidnog lanca od akceptora do donora (Mulazimoglu i sar., 2004; Gonzales - Pinera i sar., 1998; Retsema i Fu, 2001).

Sprečavanje translokacije na 50S podjedinici je povezano aktivnošću peptidil transferaze. Poliribozomi funkcionišu normalno, ali je njihova distribucija na mRNK ometena.

Zaključak je da se inhibicija dešava pri translaciji između inhibicije i elongacije (Champney i Burdine, 1995). Bakterijski ribozom (70S) se sastoji od dve podjedinice nazvane 30S i 50S koje se sastoje od ribozomalne RNK (r RNK) i ribozomalnih proteina. 30S podjedinica vezuje informacionu RNK (m RNK) i započinje sintezu proteina. Prepoznavanje kodona između informacione i transportne RNK dešava se na 50S podjedinici pri čemu se vezuje t RNK i kontroliše elongacija peptida (Champney i Burdine, 1995; Gaynor i Mankin 2003; Takashima 2003). Pretpostavlja se da se makrolidi vezuju na dva mesta na izlazu 50S ribozomalne podjedinice čime sprečavaju da peptidni lanac izađe iz ribozoma do centralnog mesta sinteze, odnosno ometaju elongaciju peptidnoglanca pomoću sterne smetnje (Mulazimoglu i sar., 2004; Gonzales - Pinera i sar., 1998; Retsema i Fu, 2001). Pravi mehanizam delovanja makrolidnih antibiotika na sprečavanje širenja bakterija je još uvek nepoznat. Može se reći da se makrolidi vezuju na dva mesta 50S ribozomalne podjedinice i sprečavaju transpeptidizacioni i translokacioni proces uzrokujući prerano odvajanje nezavršenog peptidnog lanca i smrt ćelije (Retsema i Fu, 2001; Champney i Burdine, 1995, Takashima 2003).

Razlog za veliku efikasnost makrolidnih antibiotika prema Gram pozitivnim bakterijama najverovatnije leži u vezivanju za dva izlazna mesta 50S ribozomalne podjedinice (Champney i Burdine, 1995).

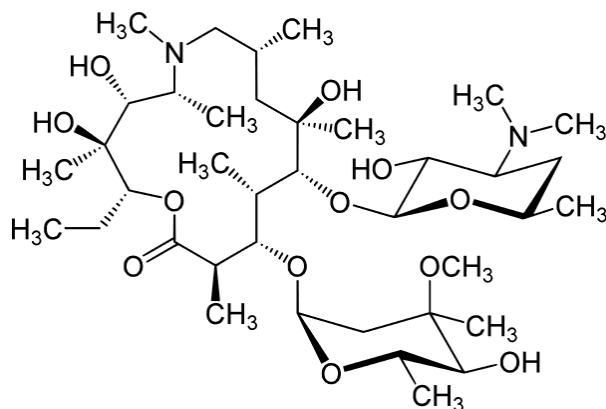
Hemijska struktura i svojstva eritromicina



Slika 10. Strukturna formula eritromicina

Prvi predstavnik grupe makrolidnih antibiotika je eritromicin, otkriven 1952. godine. Dobija se mikrobiološkim postupkom ekstrakcije od kulture gljivice *Streptomyces erythreus*, pri čemu se dobija smeša proizvoda. Kada se kaže eritromicin misli se na eritromicin A (glavni proizvod), a smeša sadrži i primese B i C. Osnovu molekula čini aglikoneritronolid (makrociklični lakton od 14 atoma u ciklusu, od kojih 13 C atoma i 1 kiseonikov atom (Slika 10) , pri čemu je amino šećer dezozamin vezan α glikozidnom vezom za hidroksilnu grupu C-5 atoma na prstenu, a neutralni šećer L-kladinoza (3-O-metilmikaroz) α glikozidnom vezom za hidroksilnu grupu C-3 atoma na prstenu (Slika 10). Tercijarna amino grupa u dezozaminu uslovljava da se eritromicin ponaša kao baza. Eritromicin u čvrstom stanju je svetlo-žuti prašak, odnosno bezbojni ili žuti kristali, slabo rastvorni u vodi, slabo higroskopni, lako rastvorljivi u alkoholu, umereno rastvorni u metanolu, a rastvorni u hlorovodoničnoj kiselini. Molekulska formula ovog jedinjenja je $C_{37}H_{67}NO_{13}$ (Jugoslovenska farmakopeja, 2000). U upotrebi se nalazi u formi njegovih estara i to: estolata, etilsukcinata i stearata. Estri eritromicina su acidorezistentni i dobro se resorbuju iz digestivnog trakta, ne prodiru u CNS (centralni nervni sistem) i koncentrišu se u fagocitima u koncentracijama 30-50 puta višim nego u plazmi. Poluvreme eliminacije ovog antibiotika iznosi 2 h, najvećim delom se metaboliše u jetri, a izlučuje se putem žuči. Antimikrobni spektar eritromicina veoma je sličan penicilinu i dokazana je njegova efikasnost i bezbednost kao zamene, kod pacijenata osetljivih na penicilin (Sabo i sar. 2014).

Hemijska struktura i svojstva azitromicina



Slika 11. Strukturna formula azitromicina

Azitromicin je 1981. godine patentirala hrvatska farmaceutska kompanija "Pliva". Ovaj polusintetski makrolidni antibiotik čiji je broj prepisanih recepata 52,6 miliona na godišnjem nivou (WebMD - The 10 Most Prescribed Drugs) pripada grupi makrolidnih antibiotika sa petnaestočlanim makrocikličnim prstenom za koji su α -glikozidnom vezom na poziciji C-3 i C-5 vezani šećeri kladinoza i dezozamin. Razlikuje se od ostalih makrolida po tome što ga karakteriše azalidna struktura (Slika 11). Azitromicin je bela praškasta supstanca. Postoji u obliku dihidrata i monohidrata, pri čemu se monohidrat taloži smešom voda/etanol=1/1. Pri rastvaranju prelazi u dihidrat. Molekulska formula azitromicina je $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$. Azitromicin je dibazan makrolidni antibiotik. Prisustvo drugog azota u strukturi uslovljava tu dibaznost, a zbog nje se azitromicin akumulira u belim krvnim zrnima zarobljavanjem u lizozomima (Amsden 2001). U odnosu na eritromicin odlikuje se većom stabilnošću prema kiselinama, ne dolazi do građenja ketala i drugih degradacionih proizvoda, ima proširen spektar dejstva i poboljšane farmakokinetičke osobine, kao i bolju oralnu primenljivost. Prema metabolizmu ovaj antibiotik se ponaša kao i roksitromicin, tj. metabolizam ne ide preko citohroma RU450 (The New Zealand Hospital Pharmacists' Association (NZHPA)). Usled velike stabilnosti makrolidnog nukleusa tokom metaboličkih promena eliminiše se najvećim delom u nepromenjenom obliku putem žuči (Vladimirov i Živanović-Stakić 2006, Drugs.com - Erythromycin Uses, Dosage & Side Effects). Azitromicin se uzima jedanput dnevno u trajanju 3 do 5 dana s tim da zbog akumuliranja u ćeliji ima

produženo dejstvo i po prestanku uzimanja leka. Azitromicin ima sličan antibakterijski spektar ostalim antibioticima iz ove grupe, ali se izdvaja od njih po karakteristikama da se u krvi koncentriše u leukocitima. U slučaju infekcija leukociti se kreću ka mestu upale, a sa njima i azitromicin usled čega se prenosi specifično do mesta infekcije gde je njegovo delovanje i najpotrebnije. Zbog navedenih svojstava primenjuje se samo jednom dnevno, a terapija traje tri dana. Azitromicin ima sporo izlučivanje, jer se duže zadržava u ćeliji zbog čvrstog vezivanja za fosfolipide. Poluvreme eliminacije iznosi čak do 68 h. Zbog jednodnevnog doziranja, visokih tkivnih i ćelijskih koncentracija koje postiže, mogućnosti primene u trudnoći i kod dece, azitromicin je jedan od najprodavanijih lekova u svetu. Azitromicin je manje aktivan protiv Gram pozitivnih bakterija nego eritromicin, a znatno efikasniji protiv *Haemophilus influenzae* i može biti efikasniji protiv *Legionella*. Ima odlično dejstvo na *Toxoplasma sp.*, uništavajući ciste (Sabo i sar., 2014). Stabilnost azitromicina u različitim farmaceutskim oblicima kao i referentni standard bila je predmet mnogobrojnih istraživanja (Li i sar., 2015; Timoumi i sar., 2014; Sato i Takasugi, 2000; Zhang i sar., 2009; Kwiecien i Krzek 2012). Stabilnost čistog azitromicina u rastvoru proučavana je u uslovima kisele i bazne sredine pri različitim temperaturama kao i u prisustvu vodonik peroksida i natrijum tiosulfata (Kwiecien i Krzek 2012). Dobijeni rezultati su pokazali da su uslovi kiselo/bazne sredine ili prisustvo oksido/redukcionog sredstva uticali na broj i vrstu degradacionih proizvoda.

Farmakodinamički podaci o azitromicinu

Azitromicin deluje tako što se vezuje za 50S subjedinicu ribozoma osetljivih mikroorganizama i ometa sintezu proteina. Na većinu bakterija deluje bakteriostatski. Antimikrobna aktivnost azitromicina je smanjena sa niskim pH. Azitromicin ima široki antimikrobni spektar; deluje na različite Gram pozitivne, Gram negativne, anaerobne, intracelularne i atipične organizme. Azitromicin je pokazao aktivnost protiv većine sojeva sledećih mikroorganizama: Gram pozitivni organizmi - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*; Gram negativni organizmi - *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*; ostali mikroorganizmi - *Chlamydia pneumoniae*,

chlamydia trachomatis, mycoplasma pneumoniae (Ohtani i sar., 2000; Zubata i sar., 2002; Kremer 2002).

Farmakokinetički podaci o azitromicinu

Azitromicin se brzo resorbuje iz gastrointestinalnog trakta nakon peroralne primene. Bioraspoloživost aziromicina iznosi oko 37%. Maksimalna koncentracija u plazmi postiže se za 2-3 sata nakon primene i iznosi $0.4 \mu\text{g ml}^{-1}$ (posle doze od 500 mg). U zavisnosti od primenjenog oralnog oblika, prisustvo hrane u digestivnom traktu može da produži resorpciju azitromicina. Kada se azitromicin daje u obliku kapsula, hrana smanjuje maksimalne koncentracije u plazmi i obim resorpcije (PIK) za 52 odnosno 43%.

Međutim, kada se azitromicin daje u obliku film tableta ili oralne suspenzije hrana ne utiče značajno na obim resorpcije (PIK) ali utiče na njenu brzinu. Nakon oralne i intravenske primene azitromicin se distribuira u skoro sva tkiva i telesne tečnosti.

Najčešće se koristi u terapiji infekcija izazvanih osetljivim mikroorganizmima kao što su: infekcije gornjih disajnih puteva (sinuzitis, faringitis/tonzilitis) infekcije donjih disajnih puteva (bakterijski bronhitis, vanbolnički stečena pneumonija, akutni otitis media) nekomplikovane infekcije kože i mekih tkiva, nekomplikovani uretritis i cervicitis uzrokovan sa chlamydia trachomatis i genitalni ulkus kod muškaraca.

Neželjena delovanja i toksičnost makrolida

Prilikom intramuskularne aplikacije mogu se javiti otekline, crvenilo i svrab na mestu primene. Histološki posmatrano dolazi do seroznih infiltracija, oštećenja mišićnih ćelija i produkcije vezivnog tkiva. Pojedini makrolidni preparati za paranteralnu primenu (eritromicin) često sadrže i lokalni anestetik.

Reakcije preosetljivosti primećene su pri lokalnoj i sistemske primeni, a poznata su i toksična oštećenja jetre (Sabo i sar., 2014; McFarlane i sar., 2015; Arancibia i sar., 2000).

OPŠTE METODE DEGRADACIJE ANTIBIOTIKA

Organski zagađivači (uključujući i antibiotike) predstavljaju rastuću opasnost za vodenu sredinu i zato se stalno ispituju metode za njihovo uklanjanje. Unapređeni procesi oksidacije (AOPs) su hemijski procesi koji mogu degradirati organske zagađivače bez prethodne ekstrakcije i upotrebljavaju se kao alternativa konvencionalnim (fizičkim metodama) (Konstantinou i Albanis, 2003). Najčešće su predtretman za biološki proces. AOPs procesima se organski zagađivači najpre oksidišu do manje toksičnih, biodegradabilnih nusproizvoda sprečavajući na taj način uginuće korisnih mikroorganizama, koji se dalje koriste u biološkim tretmanima (Andreozzi i sar., 1999). Među AOPs procesima Fentonov metod je najviše u upotrebi, obzirom na visoke performanse i pojednostavljenu tehnologiju, nisku cenu i malu toksičnost reagenasa (Esplugas i sar., 2002). AOPs su definisani na više načina (Legrini i sar., 1993). To su oksidativne degradacione reakcije u kojima organski radikali nastaju pri fotolizi organskih jedinjenja ili tokom reakcija sa hidroksil-radikalom. Intermedijarni radikali kasnije uhvaćeni rastvorenim molekulskim kiseonikom i preko peroksil-radikala i peroksida povećavaju degradacioni proces i dovode do kompletne mineralizacije (Huston i Pignatello, 1999). Krajnji produkti procesa su ugljen (IV)- oksid, voda i neorganske mineralne soli (Hager, 1990). Iako AOPs podrazumevaju korišćenje različitih reakcionih sistema svi imaju jednu zajedničku karakteristiku: proizvodnju visoko reaktivnih hidroksil-radikala (Andreozzi i sar., 2005; Buxton i sar., 1988). AOPs obuhvataju i katalitičke i fotohemijske metode koje kao oksidante koriste H_2O_2 , O_3 ili O_2 . Aktivni oblik u ovim procesima je hidroksil-radikal $\bullet OH$, koji je izuzetno reaktivan i neselektivan oksidant za organske zagađivače (Bielski i sar., 1985; Neyens i Baeyens, 2003; Malato i sar., 2002; Vorontsov i sar., 2001; Malato i sar., 2009; Pera-Titus i sar., 2004). Oksidacioni, tj. redukcionni potencijal hidroksil-radikala iznosi 2,80 V (Evgenidiou i sar., 2005; Behnajady i sar., 2006) i kada se generiše ovaj radikal reaguje sa većinom organskih jedinjenja - ili adicijom na dvostruku vezu molekula zagađivača (npr. olefine ili aromatična jedinjenja) ili preuzimanjem atoma vodonika iz alifatičnog organskog molekula (npr. alkani ili alkoholi). Uobičajena reakcija podrazumeva preuzimanje vodonikovog atoma, čime se inicira reakcija oksidacije radikalskim mehanizmom. Tako nastaju organski radikali koji dalje reaguju sa kiseonikom inicirajući seriju degradacionih oksidacionih reakcija koje vode do potpune

mineralizacije organskih zagađivača (Turchi i Ollis, 1990; Fu i sar., 1996). Slobodni hidroperoksil-radikal HO_2^\bullet i njegov konjugovani oblik $\text{O}_2^{\bullet-}$ su takođe prisutni u degradacionom procesu, ali su manje reaktivni od slobodnih hidroksil-radikala (Yesodharan i sar., 1984). Hidroksil-radikali reaguju sa većinom organskih jedinjenja dok slobodni radikali dalje reaguju sa molekulskim kiseonikom dajući peroksil- radikal i inicirajući niz reakcija oksidativne degradacije koje mogu dovesti do potpune mineralizacije supstanci prisutnih u vodi koja se prečišćava (Calvo i sar., 2001).

Dosadašnji rezultati proučavanja degradacije amoksicilina

Zbog prisustva elektron privlačne amino grupe na acilnom bočnom lancu u strukturi, molekul amoksicilina je relativno stabilan u kiseloj sredini. Studije koje se bave degradacijom amoksicilina različitim AOPs, obuhvataju tretiranje otpadne vode sa amoksicilinom kombinacijom ekstrakcije, Fenton oksidacije i reverzibilnom osmozom (Zhang i sar., 2006). Jung Jung i sar. (2012) su istraživali degradaciju amoksicilina pomoću UV i UV/ H_2O_2 i eksperimentalno postigli nizak stepen mineralizacije u oba procesa i maksimum od 50% TOC sa UV/ H_2O_2 nakon 80 minuta reakcije uz dodatak 10 mM H_2O_2 . Elmolla i Chaudhuri su proučavali degradaciju antibiotika amoksicilina, ampicilina i kloksacilina koristeći Fenton (2009), foto Fenton (2009) i UV/ ZnO fotokatalizu (2010). Degussa P-25 i drugi komercijalni i sintetizovani TiO_2 korišćeni su u proučavanju degradacije amoksicilina (Klauson i sar., 2010; Dimitrakopoulou i sar., 2012). Tako su Klauson i sar. pokazali da oksidacija amoksicilina u vodenoj sredini u prisustvu gvoždem dopiranog TiO_2 ispoljava maksimalnu efikasnost u neutralnim rastvorima. Dopirani katalizatori su bili veoma blizu, po svojoj efikasnosti, Degussa P-25 katalizatoru prilikom svetlosnog ozračivanja. Dimitrakopoulou i sar. (2012) otkrili su da je među proučavanim fotokatalizatorima Degussa P-25 bio visoko aktivan sa kompletnom AMX degradacijom i 93% mineralizacijom koristeći 10 ml dm^{-3} AMX i 250 mg dm^{-3} TiO_2 u laboratorijskom mernom fotoreaktoru.

Dosadašnji rezultati određivanja i degradacije azitromicina

Elektroanalitičke metode: ciklična voltometrija (Avramov-Ivić i sar., 2007; Avramov-Ivić i sar., 2006; Slepchenko i sar., 2004; Wu i sar., 2004; Wu i sar., 2004;- Mandić i sar., 2003), stripping voltometrija (Nigović, 2004) i diferencijalna pulsna voltometrija

(Nigović i Simunić, 2003) su uspešno primenjene za određivanje azitromicina. Oksidativne sposobnosti azitromicin dihidrata i azitromicina u kapsuli (Hemomycin®) su ispitivane na elektrodi od zlata u neutralnoj sredini metodom ciklične voltametrije (Avramov Ivić i sar., 2006). Struja pika se linearno povećavala sa koncentracijom u oblasti 0,235–0,588 mg/cm³. Pokazano je da se u prisustvu elektrohemijski nastalog vodonika povećava rastvorljivost azitromicin dihidrata, tako da za njegovo rastvaranje nije potreban metanol. Elektrohemijska oksidacija azitromicina ispitivana je na elektrodi od staklastog ugljenika metodom ciklične voltametrije (Mandić i sar., 2003). Pretpostavljen je mehanizam elektrohemijske oksidacije ovog antibiotika, a kao glavni proizvodi, koji su određeni tečnom hromatografijom visoke performanse (HPLC), predložena su jedinjenja nastala dimetilacijom 3'-dimetilamino ili makrolaktonske amino grupe. U radu Nigović (2004) je takođe korišćena elektroda od staklastog ugljenika za određivanje azitromicina u lekovima metodom adsorptivne stripping voltametrije u realnim uzorcima. Struja pika se linearno menjala sa koncentracijom u oblasti 0,5–3,5 µg ml⁻¹ urina, a granica detekcije je 0,2 µg ml⁻¹ urina. Da bi se povećala osetljivost za detekciju azitromicina predložena je modifikovana elektroda od staklastog ugljenika kompozitnim materijalom na bazi grafena i 1-butil-3-metilimidazol heksafluorofosfata (BMIMPF₆) (Peng i sar., 2011). Pokazano je da navedena elektroda ima dobru stabilnost i da se uspešno može primenjivati za određivanje ovog makrolidnog antibiotika primenom diferencijalne pulsne voltametrije (DPV) u medicinske svrhe. Pregledom literature zaključuje se da su brojne elektrode koje se koriste za ispitivanje elektrohemijskog ponašanja antibiotika. Tako na primer, za određivanje azitromicina korišćene su nanočestice MgCr₂O₄ koje su nanete na ugljenične nanotube (Ensafi i sar., 2013). Primenom DPV metode u fosfatnom puferu utvrđena je linearna koncentraciona zavisnost u oblasti 0,25–4,0 µmol l⁻¹ i 4,0–10,0 µmol l⁻¹. Određena je granica detekcije od 0,07 µmol l⁻¹. Visoka osetljivost, selektivnost i stabilnost ove modifikovane elektrode za voltametrijsko određivanje azitromicina postignuta je i u realnim uzorcima. U literaturi se mogu naći primeri korišćenja kvadratno talasne metode (SWV), za određivanje azitromicina. U radu Farhahaly i Mohamed (2004) azitromicin je ispitivan na elektrodi od ugljenične paste u acetatnom puferu SWV metodom. Dobijena je linearna koncentraciona zavisnost u oblasti 1,57–6,28 ppb, a određena je granica detekcije 1,05 ppb. Kvalitativno

određivanje azitromicina SWV metodom na parafinom impregniranoj grafitnoj elektrodi u rastvoru NaHClO_4 pokazalo je da se predložena metoda može koristiti za brzo određivanje aktivne komponente u leku (Komorsky –Lovric Š i Nigović B ,2004). Azitromicin je podvrgavan brojnim tehnikama degradacije kao što je biodegradacija (Cruz-Morato i sar., 2013), fotokatalitički tretman (Soussa i sar., 2012), UV zračenje (254 nm), Fenton ($\text{Fe}^{2+,3+}/ \text{H}_2\text{O}_2$) i foto-Fenton ($\text{Fe}^{2+,3+}/ \text{H}_2\text{O}_2$ /ozračivanje) (De la Cruz i sar., 2012), ozonizacija (Liu i sar., 2012), fotoliza (Tong i sar., 2011). U radu Martinez-Huitle i sar. (2015) je detaljno dokumentovano da su tradicionalne fizičko-hemijske i biološke metode baš kao i unapređeni oksidacioni procesi veoma često neadekvatni, neefektni ili skupi za degradaciju azitromicina. Sa druge strane elektrohemijske metode su efikasne, prilagodljive, uslovi rada ne zahtevaju visoku temperaturu i pritisak i nisu naročito skupe (Martinez-Huitle i sar., 2015). Uobičajeno su kombinovane sa tečnom hromatografijom visoke performace (HPLC) (Al-Rimawi i Kharoaf, 2010; Pacheco i sar.,2014). Kisela/bazna sredina ili prisustvo oksidujućih/redukujućih agenasa utiče na broj i tip proizvoda degradacije azitromicina. Degradacija azitromicina u kiseloj i baznoj sredini u prisustvu oksidujućih i redukujućih agenasa prikazana je u radu Kwiecien i sar. (2012). Predložena je modifikovana hromatografska metoda za detekciju i kvantitativno određivanje proizvoda degradacije azitromicina. Na osnovu rezultata testa stabilnosti azitromicina u uslovima različitih vrsta svetlosti, temperature i pH vrednosti rastvora, predloženi su uslovi za skladištenje ovog antibiotika u očnim preparatima (Moreno i sar., 2009). Degradacija azitromicina u uslovima fotolize pokazala je da je u prisustvu huminskih kiselina značajno poboljšana njegova degradacija (Tong i sar., 2011). Sedam fotodegradacionih proizvoda je određeno spektrometrijski. U radu Zhanga i saradnika degradaciona kinetika azitromicina u vodenoj sredini je ispitivana hromatografski (Zhang i sar., 2009). Varirani su pH rastvora, vrsta i koncentracija pufera, jonska jačina, koncentracija azitromicina i temperatura. Pokazano je da se brzina degradacije povećava sa jonskom jačinom i koncentracijom pufera kao i da ne zavisi od početne koncentracije azitromicina.

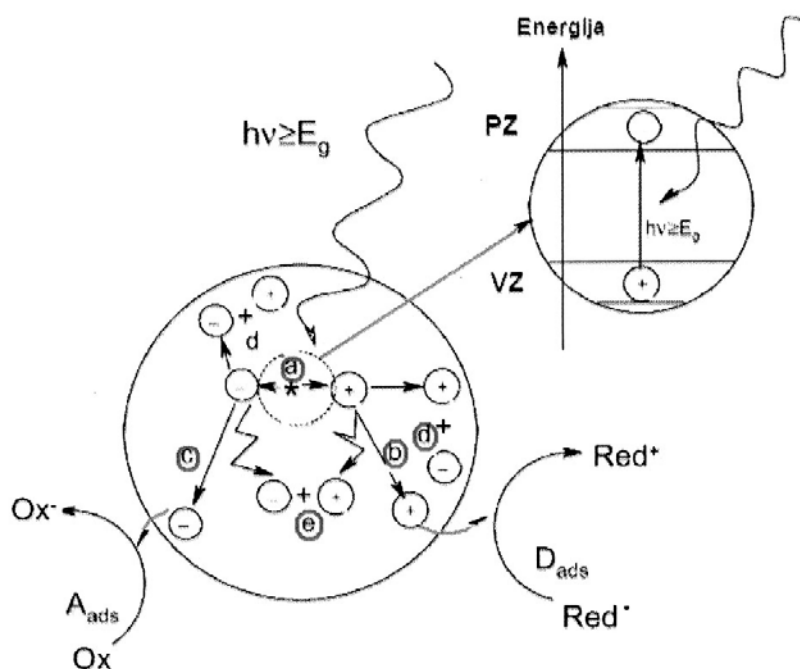
HETEROGENA FOTOKATALIZA

Mehanizam heterogene katalize

Detaljan mehanizam heterogene fotokatalize nije sasvim poznat. Fenoll i sar. (2014) su pretpostavili da se heterogena fotokataliza odvija u pet koraka, kroz reakcije na površini katalizatora

1. difuzija reaktanata na površinu fotokatalizatora,
2. adsorpcija reaktanata na aktiviranoj površini fotokatalizatora,
3. reakcije na površini fotokatalizatora,
4. desorpcija proizvoda reakcije sa površine fotokatalizatora i
5. difuzija proizvoda reakcije sa površine fotokatalizatora u rastvor.

Fotokatalitička reakcija na površini poluprovodnika je indukovana apsorpcijom fotona energije ($h\nu$) jednake ili veće od energetskog procepa (E_g) poluprovodnika, što dovodi do nastajanja parova elektron-šupljina (e^-h^+). Jedan broj parova e^-h^+ može da se rekombinuje, oslobađajući apsorbovano zračenje kao toplotu, dok drugi deo difunduje na površinu poluprovodnika gde učestvuje u redoks-reakcijama sa adsorbovanim supstratom iz rastvora. Slika 12 prikazuje glavne procese koji se odigravaju na poluprovodniku. Vrednosti potencijala šupljine valentne zone (VZ) i elektrona iz provodne zone (PZ) su u intervalu od +1,0 do +3,5 V, odnosno od +0,5 do -1,5 V u zavisnosti od tipa katalizatora i uslova oksidacije (Rincon i Pulgarin, 2004). Kada fotogenerisana šupljina dospe na površinu poluprovodnika može reagovati sa supstratom koji ima elektron-donorska svojstva, pri čemu se supstrat oksiduje. Istovremeno, adsorbovani elektron-akceptor može biti redukovano u reakciji sa fotogenerisanim elektronom. U vodenim rastvorima u prisustvu kiseonika, šupljine na površini katalizatora reaguju sa hidrosil-jonima (OH^-) i molekulima vode adsorbovanim na površini poluprovodnika, pri čemu nastaju $\bullet OH$ -radikali, dok se adsorbovani molekuli kiseonika u reakciji sa elektronima iz PZ redukuju u visoko-reaktivne superoksidne radikale ($O_2^{\bullet -}$) [Rincon i Pulgarin, 2004; Akpan i Hameed, 2009]. Na Slici 12 su prikazani glavni procesi koji se odigravaju na poluprovodniku tokom fotokatalitičke reakcije.

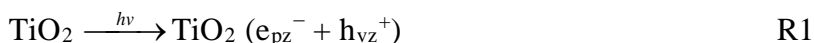


Slika 12. Glavni procesi na poluprovodniku: a) nastanak e^-h^+ , b) oksidacija donora (D), c) redukcija akceptora (A), d) i e) rekombinacija e^-h^+ (Fenoll i sar., 2012)

Adsorpcija supstrata na površini katalizatora zavisi od svojstava supstrata, karakteristika površine katalizatora, prirode rastvarača, jonske jačine i pH vrednosti rastvora (Fenoll i sar., 2012). Prema objavljenim tumačenjima jedne grupe autora, adsorpcija organskog jedinjenja na površini katalizatora je bitan preduslov za proces fotodegradacije (Fenoll i sar., 2012). Međutim, po mišljenju drugih, radicalske reakcije se mogu odvijati i u unutrašnjosti rastvora, zbog mogućnosti difuzije slobodnih radikala od površine katalizatora (Fernandez-Ibanez i sar., 1999). Međutim, s obzirom da su radikali veoma reaktivni, procesi fotoredukcije i fotooksidacije se uglavnom odvijaju na površini ili u okviru par monoslojeva blizu površine poluprovodnika (Figueredo-Sobrinho i sar., 2015). Kao katalizatori u heterogenoj fotokatalizi primenjuju se različiti poluprovodnički materijali. Da bi se neki poluprovodnik koristio u fotokatalizi mora imati određena svojstva, pre svega odgovarajući energetski procep, otpornost na fotokoroziju, hemijsku i biološku stabilnost, netoksičnost, ekonomsku povoljnost i dr. (Foo i Hameed, 2010). TiO_2 je najčešće ispitivan i primenjivan katalizator pre svega zbog hemijske i biološke stabilnosti, niske cene, netoksičnosti, dostupnosti i izuzetne fotokatalitičke aktivnosti (Fenoll i sar., 2012). S obzirom na činjenicu da TiO_2 apsorbuje deo zraka iz bliske UV

oblasti sunčevog spektra (300-390 nm) pogodan je i za fotodegradaciju uz primenu sunčeve svetlosti kao izvora energije (Akpan i Hameed, 2009). Mehanizam fotokatalitičkog procesa nije poznat u potpunosti, pretpostavlja se da je degradacija jedinjenja na površini TiO₂ bazirana na reakcijama u kojima učestvuju [•]OH radikali (Rincon i Pulgarin, 2004; Guo i sar., 2010; Han i sar., 2010) i da se odvija u pet faza:

1) Pobuđivanje katalizatora fotonima energije veće od energetske procepa uz nastanak elektrona i šupljina:



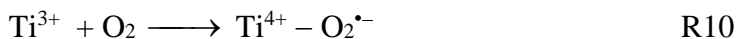
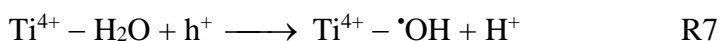
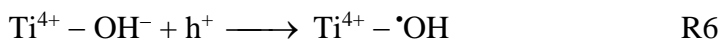
gde e_{pz}^- predstavlja elektron u provodnoj, a h_{vz}^+ šupljinu u valentnoj zoni, dok e_{zr}^- i h_{zr}^+ predstavljaju zarobljeni elektron, odnosno šupljinu;

2) Difuzija molekula H₂O i supstrata i njihova adsorpcija na površini katalizatora:



gde R₁ predstavlja organski molekul, a R_{1ads} adsorbovani organski molekul;

3) Zarobljavanje šupljina i elektrona na površini katalizatora:



4) Rekombinacija parova $e^- - h^+$ može se odvijati na površini ili u unutrašnjosti TiO₂ uz oslobađanje toplote:



Stepen mineralizacije antibiotika tokom procesa fotodegradacije prati se određivanjem nastalog CO₂ i neorganskih jona (Hazime i sar., 2014; Herrmanni Guillard, 2000).

Kinetika heterogene fotokatalize

Za kinetičku interpretaciju rezultata fotokatalitičke degradacije organskih jedinjenja u prisustvu TiO₂ kao fotokatalizatora najčešće se koristi Langmuir-Hinshelwood-ov kinetički model (L-H model) (Hincapié i sar., 2005). Kako je ovaj model razvijen za opis reakcija koje se odigravaju između čvrstih supstanci i gasova, da bi se uspešno primenio za reakcije koje se odigravaju između čvrste i tečne faze neophodne su određene modifikacije. Uslov koji mora biti zadovoljen kada je u pitanju primena L-H modela je da je koncentracija •OH-radikala koji nastaju na površini poluprovodnika konstantna i da su •OH-radikali primarni oksidansi u fotokatalitičkom sistemu. To je moguće samo u slučaju da su masena koncentracija TiO₂ i intenzitet zračenja konstantni.

Prema L-H modelu, brzina reakcije, R, je proporcionalna stepenu pokrivenosti površine katalizatora organskim supstratom:

$$R = -dC/dt = k\theta = kKc_0/(1+Kc_0) \quad \text{R12} \quad \text{gde su:}$$

k - konstanta brzine reakcije (mol dm⁻³ min⁻¹);

K - konstanta ravnoteže adsorpcije (dm³ mol⁻¹)

C₀ - početna koncentracija organske supstance (mol dm⁻³)

θ - stepen pokrivenosti površine katalizatora organskim supstratom.

Transformacijom prve jednačine dobija se linearna zavisnost recipročne vrednosti početne brzine reakcije od recipročne vrednosti početne koncentracije organskog supstrata:

$$1/R = -dt/dC = 1/k + 1/kKc_0 \quad \text{R13}$$

Integracijom druge jednačine od c₀ do c u vremenskom intervalu od 0 do t dobija se izraz:

$$\ln(c_0/c) + K(c_0 - c) = kKt \quad \text{R14}$$

Ova jednačina predstavlja zbir jednačina za reakciju prvog i nultog reda. Znači, ukupna brzina reakcije zavisi od početne koncentracije reaktanta. Pri nižim početnim koncentracijama supstrata drugi član postaje zanemarljivo mali u odnosu na prvi i tada je:

$$\ln(c_0/c) = k't \quad \text{R15}$$

gde je $k' = kK$, tj. prividna konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda (Carlos i Ferro, 2006). Pri višim koncentracijama reaktanta pri kojima se postiže zasićenje površine katalizatora (kada je $Kc_0 \gg 1$) jednačina se pojednostavljuje do izraza za konstantu brzine reakcije nultog reda:

$$-dC/dt = k \quad \text{R16}$$

Faktori koji utiču na mehanizam heterogene fotokatalize

Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na to da efikasnost fotodegradacije zavisi od mnogih parametara kao što su: početna koncentracija fotokatalizatora, priroda i početna koncentracija supstrata, pH vrednost rastvora, dodatak elektron-akceptora, dodatak organskog rastvarača, neorganskih anjona, prisustvo metalnih jona itd.

Uticao masene koncentracije fotokatalizatora

Koncentracija katalizatora u procesima heterogene katalize je upravo proporcionalna brzini reakcije (Jing i sar., 2011; Lambropoulou i sar., 2011; Laoufi i Bentahar, 2014). Povećanjem količine katalizatora povećava se raspoloživa površina za adsorpciju supstrata.

Međutim, ona se povećava samo do neke optimalne vrednosti, pri čemu se sa daljim povećanjem koncentracije fotokatalizatora povećava i zamućenje rastvora (zbog povećanog rasipanja svetlosti na česticama katalizatora) i dolazi do smanjenja prodiranja svetlosti u rastvor čime se smanjuje i brzina degradacije. Ovo ima za posledicu smanjenu efikasnost fotokatalize usled nastanka manjeg broja parova e^-h^+ (LeBlanc i Kuivila, 2008; Li Puma i sar., 2008). Isto tako, visoka koncentracija

katalizatora može dovesti i do aglomeracije čestica TiO_2 , a samim tim i do smanjenja površine katalizatora dostupne za apsorpciju svetlosti (Bahnemann i sar., 2007). Pri koncentraciji katalizatora većoj od optimalne nastaje veći broj HO_2^{\bullet} radikala koji su slabiji oksidansi od $^{\bullet}\text{OH}$ -radikala, što dovodi do smanjenja brzine degradacije (Fenoll i sar., 2012).

Istraživanja pokazuju da optimalna koncentracija katalizatora varira u širokom opsegu (0,1 do 10,0 g dm^{-3}) u zavisnosti od tipa katalizatora i organskog polutanta (Jing i sar., 2011; Laoufi i Bentahar 2014; Li Puma i sar., 2008). Isto tako vrednost optimalne masene koncentracije fotokatalizatora varira u širokom opsegu za različite fotokatalitičke sisteme i fotoreaktore i najčešće se u slučaju TiO_2 Degussa P25 nalazi u opsegu od 0,15 - 2,5 g dm^{-3} (Liang i Su, 2009). Daljim povećanjem masene koncentracije katalizatora brzina degradacije opada. (Lin i Lin, 2007).

Uticaj pH vrednosti rastvora

pH vrednost sredine predstavlja jedan od najznačajnijih faktora koji utiču na efikasnost fotokatalitičkog procesa (Akpan i Hameed, 2009). Tumačenje uticaja pH vrednosti na fotokatalitičku degradaciju je kompleksno zbog interakcije brojnih faktora, kao što su elektrostatičke interakcije između površine fotokatalizatora i rastvarača, zatim supstrata kao i nastalih radikala (Konstantinou i Albanis, 2003). Objavljeni rezultati većine naučnika dokazuju da stepen aglomeracije u velikoj meri zavisi od pH vrednosti rastvora (Mahalakshmi i sar., 2007; Malato i sar., 2009).

Kao što je poznato izoelektrična tačka za TiO_2 (pH_{IET}), kada je naelektrisanje njegove površine jednako nuli se kreće u intervalu od 4,5 do ~ 7 (Akpan i Hameed, 2009; Eng i sar., 2010), što znači da je pri višim vrednostima pH, površina čestica negativno naelektrisana (TiO^-), dok je pri nižim pozitivno naelektrisana (TiOH_2^+). S obzirom na to da su površinske grupe TiO_2 amfoternog karaktera, može se napisati sledeća kiselinsko-bazna ravnoteža (Martinez-Huitle i Brillas, 2009):



Iz ovoga se zaključuje da su interakcije sa katjonskim elektron-donorima i elektron-akceptorima zastupljenije pri $\text{pH} > \text{pH}_{\text{IET}}$, dok su interakcije sa anjonskim elektron-donorima i elektron-akceptorima zastupljene pri $\text{pH} < \text{pH}_{\text{IET}}$ (Méndez-Arriaga i sar., 2008).

Naelektrisanje jedinjenja prisutnih u rastvoru takođe zavisi od pH vrednosti sredine. Kada je pH vrednost sredine niža od pK_a jedinjenja, tada je ono primarno zastupljeno u molekulskom obliku i suprotno, a kada je $\text{pH} > \text{pK}_a$ uglavnom je zastupljeno u disosovanom obliku. Međutim, zavisnost pK_a vrednosti i interakcija jedinjenja sa površinom katalizatora je samo gruba aproksimacija budući da formiranje dvostrukog sloja na granici faza čvrsto-tečno utiče na disocijaciju i polarizabilnost jedinjenja (Fenoll i sar., 2012). Iznad optimalne koncentracije OH^- jona u rastvoru se stvaraju nepovoljne električne sile, tj. dolazi do odbijanja između negativno naelektrisane površine katalizatora i OH^- jona. U skladu sa tim efikasnost fotokatalize opada sa porastom pH vrednosti sredine (Mijin i sar., 2012)

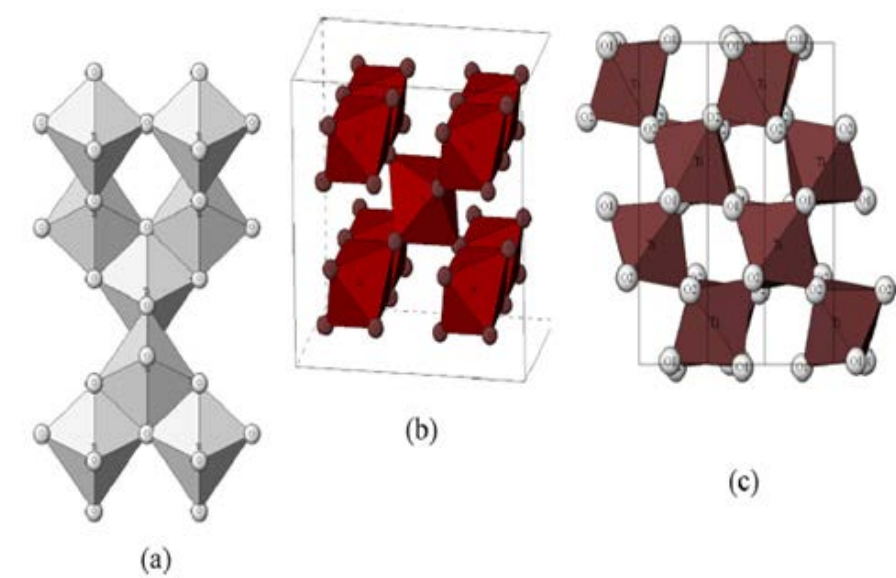
Uticaj prisustva neorganskih jona

Prisustvo neorganskih jona u prirodnim vodama može značajno uticati na efikasnost fotodegradacije, zbog čega je predmet brojnih istraživanja (Pulgarin i Rincon, 2004; Palma i sar., 2009; Panizza i Cerisola, 2003; Parsa i Abbasi, 2012). Poznato je da se u prisustvu oksidanasa kao što su: ClO_2^- , ClO_3^- , IO_4^- , $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ i BrO_3^- povećava brzina fotodegradacije, jer se pomenuti anjoni ponašaju kao elektron-akceptori, odnosno sprečavaju rekombinaciju para $e^- - h^+$. Kao što je već pomenuto, proces degradacije u velikoj meri zavisi od adsorpcije molekula supstrata na površini katalizatora, a zatim i od reakcije adsorbovanog molekula sa fotogenerisanim šupljinama i $\cdot\text{OH}$ -radikalima (Panizza i Cerisola 2003; Pelaez i sar., 2012). S druge strane, neorganski anjoni (H_2PO_4^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^-) inhibiraju proces degradacije tako što ulaze u kompeticiju sa supstratom za aktivna mesta na površini fotokatalizatora u zavisnosti od pH vrednosti rastvora. Takođe, anjoni mogu da reaguju sa šupljinama i $\cdot\text{OH}$ -radikalima pri čemu nastaju radikal-joni (Cl^\cdot , $\text{SO}_4^{\cdot-}$, $\text{CO}_3^{\cdot-}$, $\text{H}_2\text{PO}_4^\cdot$). Međutim, redoks-potencijali nastalih radikal-jona su niži u poređenju sa potencijalom $\cdot\text{OH}$ -radikala, što dovodi do smanjenja efikasnosti procesa degradacije (Pelaez i sar., 2012; Pera-Titus i sar., 2004).

Dodatak jona metala M^{n+} može dovesti do ubrzanja, ali i do smanjenja brzine fotokatalitičke oksidacije supstrata. Povećanje efikasnosti fotodegradacije u prisustvu jona metala je posledica vezivanja fotogenerisanog elektrona u reakciji redukcije M^{n+} čime se sprečava rekombinacija para e^-h^+ . (Reck i Richards, 1999). S druge strane, u mnogim slučajevima se pokazalo da prisustvo Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} ne utiče na brzinu fotodegradacije. Ovo se objašnjava činjenicom da se pomenuti joni nalaze u najvišem stabilnom oksidacionom stanju, pri čemu ne pokazuju afinitet za vezivanje fotogenerisanih elektrona i šupljina (Parsa i Abbasi, 2012).

TiO₂ kao fotokatalizator

Titan(IV)-oksid (TiO₂) kao poluprovodnik predstavlja najčešće korišten fotokatalizator zbog svoje hemijske i biološke stabilnosti, netoksičnosti, niske cene, komercijalne dostupnosti, nerastvorljivosti u vodi, kiselim i baznim sredinama, otpornosti na fotokoroziju, različitih formi visoke fotoaktivnosti i mogućnosti stvaranja tankog filma na čvrstoj podlozi (Hladik i sar., 2008). TiO₂ se industrijski dobija sulfatnim i hloridnim postupkom iz minerala ilmenita (FeTiO₃), odnosno rutila (Hoffmann i sar., 1995). Postoje tri standardna kristalna polimorfna oblika TiO₂: anataz, rutil i brukit. Na Slici 13 su prikazani polimorfni oblici ovog poluprovodnika. Anataz i rutil modifikacije imaju tetragonalnu, dok brukit ima ortorombičnu kristalnu formu (Byrne i Eggins, 1998; Hladik i sar., 2008). Rutil je termodinamički stabilnija modifikacija od anataza modifikacije i zagrevanjem na povišenoj temperaturi, dolazi do prelaska iz anataza u rutil oblik. Entalpija anataz-rutil transformacije je niska (od -1,3 do - 6,0 kJ mol⁻¹) (Guo i sar., 2010). Veća gustina rutil-oblika (4,13 g/cm⁻³) u odnosu na anataz (3,79 g/cm⁻³) uslovljava razlike u mnogim fizičkim svojstvima (Byrne i Eggins, 1998). Energetski procep anataza je 3,2 eV, a rutila 3,0 eV. U odabiru fotokatalizatora, koji učestvuje u procesima fotooksidacije anataz ima prednost kada je u pitanju hemijska stabilnost, dostupnost i aktivnost. Sa druge strane, rutil u većoj meri učestvuje u apsorpciji kada je u pitanju bliska UV oblast (350-400 nm), zbog manjeg energetskog procepa u odnosu na anataz-oblik (Hoffmann i sar., 1995).



Slika 13 . Kristalni polimorfni oblici TiO₂: (a) anataz; (b) rutil i (c) brukit

(Byrne i Eggins, 1998)

Efikasnost fotokatalitičke degradacije u velikoj meri zavisi od strukturnih i površinskih karakteristika TiO₂ kao što su: sastav kristalne rešetke, aktivna površina, poroznost, veličina čestica, energetski procep i broj adsorbovanih hidroksilnih grupa na površini katalizatora (World Health Organization: WHO). Kristalna struktura i veličina čestica TiO₂ značajno zavise od temperature kalcinacije fotokatalizatora tokom njegove sinteze. Naime, termičkom obradom TiO₂ gela na povišenoj temperaturi, dolazi do fazne transformacije iz termodinamički manje stabilnog anataza u stabilniji rutil-oblik (Hu i sar., 2003).

Isto tako, dehidratacijom na povišenoj temperaturi dolazi do povećanja dimenzija kristala u odnosu na prvobitnu veličinu. S obzirom da stepen fotosenzitizacije katalizatora u vidljivoj oblasti spektra zavisi od sadržaja ugljenika, ispitano je kada je njegov sadržaj najveći i utvrđeno je da je udeo ugljenika u TiO₂ najveći na temperaturi kalcinacije od 350 °C.

Daljim ispitivanjima nađeno je da sa povećanjem temperature kalcinacije opada BET površina katalizatora. Tako na temperaturi od 350 °C, odnosno 750 °C BET površina za TiO₂ je iznosila 205,8 m² g⁻¹, odnosno 8,3 m² g⁻¹.

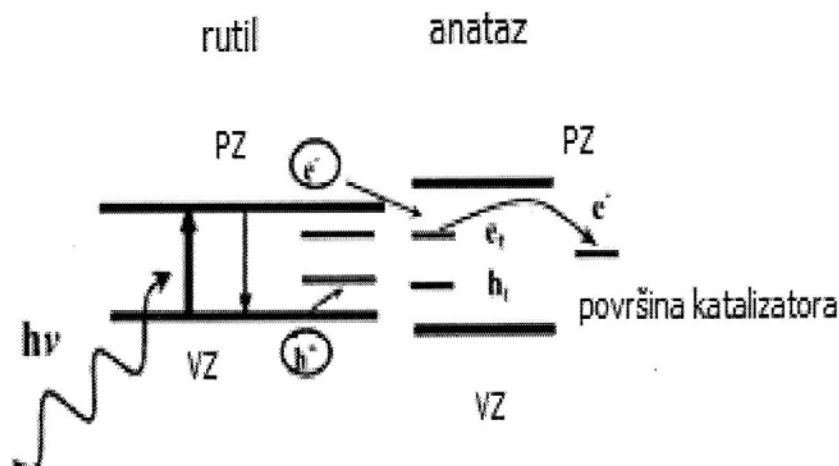
Isto tako, metodom difrakcije rentgenskih zraka (XRD) je potvrđeno da se sa povećanjem temperature kalcinacije u kristalnoj strukturi katalizatora smanjuje udeo anataz-oblika.

Rezultati ispitivanja su pokazali da kalcinacijom katalizatora do 750 °C u kristalnom sastavu TiO₂ preovlađuje rutil-oblik. Transformacija anataz u rutil-oblik dovodi i do smanjenja energetskog procepa za TiO₂ (vrednost E_g na 350 °C, odnosno 750 °C iznosi 3,41 eV, odnosno 3,04 eV) (Hurum i sar., 2003). Kako rutil-oblik može da apsorbuje svetlost veće talasne dužine, moglo bi se pretpostaviti da je mnogo pogodniji kao fotokatalizator.

Međutim, pokazalo se da anataz-oblik ima veću fotokatalitičku aktivnost. Jedan od razloga je razlika u energiji struktura između ova dva oblika. U oba slučaja položaj energetskog nivoa valentne zone je širok i nastale pozitivne šupljine pokazuju dovoljno veliku oksidacionu moć.

Međutim, provodna zona se nalazi u blizini oksido-redukcionog potencijala vodonika, što upućuje na to da su oba oblika slaba redukciona sredstva. Poznato je da energetski položaj PZ anataz-oblika ima negativniju vrednost nego što je to slučaj kod rutil-oblika. Stoga je anataz-oblik jače redukciono sredstvo u odnosu na rutil-oblik (Ishiki i sar., 2005).

Komercijalno dostupan TiO₂ Degussa P25 (mešana kristalna struktura rutil i anataz) pokazuje mnogo veću fotokatalitičku aktivnost nego čiste pojedinačne kristalne strukture TiO₂. Ovo se objašnjava činjenicom da u slučaju TiO₂ Degussa P25 prvo biva ekscitovana rutil-kristalna struktura, koja apsorbuje zračenje niže energije nakon čega fotogenerisani elektron prelazi u anataz-kristalnu strukturu. Na ovaj način anataz-oblik biva ekscitovan indirektno, zračenjem niže energije (Janjić i Elezović, 2010). Autori Hurum i sar. (2003) veću fotokatalitičku aktivnost mešane faze rutil i anataz-oblika objašnjavaju posledicom tri efekta: a) manji energetski procep rutil-oblika omogućava fotokatalitičku aktivnost u vidljivoj oblasti, b) prelazak fotogenerisanog elektrona sa rutil na anataz-kristalnu strukturu smanjuje mogućnost rekombinacije i c) mala veličina čestica fotokatalizatora (rutil-kristalne strukture) olakšava ovaj transfer čineći katalitički „vruću” tačku na rutil-anataz granici kristalnih faza. Slika 14 prikazuje šematski prikaz nastanka (e⁻) i šupljina (h⁺) ozračivanjem površine.



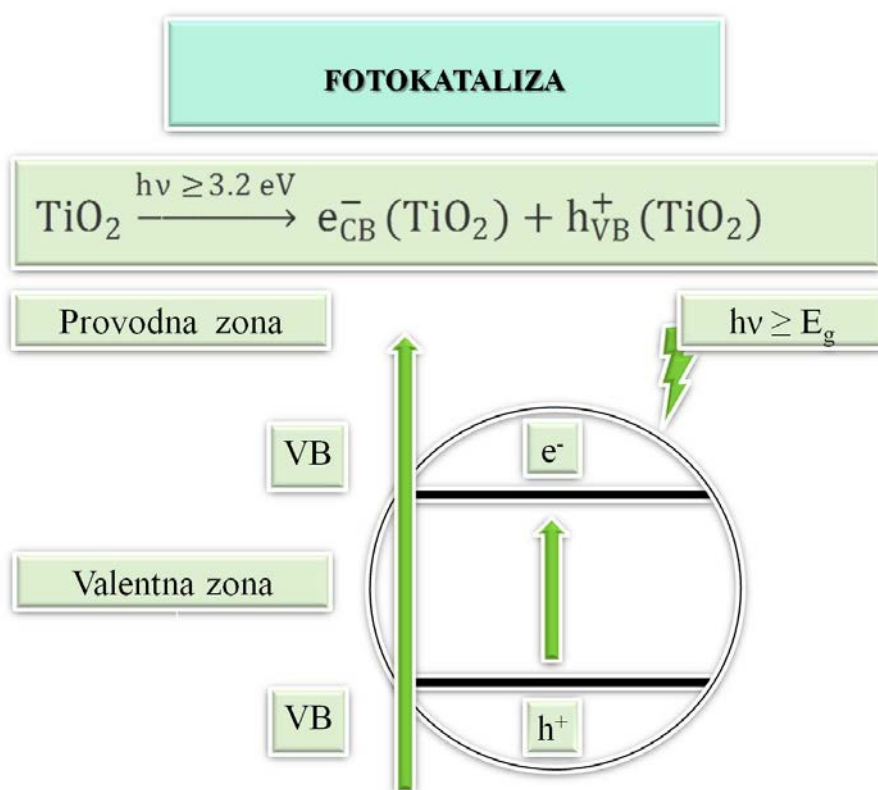
Slika 14. Šema nastanka elektrona (e^-) i šupljina (h^+) ozračivanjem površine TiO₂ Degussa P25 (Janjić i Elezović, 2010)

Fotokatalizator TiO₂ Degussa P25 predstavlja smešu obe modifikacije u odnosu 3:1 (anataz : rutil) koja ispoljava njihovo sinergistično dejstvo (anataz je nosač za rutil). Pozivajući se na ranije objavljena istraživanja (Janjić i Elezović, 2010; Kalkhoff i sar., 1998) može se objasniti visok stepen fotoreaktivnosti Degusse P25, kroz smanjenu rekombinaciju elektrona i šupljina.

Veća efikasnost TiO₂ Degussa P25 u poređenju sa rutil formom, može biti posledica razlike u veličini čestica, kristalnom sastavu, specifičnoj površini i broju adsorbovanih hidroksilnih grupa na površini ispitivanih katalizatora. XRD metodom je određena veličina čestica, koja je u slučaju TiO₂ Degussa P25 i čistog rutila iznosila 21 pm, odnosno 30 nm. Manja veličina čestica dovodi do povećanja broja aktivnih mesta na površini poluprovodnika, što ima za posledicu veću fotoaktivnost TiO₂ Degussa P25 u odnosu na TiO₂ rutil. Rezultati FTIR analize ukazuju na to da se kod oba katalizatora uočava široka traka na 3350 cm⁻¹ koja odgovara hidroksilnoj grupi, dok traka na 1635 cm⁻¹ potiče od adsorbovanih molekula vode. Nakon poređenja intenziteta traka na 3350 i 1635 cm⁻¹ zaključeno je da se na površini ovog fotokatalizatora adsorbuje veći broj hidroksilnih grupa i molekula vode nego u slučaju TiO₂ rutil, što doprinosi većoj efikasnosti TiO₂ Degussa P25 (Jeffers i sar., 1998).

Mehanizam heterogene fotokatalize u prisustvu TiO₂

U literaturi koja se bavi proučavanjem fotokatalize i katalizatora TiO₂ može se pronaći puno podataka o mehanizmu heterogene fotokatalize. Energetska traka TiO₂ nalazi se između 3,0 i 3,2 eV što odgovara talasnim dužinama od 376 do 400 nm što znači da se on može aktivirati talasnim dužinama iz bliske UV oblasti zračenja, takođe i svetlosnim zracima prisutnim u jednom delu solarnog spektra. Fotoni koji poseduju energiju $h\nu \leq 400$ nm mogu iz valentne trake TiO₂ da izbace elektrone koji prelaze u provodnu traku ostavljajući tako za sobom elektronske šupljine (praznine, vakancije). Tako se ozračivanjem vodenog rastvora TiO₂ (Slika 15) svetlosnim izvorom energije jednake ili veće od energije razmaka elektronskih traka ($E_g = 3,0 - 3,2$ eV za TiO₂), elektroni (e⁻) ekscituju iz valentne u provodnu traku, formirajući pozitivno naelektrisane šupljine u valentnoj traci (h⁺). Tako nastaju pobuđene vrste odnosno parovi elektron-šupljina (e⁻ + h⁺), elektroni (e⁻) u provodnoj traci i šupljine (h⁺) u valentnoj traci poluprovodnika (Slika 15).



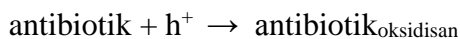
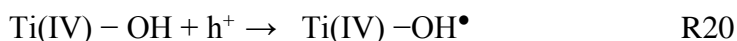
Slika 15. Opšti mehanizam fotokatalize (Bendz i sar., 2005)

Pobuđeni elektroni i šupljine se mogu rekombinovati (uz disipaciju energije), učestvovati u redoks reakcijama sa elektron donorskim ili elektron akceptorskim uzorcima (hidroksilnim jonima, molekulima vode, rastvorenim molekulima kiseonika, organskim molekulima i metalnim jonima) koji su adsorbovani na površini poluprovodnika, a mogu samo biti u okolini čestice u dvoslojnom električnom omotaču.

Da bi se odigrala fotokatalitička reakcija potrebno je onemogućiti rekombinaciju elektrona i šupljina. To se postiže tako što elektroni reaguju sa kiseonikom adsorbovanim na površini katalizatora ili rastvorenim u vodi redukujući ga do superoksidnog radikal anjona $O_2^{\bullet-}$, a šupljine reaguju sa molekulima vode i hidroksilnim grupama koji su takođe adsorbovani na površini katalizatora.

Šupljine (h^+) iz valentne trake poseduju veliku oksidacionu moć i u reakciji sa vodom i OH^- jonima adsorbovanom na površini katalizatora stvaraju hidroksil-radikale $\bullet OH$ koji reaguju sa organskim jedinjenjima i mogu oksidovati većinu organskih jedinjenja do krajnjih produkata, ugljen(IV)-oksida, vode i neorganskih jona. Elektroni (e^-) iz provodne trake mogu da redukuju adsorbovani kiseonik koji potiče iz vazduha i formiraju peroksidne radikalske anjone (npr. $O_2^{\bullet-}$) koji kasnije mogu formirati $\bullet OH$ radikale preko različitih puteva (Bendz i sar., 2005).

Uporedo sa odvijanjem procesa oksidacije zagađivača pomoću $\bullet OH$ radikala, peroksidni radikali (visokooksidacione vrste) su takođe raspoloživi u procesu heterogene TiO_2 fotodekompozicije organskih substrata. Elektroni iz provodne trake takođe mogu direktno reagovati sa zagađivačima preko redukcionih procesa, a pod određenim uslovima fotogenerisane šupljine iz valentne trake mogu direktno oksidisati organska jedinjenja. Jedan od predloženih mehanizama TiO_2 fotokatalize je sledeći (Konstantinou i Albanis, 2003):





ili:

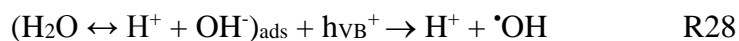
a) apsorpcija odgovarajućih fotona pomoću titana ($h \geq E_g = 3,2 \text{ eV}$):



b) jonosorpcija pomoću kiseonika:



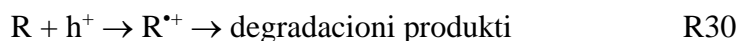
c) neutralizacija OH^- grupa u OH^{\bullet} radikale pomoću fotošupljina:



d) oksidacija organskih reaktanata preko neprestanih napada OH^{\bullet} radikala:



e) ili direktnom reakcijom sa šupljinama:



Kao primer poslednje reakcije, šupljine mogu generisati CO_2 :



ELEKTROHEMIJSKE METODE

U poslednjoj dekadi porasla je svest ljudi o važnosti očuvanja životne sredine. Zbog toga se usvajaju zakoni koji imaju za cilj minimiziranje nivoa opasnih polutanata u otpadnim vodama. Shodno tome, istražuju se i razvijaju u efikasnije alternativne tehnologije koje će omogućiti tretman otpadnih voda, bez nanošenja novih štetnih efekata životnoj sredini. Industrijske otpadne vode obično sadrže organske i neorganske komponente koje otežavaju tretman dekontaminacije, tako da ne postoji univerzalna strategija prečišćavanja (Ren-Jang i sar., 2009). U tom smislu se razvijaju tehnologije koje su vrlo selektivne, efikasne, ekonomične i čiste (Rheineck i Postle, 2004). Metode elektrohemijske degradacije imaju sve širu primenu u eliminaciji boja, farmaceutskih proizvoda i antibiotika (Ren-Jang i sar., 2009; Sakkas i sar., 2011; San i sar., 2001). Jedan od fokusa ove doktorske disertacije je primena elektrohemijske metode u degradaciji antibiotika azitromicina, s obzirom da ovaj makrolidni polutant metaboliše u neizmenjenom obliku u prirodnim vodenim sredinama i veoma je štetan po zdravlje.

Ciklična voltametrija

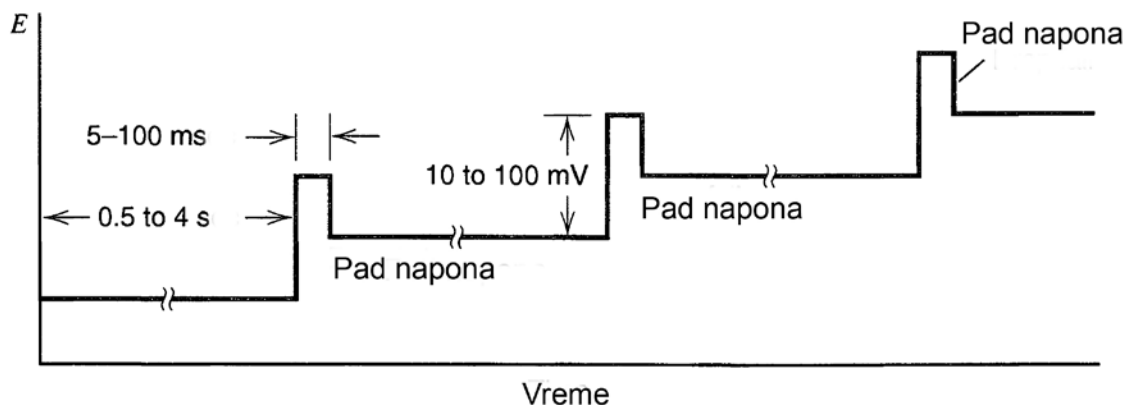
Ciklična voltametrija (CV) je jedna od najčešće primenjivanih tehnika u elektrohemijskim ispitivanjima. Ova tehnika podrazumeva snimanje struje dok se zadati potencijal menja u direktnom i povratnom smeru određenom zadatom brzinom u ispitivanoj oblasti potencijala. Kriva koja predstavlja zavisnost struja – potencijal se naziva ciklični voltamogram. CV je vrlo često prvi eksperiment kojim se utvrđuje elektrohemijsko ponašanje jedinjenja na površini elektrode. Ova tehnika se koristi za proučavanje fundamentalnih aspekata elektrohemijskog procesa (Thapliyal i sar., 2016)

Diferencijalna pulsna voltametrija

Pulsne tehnike su razvijene sa ciljem suzbijanja kapacitivnih struja, čime se snižava granica detekcije merenja. Jedna od pulsni tehnika je Diferencijalna pulsna voltametrija (DPV), kod koje se potencijal pulsno menja od inicijalne vrednosti do neke vrednosti na kojoj ostaje oko 50 ms, da bi se potom promenio do sledeće vrednosti.

Po isteku zadatog vremena između dva pulsa potencijal se ponovo pulsno menja. Struja se određuje dva puta, neposredno pre primene pulsa in a kraju pulsa. Razlika između dve vrednosti

struje se prikazuje u funkciji potencijala (Thapliyal i sar., 2016) .Na Slici 16 dat je šematski prikaz ove metode.



Slika 16. Šematski prikaz diferencijalne pulsne voltametrije

Masena spektrometrija (MS)

Hromatografskim metodama može se postići razdvajanje komponenti smese u cilju njihove identifikacije i/ili određivanja.

Komponente se identifikuju na osnovu hromatografskih retencionih karakteristika, što uglavnom nije dovoljno zbog mogućnosti da neke od analiziranih komponenti imaju ista retencionna vremena. Zbog toga se u analitici lekova, u sprezi sa hromatografskim tehnikama, najčešće koristi masena spektrometrija.

Masena spektrometrija (MS) se zasniva na jonizaciji uzorka, nastali joni se zatim razdvajaju na osnovu odnosa njihovih masa i naelektrisanja (m/z) i detektuju. Dobijeni maseni spektar predstavlja zavisnost relativne brojnosti dobijenih jona u funkciji m/z (Ardrey 2003). Prednost masene spektrometrije (MS) je u tome što u najvećem broju slučajeva ova tehnika omogućava pouzdanu identifikaciju.

Masena spektrometrija je veoma osetljiva tehnika, jer se maseni spektar komponente i njena identifikacija mogu dobiti pomoću veoma malih količina analita (reda veličine 10^{-12} g).

Maseni spektrometar je sofisticiran i kompjuterizovan instrument koji se sastoji od sledećih delova: sistema za unošenje uzorka, jonskog izvora, masenog analizatora, detektora vakuum sistema i softvera za prikupljanje i analiziranje podataka.

Jonski izvor je deo instrumenta u kome se uzorak jonizuje. Jonizacione metode koje se koriste u masenoj spektrometriji uključuju: jonizaciju elektronskim udarom (EI, electron impact ionization), hemijsku jonizaciju (CI, chemical ionization), jonizaciju desorpcijom (desorption ionization), termosprej jonizaciju (TSP, thermospray ionization), elektrosprej jonizaciju (ESI, electrospray ionization), fotojonizaciju na atmosferskom pritisku (APPI, atmospheric-pressure photoionization) i hemijsku jonizaciju na atmosferskom pritisku (APCI, atmospheric-pressure chemical ionization) (Ardrey 2003; Niessen 2006). Elektrosprej jonizacija pripada tzv. "mekim" jonizacionim tehnikama.

Za razliku od nekih drugih tehnika koje pored jonizacije dovode i do fragmentacije, ovom tehnikom se najčešće dobijaju protonovani molekularni $[M+H]^+$ ili deprotonovani molekularni $[M-H]^-$ joni, u zavisnosti od polarnosti električnog polja. Pored elektrosprej jonizacije, jedna od najčešće korišćenih jonizacionih metoda je MALDI (matrix-assisted laser desorption ionization), koja se koristi za karakterizaciju bio-makromolekula kao što su proteini, oligonukleotidi, šećeri i sintetički polimeri (Ardrey 2003; Niessen 2006).

Kod određivanja strukture često je potrebno dobiti više informacija o jonima nastalim mekim jonizacionim tehnikama, što se može postići primenom tandemne masene spektrometrije (MS-MS) (Ardrey 2003; Niessen 2006).

Tečna hromatografija-masena spektrometrija (LC - MS)

Snaga masene spektrometrije leži u činjenici da su maseni spektri mnogih jedinjenja dovoljno specifični da omoguće njihovu identifikaciju. Ukoliko je jedinjenje koje se ispituje deo smeše jedinjenja, dobijeni maseni spektar će sadržati jone svih komponenti, međutim ukoliko je ispitivano jedinjenje prisutno u smeši u manjim količinama identifikacija je teža, ali ne i nemoguća.

Kombinacija LC-MS omogućava identifikaciju i kvantitativno određivanje jedinjenja koja hromatografski nisu u potpunosti razdvojena (Ardrey 2003). Postupak ispitivanja se sastoji u razdvajanju tečnom hromatografijom, a zatim se frakcije nakon uklanjanja rastvarača analiziraju masenom spektrometrijom.

Postoje dve bitne neusaglašenosti koje treba usaglasiti prilikom LC-MS analiza (Ardrey 2003). Prva je što mobilna faza koja se koristi kod HPLC analiza često sadrži znatnu količinu vode, protok je najčešće 1 ml min^{-1} , dok maseni spektrometar radi u uslovima visokog vakuuma, pa je potrebno ukloniti rastvarač mobilne faze pre MS analize.

Drugo, većina jedinjenja koja se ispituju tečnom hromatografijom su neisparljiva ili termolabilna i zbog toga nisu pogodna za jonizaciju elektronskim udarom (EI) ili hemijsku jonizaciju (CI) pa se koriste alternativne jonizacione metode, npr. termosprej jonizacija i elektrosprej jonizacija (Ardrey 2003; Niessen 2006), koje rešavaju problem obe neusaglašenosti.

EKSPERIMENTALNI DEO

HEMIJSKE SUPSTANCE

U ekperimentalnom radu korišćeni su sledeće hemijske supstance:

1. amoksicilin trihidrat, 99%, Hemofarm-Stada
2. titan(IV)-oksid P25, Aldrich
3. tetrabutyl-titanat Ti(OBu)₄, Acros Organics
4. metanol, HPLC, J. T. Baker
5. sirćetna kiselina, HPLC, Lachner
6. natrijum-hlorid, p.a., Zdravlje
7. natrijum-hidroksid, p.a., J. T. Baker
8. hlorovodonična kiselina, p.a., Zorka
9. natrijum-sulfat, p.a., Centrochem
10. etanol, 96,6 %, Carlo Erba
11. azitromicin dihidrat,p.a., Hemofarm A.D., Vršac
12. metanol (HPLC stepen čistoće),p.a., J.T.Baker
13. acetonitril (HPLC stepen čistoće),p.a., J.T.Baker
14. dinatrijum hidrogen fosfat (bezvodni),p.a., Merck
15. fosforna kiselina (bezvodna),p.a.,Merck

APARATI, UREĐAJI I ELEKTRODE

U eksperimentalnom radu korišćeni su sledeći aparati, uređaji i elektrode:

1. Ultra-Vitalux lamp (300 W), Osram, Minhen, Nemačka
2. UV/Vis spektrofotometar (Shimadzu 1700)
3. Jonski hromatograf, Dionex DX-300
4. Analizator ukupnog organskog ugljenika, Zellweger LabTOC 2100
5. pH metar, Inolab pH 730
6. Magnetna mešalica, Heidolph MR 3001
7. Vodeno kupatilo, VEB MLW U8, Nemačka

8. Centrifuga, Spectrafuge™ mini-centrifuge
9. Dimenzionalno stabilna anoda (DSA) Ti/RuO₂ (Turchi i Ollis, 1990)
10. Uređaj za dobijanje dejonizovane vode, Milipore Waters Milli Q
11. Radiometer 402 Volta Lab (Analytical, Lyon, France)
12. Elektroda od staklastog ugljenika (Pine, površina 0,5 cm²)

Eksperimenti fotokatalitičke degradacije amoksicilina izvršeni su u dejonizovanoj vodi. Osnovni rastvori amoksicilina (100 mg dm⁻³) su pripremljeni tako što je odmerena odgovarajuća masa supstance na analitičkoj vagi i rastvorena u odgovarajućoj zapremini dejonizovane vode. Rastvori su bili zaštićeni od svetlosti. Dejonizovana voda dobijena je iz jedinice za prečišćavanje vode Milipore Waters Milli Q. Kao fotokatalizator korišten je nanokristalni TiO₂.

Eksperimenti elektrohemijske degradacije azitromicina izvršeni su u elektrolitu sastavljenom od metanola, 0,05 M NaHCO₃, NaCl i dejonizovane vode na DSA Ti/RuO₂ elektrodi galvanostatskom metodom.

FOTOKATALITIČKA DEGRADACIJA AMOKSICILINA

Priprema nanokristalnog TiO₂ katalizatora

Nanokristali TiO₂ su dobijeni sol-gel metodom (Golubović i sar., 2016). Prekursor je bio tetrabutiltitanat i molarni odnos između reagenasa Ti(OBu)₄:HCl:EtOH:H₂O = 1:0.3:15:4. Sinteza je izvedena na temperaturi leda gde su tetrabutil-titanatu (99%, Acros Organics, Belgija) uz lagano mešanje dodaje hlorovodonična kiselina (32.2% Zorka, Srbija), etanol (96%, denaturizovani, Carlo Erba, Italija) i na kraju, destilovana voda. Hidroliza i polikondenzacija Ti(OBu)₄ su izvedeni na temperaturi leda.

Nakon želatiniranja, mokri gelovi su osušeni na 80 °C a potom su ti suvi gelovi kalcifikovani na temperaturi od 500 °C u trajanju od 2,5 sata da bi se dobili nanokristali TiO₂. Stepni zagrevanja i hlađenja su bili isti: 135 °C h⁻¹.

Fotokatalitički eksperiment

Degradacija amoksicilina primenom heterogene fotokatalize je proučavana u dejonizovanoj vodi korišćenjem nanokristalnog TiO₂. Fotokatalitički eksperimenti su izvedeni u staklenom termostatom reaktoru cilindričnog oblika, čija zapremina je iznosila 100 cm³.

Za ozračivanje je korišćena Osram Ultra Vitalux 300W lampa, sa odnosom UV-A i UV-B svetlosti 13.6:3, udaljena 40 cm od reakcione smeše. Zabeležena je promena temperature od 2,5 °C u toku 210 min ozračivanja. Dvostruki zidovi reaktora omogućili su održavanje temperature reakcije cirkulacijom termostatisane vode.

Reakcioni uslovi eksperimenata bili su sledeći: zapremina ispitivanog rastvora amoksicilina, $V = 25,00 \text{ cm}^3$, koncentracija katalizatora $C_{\text{kat}} = 2,0 \text{ g dm}^{-3}$, početna koncentracija rastvora amoksicilina $C_0 = 100 \text{ mg dm}^{-3}$, temperatura $t = 25 \text{ °C}$.

U eksperimentima gde su proučavani uticaji jednog od parametara kao što su: masa katalizatora, početna koncentracija supstrata, pH vrednosti, uticaj prisustva soli, uticaj prisustva elektron-akceptora, odnosno uticaj prisustva hvatača [•]OH radikala na brzinu fotodegradacije, testiranim parametrima su menjane vrednosti.

Tokom ozračivanja suspenzija je mešana na magnetnoj mešalici (Heidolph, 500 rpm) 30 minuta u mraku čime je postignuta ravnomerna raspodela TiO₂ čestica odnosno adsorpciono/desorpciona ravnoteža.

Tokom trajanja eksperimenata, u određenim vremenskim intervalima su uzimani uzorci za analitička ispitivanja koji su prethodno centrifugirani na 12000 rpm tokom 10 minuta, a potom filtrirani kroz najlonski špric filter (Cronus, 13 mm, 0,45 μm), sa ciljem da se uklone nataložene čestice nanokristalnog TiO₂ pre analize.

Svi eksperimenti su urađeni u triplikatu.

Analitičke procedure

Rendgensko-difrakciona analiza (XRD)

Strukturna analiza pripremljenih uzoraka urađena je korišćenjem XRPD Ital Structures APD 2000 difraktometra, primenom Cu-K α ozračivanja ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) ugaoni opseg: $20^\circ < 2\theta < 90^\circ$. Podaci su prikupljeni na svakih $0,01^\circ$ u $20-90^\circ 2\theta$ upotrebom zbirnog vremena od 80 s/korak. Software MDI Jade korišćen je za izračunavanje strukturnih i mikrostrukturnih parametara.

Metoda Williamson-Hall je primenjena za određivanje prosečnih mikronizova i srednjih veličina kristala $\langle D \rangle$ pripremljenih uzoraka.

Dobijene vrednosti upoređene su sa srednjim veličinama kristala izračunatih putem Scheerer-ove formule. Scherrerovom formulom je procenjena veličina kristalita izračunata putem FWHM svih defrakcija prikupljenih u toku merenja.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Morfologija pripremljenog TiO₂ nanopraha analizirana je skenirajućim elektron mikroskopom (SEM). Merenja su izvedena na Tescan MIRA 3 field emission gun SEM, pri 10 kV u visokom vakumu. Radna distanca SEM-a je bila oko 4 mm. Prah je sonifikovan u etanolu 15 min. Odmah nakon toga, kap rastvora je izlivena na nov prijanjajući kristal grafita koji je umetnut sa srebrnom pastom u držač uzoraka.

Višak materijala je uklonjen mlazom argon gasa i uzorak je ostavljen da se oslobodi gasa (degas) na niskom vakuumu 1 sat pre merenja na skenirajućem elektron mikroskopu.

Površina uzorka je bila 40° ukošena u odnosu na vertikalnu ravan osovine stuba SEM.

Metoda za određivanje specifične površine, prema Brunauer, Emmet & Teller (BET)

Porozna struktura uzorka anataza uzoraka je evaluirana u odnosu na adsorpciono/desorpcione izoterme N₂ na 196°C koristeći gravimetrijski McBain metod. Glavni parametri poroznosti, kao što su specifična površina i obim pora

procenjivani su BET metodom iz α_s plota. Distribucija veličine pora je procenjivana histerezom sorpcije podataka metodom Barret-Joyner-Halenda.

UV analiza

Nakon centrifugiranja praćena je promena koncentracije ispitivanog jedinjenja na UV/Vis spektrofotometru (Shimadzu 1700) u oblasti 200-400 nm, u kvarcnim kivetama optičkog puta 1 cm. Kinetika degradacije amoksicilina određivana je na 228 nm.

Određivanje pH vrednosti rastvora

pH vrednosti uzoraka su podešavane dodatkom rastvora NaOH ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) ili rastvora HCl ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) i proveravane pomoću pH metra (Hanna HI 2210 pH meter).

Jonsko-hromatografska analiza

Za određivanje sadržaja jona nastalih u degradacionim procesima svi rastvori su razblaživani i filtrirani kroz membranske filtere (Milex - GV $0,22 \mu\text{m}$), a potom analizirani pomoću Dionex DX-300 jonskog hromatografa na sobnoj temp. ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) sa konduktometrijskim detektorom. Jonski hromatograf je bio snabdeven Dionex IonPac AS 14 kolonom $250 \times 4,0 \text{ mm}$ (i.d.) za određivanje anjona. Kao mobilna faza za određivanje anjona korišćen je karbonatno/bikarbonatni rastvor ($3,5 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Na}_2\text{CO}_3 + 1,0 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ NaHCO}_3$). Protok mobilne faze bio je $1,0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Zapremina injektiranja je iznosila $50 \mu\text{l}$. Pre analiziranja uzoraka kao slepa proba je korišćena dejonizovana voda.

Sadržaj ukupnog organskog ugljenika (TOC)

Za određivanje sadržaja ukupnog organskog ugljenika (TOC), uzorci su analizirani pomoću Zellweger LabTOC 2100 instrumenta koji koristi visoko-temperaturno sagorevanje praćeno infracrvenom CO_2 detekcijom.

Elektrohemijska degradacija

Ispitivanje elektrohemijske degradacije je izvedeno u staklenoj elektrohemijskoj ćeliji cilindričnog oblika sa elektrolitom zapremine 250 cm^3 . Elektrolit je pripremljen na

sledeći način: 118 mg azitromicina je rastvoreno u 62,5 ml metanola a zatim je dodato 62,5 ml 0,1 M NaHCO₃ i rastvor koji je sadržavao 1,25 g natrijum hlorida i 125 ml dejonizovane vode. Veoma je važno da se na početku eksperimenta azitromicin rastvori u metanolu, s obzirom da je praktično nerastvorljiv u vodi.

Dimenzionalno stabilna DSA Ti/RuO₂ elektroda površine 5 cm² je pripremljena na način koji je opisan (Spasojević i sar., 1987) i upotrebljena je kao anoda. Struktura i stabilnost DSA Ti/RuO₂ je proučena i diskutovana u (Yunus i sar., 2009; Ihos i sar., 2014). Pločica (10 cm²) izrađena od austenita 18Cr/8Ni nerđajućeg čelika serije 304 je korišćena kao katoda. Galvanostatski parametri su zadavani koristeći Volta Lab 402. Elektrolit je mešan magnetnom mešalicom na zadatih 250 obrtaja.

Diferencijalna pulsna voltometrija (DPV)

Diferencijalno pulsno voltometrijska (DPV) merenja su korišćena za elektroanalitičku studiju degradacije azitromicina na anodi od staklastog ugljenika. Merenja su obavljena na uređaju Volta Lab 402. Troelektrodna elektrohemijaska ćelija je sadržavala staklasti ugljenik (GC) kao radnu elektrodu, žicu od zlata kao kontra-elektrodu i zasićenu kalomelovu elektrodu (ZKE) kao referentnu. Svi elektrodni potencijali su dati u odnosu na (ZKE). Elektroda od staklastog ugljenika (Pine, površina 0,5 cm²) je ispolirana dijamantskom pastom, očišćena smešom 18 MΩ dejonizovane vode i sumporne kiseline i u nastavku eksperimenta čišćena sa 18 MΩ dejonizovanom vodom u ultrazvučnom kupatilu. Pre svakog eksperimenta radna elektroda je ispitivana cikličnom voltametrijom u opsegu potencijala -0,45 i 1,1 V u osnovnom elektrolitu (0,05 M NaHCO₃; pH = 8,4) pri brzini promene potencijala 50 mV s⁻¹ sve dok nije dobijen stabilan CV. Za DPV merenja upotrebljen je isti elektrolit koji je opisan kod elektrohemijske degradacije azitromicina. Akumulacija azitromicina na radnoj elektrodi je ostvarena u vremenskom intervalu od 60 s na 0 V. Nakon toga, potencijal je skeniran od 0 do 1,1 V pri brzini od 50 mVs⁻¹, pulsnoj amplitudi od 50 mV i pulsnom vremenu od 0,05 s.

HPLC analiza

HPLC analiza je izvedena pomoću HPLC sistema koji se sastojao od Agilent 1100 serijskog vakumskog degasifikatora, G1311A Quaternary pumpe, G1329A auto sampler.a i G1316a PDA detektora.

Razdvajanje je postignuto na C18 250 mm x 4,6 mm, 5µm koloni (Waters XTerra MS C18), pri brzini protoka od 1,0 mL min⁻¹. Mobilna faza A se sastojala od 1,80 g/L rastvora bezvodnog dinatrijum vodonik fosfata (Na₂HPO₄), pH vrednosti 8,9 sa rastvorenim fosforom kiselinom. Mobilna faza B se sastojala od smeše metanola i acetonitrila (250:750 V/V). Zadana injekciona zapremina 100 µL. Pri ovim hromatografskim uslovima obavljeno je testiranje azitromicina i njegovih degradacionih proizvoda u elektrolitu.

LC - ESI - MS analiza uzoraka azitromicina

6210 ToF LC-MS system (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) povezan je sa Agilent 1200 Series HPLC instrument-om (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany), sa degaserom, binarnom pumpom, autosemplerom, sekcijom snabdevenom Zorbax Eclipse XDB-C18 RRHT kolonom (1,8 µm, 4,6 mm x 50 mm) i detektorom diodnih zraka preko ESI interfejsa. Mobilna faza se sastojala od vode sa 0,2 % mravlje kiseline (v/v) (A) i acetonitrila (B). Brzina protoka mobilne faze je bila 0,5 mL/min, temperatura kolone 40 °C a injekciona zapremina 10 µL. Maseni spektri su snimani u opsegu 100 i 1500 *m/z* u pozitivnom jonskom modu.

Korišćen je pozitivan ESI jonski režim rada, kapilarna voltaža od 4000 V, fragmentor voltaža 70 V, skimmer voltaža 60 v i OCT RF voltaža 250 V. Raspršujući gas (azot): pritisak 45 psi, temperature 350 °C, brzina protoka 12 L/min. Koristeći ove parametre, izdvojene čiste komponente su snimljene kao [M + H]⁺, [M+Na]⁺, [M + K]⁺, [2M + H]⁺, [2M+Na]⁺, [2M + K]⁺ ili [M + 2H]²⁺ joni. Računar sa MassHunter Workstation softverom je korišćen za beleženje podataka i procesiranje istih.

Analize ukupnog organskog ugljenika (TOC)

Analize ukupnog organskog ugljenika rađene su pomoću PPM LAB TOC analajzera (Pollution & Process Monitoring Ltd.).

REZULTATI I DISKUSIJA

U ovom poglavlju predstavljeni su rezultati proučavanja fizičko-hemijskih metoda degradacije amoksicilina i azitromicina u vodenoj sredini. U prvom delu su prikazani rezultati studije fotokatalitičke degradacije amoksicilina u dejonizovanoj vodi u prisustvu nanokristalnog TiO₂ kao katalizatora. Ispitivani su uticaji bitnih faktora na kinetiku degradacionog procesa i to: uticaj početne koncentracije TiO₂, uticaj početne koncentracije amoksicilina, uticaj početne koncentracije NaCl i Na₂SO₄, uticaj početne pH vrednosti i uticaj dodatog etanola kao hvatača [•]OH radikala.

Tokom fotokatalitičkog procesa praćen je stepen mineralizacije proučavanog antibiotika. U drugom delu ovog poglavlja su predstavljeni rezultati ponašanja azitromicina pod uslovima elektrohemijske degradacije na DSA Ti/RuO₂ elektrodi.

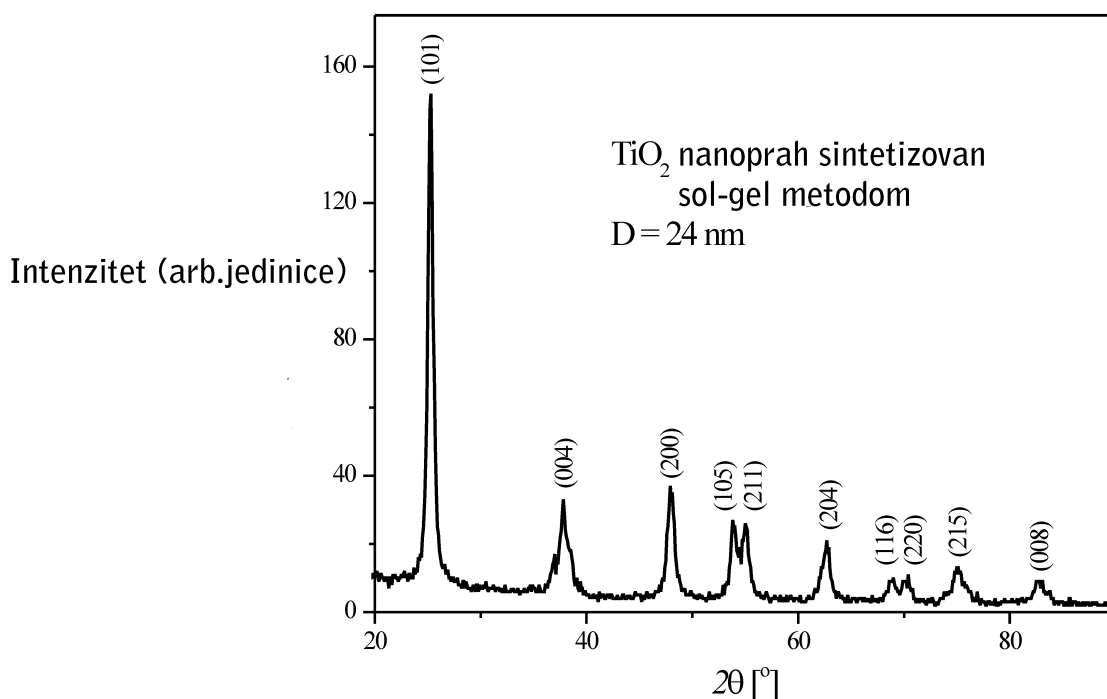
FOTOKATALITIČKA DEGRADACIJA AMOKSICILINA

Metode karakterizacije površine nanokristalnog TiO₂

Metoda difrakcije X-zraka (XRPD)

Najintenzivniji pikovi defrakcije u XRPD modelu sol-gel metodom proizvedenog uzorka mogu da se pripišu kristalnoj strukturi anastaza (JCPDS karta 21-1272) i prikazani su zajedno sa pripadajućim Miller indeksima, na Slici 17. Nema dokaza o rutil a ni o brukit fazi. Strukturne osobine našeg TiO₂ su bile : parametri kristalne rešetke $a = 3,784 (3) \text{ \AA}$, $c = 9,53 (0) \text{ \AA}$, $V = 136,4 \text{ \AA}^3$. Prosečna veličina primarne čestice je bila 15 nm dobijena je Scherrerovom analizom, ili 24 nm sa mikronizovima od 0,301 % dobijenim Williamson –Hall metodom, dok je za Degussa P25 nađeno da iznosi 31 nm (Alkain i sar., 2013) ili 20 nm (Colón i sar., 2001) računato pomoću Scherrer-ove jednačine. BET analiza je pokazala specifičnu površinu zone (BET) od $52 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ za naš uzorak sa volumenom pore $0,1063 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ i prečnikom pore 5,3 nm, dok su podaci za Degussa P25 bili specifična površina zone $52 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ kao u (Alkain i sar., 2013) i slična vrednost je ustanovljena u literaturi i iznosi $51 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (Colón i sar., 2001) Volumeni pora su bili $0,150 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ i prečnik pore 31,5 nm (Colón i sar., 2001) pri čemu ovi podaci nisu citirani u radu Alkain i sar. (2013).

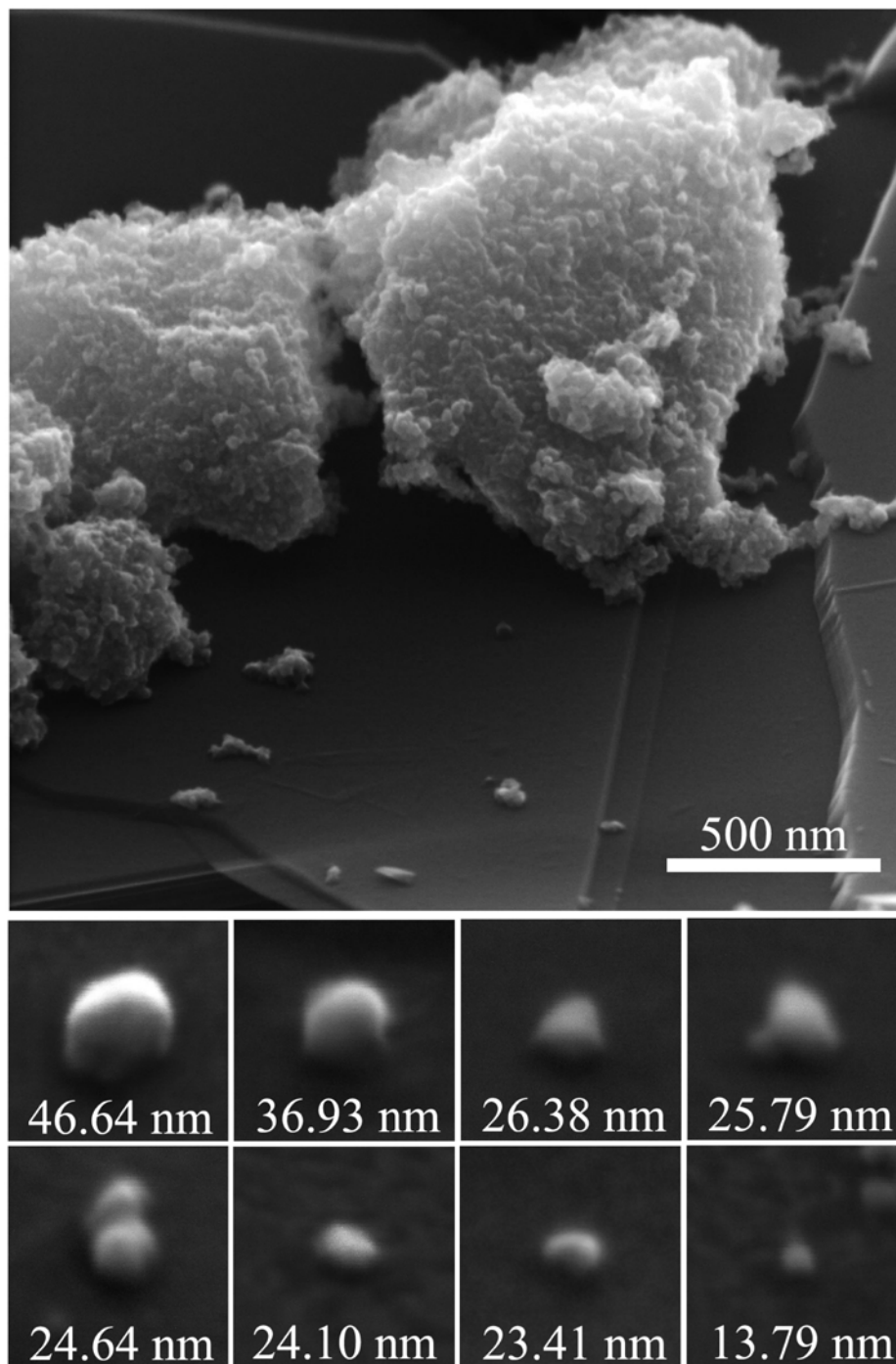
Iz tih razloga, može se sugerisati da je specifična površina zone važan parametar za fotokatalitičku degradaciju. Degussa P25 je komercijalno i najpopularnije jedinjenje za fotokatalitičku degradaciju. To je kombinacija anataz i rutil faze (82% anataz faze i 18% faze rutil (Alkain i sar., 2013)), dok je naš uzorak imao čistu anataz fazu. Jedan od razloga za sintezu nanokristalnog TiO₂ i njegovo upoređivanje sa Degussa P25 jeste unapređenje znanja o mehanizmu fotokatalitičke degradacije i, u okviru izbora ponuđenih parametara, oblikovanje jedinstvenog procesa.



Slika 17. XRPD difraktogrami odabranog TiO₂ uzorka zajedno sa Miller.ovim indeksima (JCPDS card 21-1272)

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Rezultati SEM merenja prikazani su na Slici 18. Aglomeracijska struktura se jasno sagledava, što je u skladu sa činjenicom da je pH vrednost gela jednaka nultoj tački naelektrisanja (PZC) za TiO₂ dobijen iz tetrabutil- titanata (Koslulski, 2001), koji promovise višu aglomeraciju. Vrednosti prečnika individualnih čestica su u skladu sa vrednošću prosečne veličine čestice dobijene Williamson-Hall metod. (vrednost 24 nm).



Slika 18. Gore: SEM slika strukture konglomerata, takođe vidljive manje kongomerisane strukture i nekoliko pojedinačnih čestica. Slika na gornjoj poziciji je uvećana 200×. Dole: osam pojedinačnih čestica. Dimenzije svake slike su 100 nm×100 nm, uvećanje svake slike na donjoj poziciji je 1M×. Prečnik svake čestice je približno oko ± 4 nm od date vrednosti

Sinteza nanokristalnog TiO₂

Nanokristali TiO₂ mogu se obično dobiti sol-gel metodom gde se titanium tetrahlorid, isopropoksid titanat i tetrabutyl-titanat koriste kao prekursori (Hei Lin 1997; Deshpande i sar., 2006).

U našoj studiji, tetrabutyl titanat (Ti(OBu)₄) je korišćen kao prekursor i molarni odnos između reagensa je bio Ti(OBu)₄:HCl:EtOH:H₂O = 1:0.3:15:4 gde je hlorovodonična kiselina korišćena kao katalizator, etanol kao rastvarač i voda za hidrolizu. Izmerena pH vrednost koloidne suspenzije iznosila je 7.

Mnogi eksperimenti sinteze TiO₂ su urađeni sa ciljem da se pronađe optimalna kombinacija reagensa sa različitim kiselinama (HCl i CH₃COOH) i njihov različit molarni odnos, ili različiti alkoholi (etanol, pentanol) ali najbolja kombinacija je ona već pomenuta, što je u skladu sa odnosom iz literature (Du i sar., 2006).

Fotokatalitička svojstva dobijenog TiO₂ su prethodno proverena u fotodegradaciji tekstilne boje C.I. Reactive Orange 16 (Golubović i sar., 2016) i upoređena sa Evonik P25. Zabeležena aktivnost je bila slična aktivnosti P25 katalizatora.

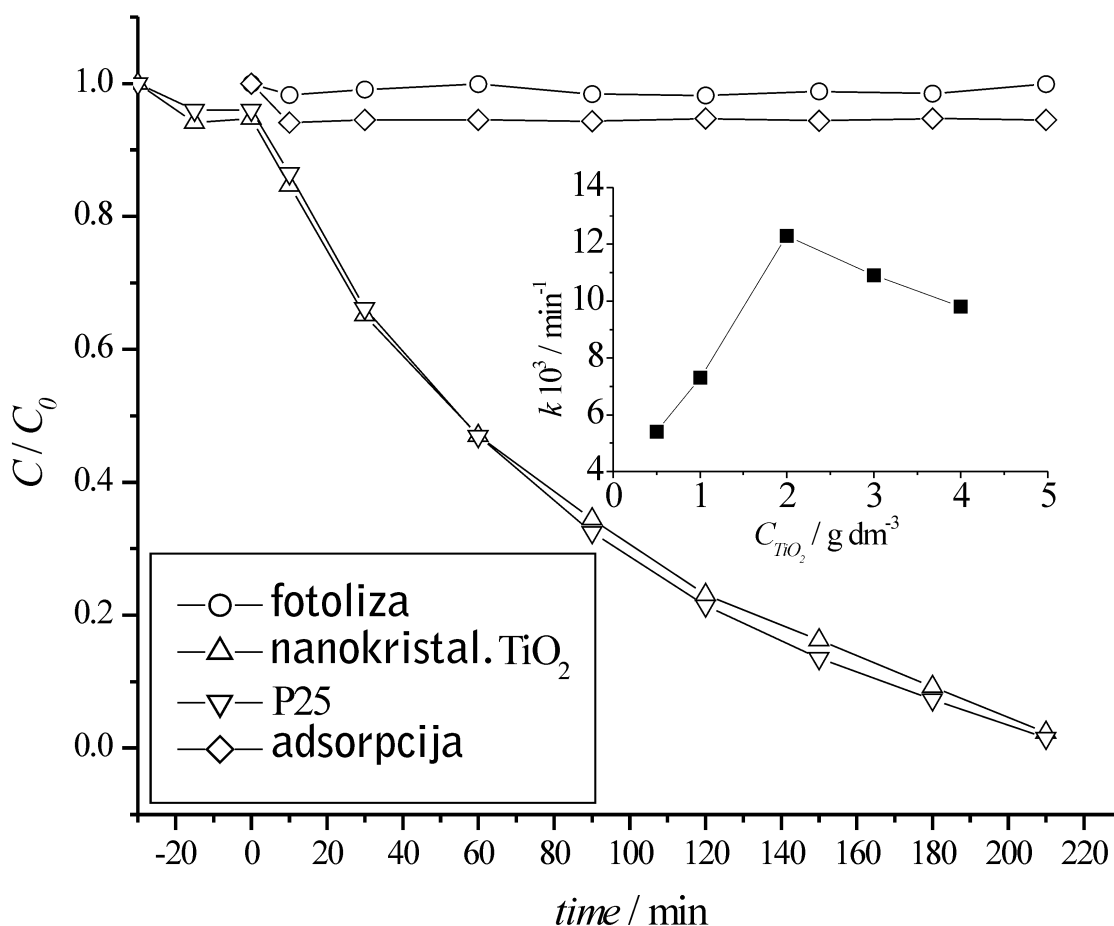
Inicijalni eksperiment

Fotokatalitička degradacija amoksicilina proučavana je korišćenjem nanokristalnog fotokatalizatora TiO₂ u dejonizovanoj vodi. Pre ispitivanja fotokatalitičke degradacije izvedena su dva kontrolna eksperimenta:

- ❖ ispitivanje adsorpcije amoksicilina na TiO₂ u mraku ($C_{\text{kat}} = 2,0 \text{ g dm}^{-3}$, $C_0 = 100 \text{ mg dm}^{-3}$, $V = 25 \text{ cm}^3$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$),
- ❖ ispitivanje degradacije amoksicilina na simuliranoj sunčevoj svetlosti, bez prisustva TiO₂ (fotoliza) ($C_0 = 100 \text{ mg dm}^{-3}$, $V = 25 \text{ cm}^3$, $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Na Slici 19 su prikazani rezultati različitih uslova na proces fotodegradacije amoksicilina u dejonizovanoj vodi. Rezultati ispitivanja korišćenjem lampe Osram Ultra Vitalux 300W pokazuju blagi pad koncentracije amoksicilina (manje od 5%) u toku vremenskog perioda od 210 minuta. To je u saglasnosti sa prethodno publikovanim literaturnim podacima, gde je nađeno da je amoksicilin relativno stabilan u životnoj

sredini kao i pri simuliranoj fotolizi u kratkom vremenskom intervalu (Andreozzi i sar., 2004; Xu i sar., 2011). Degradacija pri UV svetlosnim zracima talasne dužine 365 nm posledica je hidrolize pre nego fotolize (Elmolla i Chaudhuri, 2010). Isto tako poređenje procesa fotokatalize i adsorpcije potvrđuje važnost mešanja reakcione suspenzije u vremenu od 30 minuta u mraku pre početka procesa fotokatalize, kako bi se došlo do adsorpcione ravnoteže (Lambropoulou i sar., 2011). Uravnotežena koncentracija AMX koristi se kao početna C_0 koncentracija (Slika 19) Adsorpcija amoksicilina na površini TiO_2 P25 katalizatora sličnih je vrednosti u poređenju sa adsorpcijom na površini sintetizovanog nanokristalnog TiO_2 (oko 4%).



Slika 19. Uticaj različitih uslova na fotodegradaciju amoksicilina u deionizovanoj vodi ($C_{\text{kat}}= 2,0 \text{ g dm}^{-3}$, $C_0= 100 \text{ mg dm}^{-3}$, $V=25 \text{ cm}^3$ $t=25 \text{ }^\circ\text{C}$); dodatak: uticaj koncentracije nanokristalnog TiO_2 na brzinu reakcije

Degradacija izučavanog antibiotika je uočena kada je suspenzija nanokristalnog TiO₂ i amoksicilina osvetljena. Slika 19 pokazuje da je skoro kompletna degradacija amoksicilina postignuta za 210 min.

Stepen uklonjenosti amoksicilina i konstanta brzine reakcije (k) su korišćeni kao mera katalitičke aktivnosti nanokristalnog TiO₂ u procesima fotokatalitičke degradacije. Stepenn uklonjenosti jedinjenja je određen korišćenjem sledeće jednačine:

$$\text{Stepen uklonjenosti(\%)} = \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) 100$$

gde je :

C_0 (mg dm⁻³) - početna koncentracija amoksicilina,

C (mg dm⁻³) - koncentracija amoksicilina u vremenu t .

Konstanta brzine degradacije pseudo prvog reda, k je određena korišćenjem Langmuir-Hinshelwoodov-og kinetičkog modela prema jednačini :

$$\ln (C_0/C) = k't \quad \text{R32}$$

gde je $k' = kK$

tj. prividna konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda (Carlos i Ferro, 2006). Pri višim koncentracijama reaktanata, pri kojima se postiže zasićenje površine katalizatora (kada je $Kc_0 \gg 1$), jednačina $(\ln (C_0/C)) + K(C_0 - C) = kKt$ se pojednostavljuje do izraza za konstantu brzine reakcije nultog reda:

$$- dC /dt = k \quad \text{R33}$$

pa je:

$$\ln (C_0/C) = kt \quad \text{R34}$$

$$C = C_0 e^{-kt} \quad \text{R35 (Konstantinou i Albanis, 2003)}$$

Konstanta brzine degradacije pseudo prvog reda je dobijena iz linearne zavisnosti $\ln(C_0/C)$ od vremena. Dodatak na Slici 19 prikazuje uticaj početne koncentracije katalizatora na konstantu brzine degradacije pseudo prvog reda.

U cilju ispitivanja uticaja početne koncentracije fotokatalizatora pripremljeni su rastvori amoksicilina u dejonizovanoj vodi koncentracije 100 mg dm^{-3} . U seriji fotokatalitičkih eksperimenata pod istim reakcionim uslovima menjana je samo koncentracija TiO_2 u intervalu od $0,5\text{-}4,0 \text{ g dm}^{-3}$.

Povećanjem količine katalizatora povećava se raspoloživa površina za adsorpciju supstrata. Međutim, ona se povećava samo u opsegu $0,5 - 2,0 \text{ g dm}^{-3}$, pri čemu se sa daljim povećanjem koncentracije fotokatalizatora povećava i замуćenje rastvora (zbog povećanog rasipanja svetlosti (Abramović i sar., 2011)) i dolazi do smanjenja prodiranja svetlosti u rastvor čime se smanjuje i brzina degradacije. Ovo ima za posledicu smanjenje efikasnosti fotokatalize usled nastanka manjeg broja parova $e^- - h^+$ (LeBlanc i Kuivila, 2008; Li Puma i sar., 2008). Isto tako, visoka koncentracija katalizatora može dovesti i do aglomeracije čestica TiO_2 , a samim tim i do smanjenja površine katalizatora dostupne za apsorpciju svetlosti (Bahnemann i sar., 2007).

Pri koncentraciji katalizatora većoj od optimalne nastaje veći broj HO_2^\bullet radikala koji su slabiji oksidansi od $^\bullet\text{OH}$ -radikala, što dovodi do smanjenja brzine degradacije (Fenoll i sar., 2012).

Na osnovu dobijenih rezultata, optimalna koncentracija TiO_2 za degradaciju amoksicilina u vodenoj suspenziji iznosi $2,0 \text{ g dm}^{-3}$.

Katalitičko svojstvo nanokristalnog TiO_2 upoređeno je sa katalizatorom P25. Slika 19 pokazuje da u slučaju degradacije amoksicilina nanokristalni TiO_2 ima slična katalitička svojstva kao P25. Ovo je u skladu sa prethodno dobijenim rezultatima za fotokatalitičku degradaciju C.I. Reactive Orange boje (Golubović i sar., 2016).

Optimizacija metode fotokatalitičke degradacije amoksicilina izvršena je u dejonizovanoj vodi, praćenjem uticaja ključnih parametara procesa.

Uticaj pH vrednosti

Kao što je u teorijskom delu navedeno pH vrednost sredine utiče na efekat fotokatalitičke degradacije različitih organskih zagađujućih materija. Interpretacija ovog uticaja je složena, jer se objašnjava elektrostatičkim interakcijama između površine TiO_2 , molekula rastvarača, supstrata i naelektrisanih radikalskih oblika koji nastaju tokom procesa. Pri ispitivanju uticaja inicijalne vrednosti pH na kinetiku fotodegradacije ispitivanog antibiotika, pripremljeni su rastvori odgovarajućih pH vrednosti dodavanjem vodenog rastvora HCl ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$), odnosno NaOH ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$).

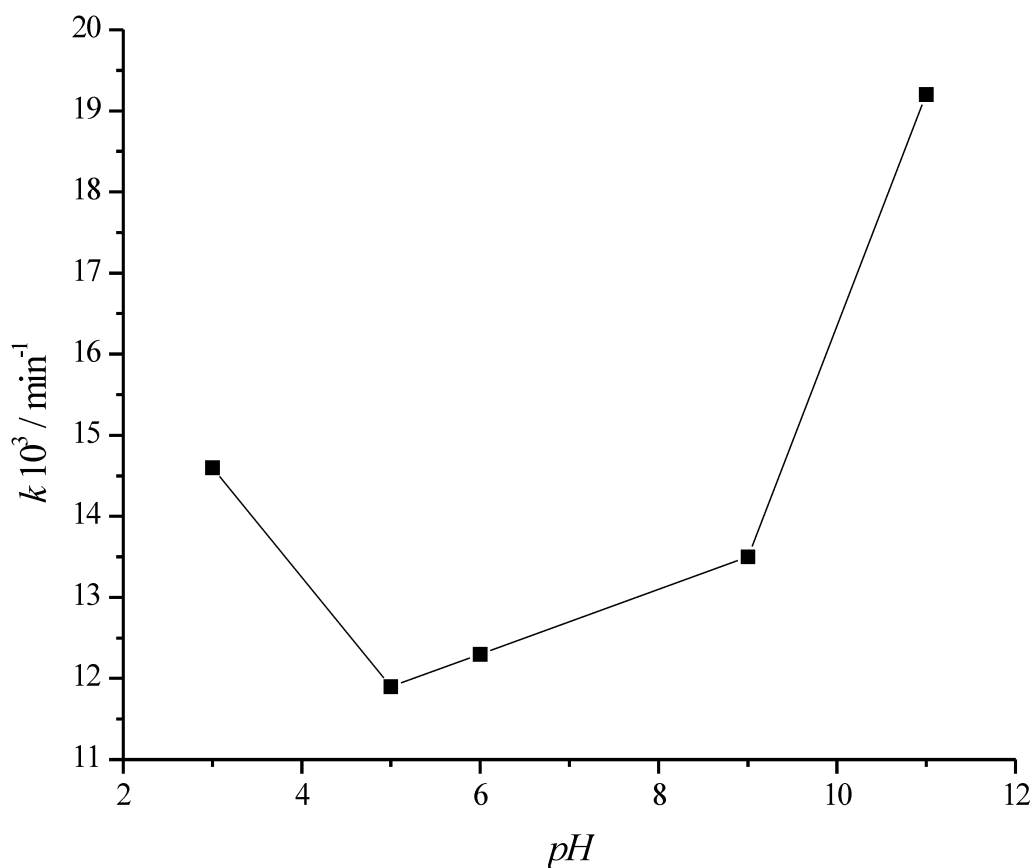
U okviru ove doktorske disertacije, izvedeni su eksperimenti na pet različitih pH vrednosti: 3, 5, 6, 9 i 11. Treća pH vrednost predstavlja pH vrednost rastvora koji se dobija rastvaranjem amoksicilina u vodi. Izmerena pH vrednost vodenog rastvora amoksicilina je 6. Na Slici 20 pokazano je da povećanje pH vrednost od 3 do 5/6 smanjuje brzinu reakcije.

Emmola i sar. (2010) su pokazali da amoksicilin ima pozitivno naelektrisanje u kiseloj sredini, dok u baznoj sredini ima negativan elektrostatički potencijal. S druge strane, za pH vrednosti veće od tačke nultog naelektrisanja nanokristalnog TiO_2 (pH_{IET} , 6,8 (Giwa i sar., 2012)), površina postaje negativno naelektrisana i suprotno za $\text{pH} < \text{pH}_{\text{IET}}$ ona postaje pozitivno naelektrisana.

Iz ovoga sledi da su amoksicilin i nanokristalni TiO_2 pozitivno naelektrisani u kiseloj sredini. Primećen veći stepen degradacije (oko 20%) u kiselijim uslovima u poređenju sa manje kiselim/neutralnim uslovima može da se objasni hidrolizom antibiotika kao što je ranije objavljeno (Hou i Poole, 1971).

Nestabilnost beta-laktamskog prstena pri većoj vrednosti pH dokumentovana je u literaturi (Deshpande i sar., 2004). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa prethodno objavljenim uticajem pH na fotodegradaciju amoksicilina (Klauson i sar., 2010; Elmolla i Chaudhuri, 2010).

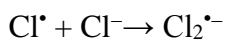
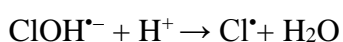
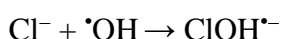
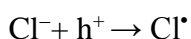
Primećena veća brzina degradacije amoksicilina pri niskim i visokim vrednostima pH rezultat je fotokatalitičkog uticaja nanokristalnog TiO_2 i nestabilnosti amoksicilina. Naime, utvrđeno je da konstanta brzine hidrolize amoksicilina pri pH 3 i pH 11 iznosi $0,13$ i $1,7 \text{ min}^{-1}$ (Deshpande i sar., 2004). Konstante brzine fotokatalitičke reakcije u ovom radu, pri pH 3 i pH 11, iznose $14,6$ i $19,2 \text{ min}^{-1}$.



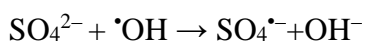
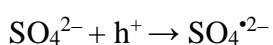
Slika 20. Uticaj početne pH vrednosti rastvora amoksicilina na brzinu fotokatalitičke degradacije u dejonizovanoj vodi u prisustvu optimalne koncentracije nanokristalnog TiO_2 od 2 g dm^{-3} .

Uticaj početne koncentracije soli

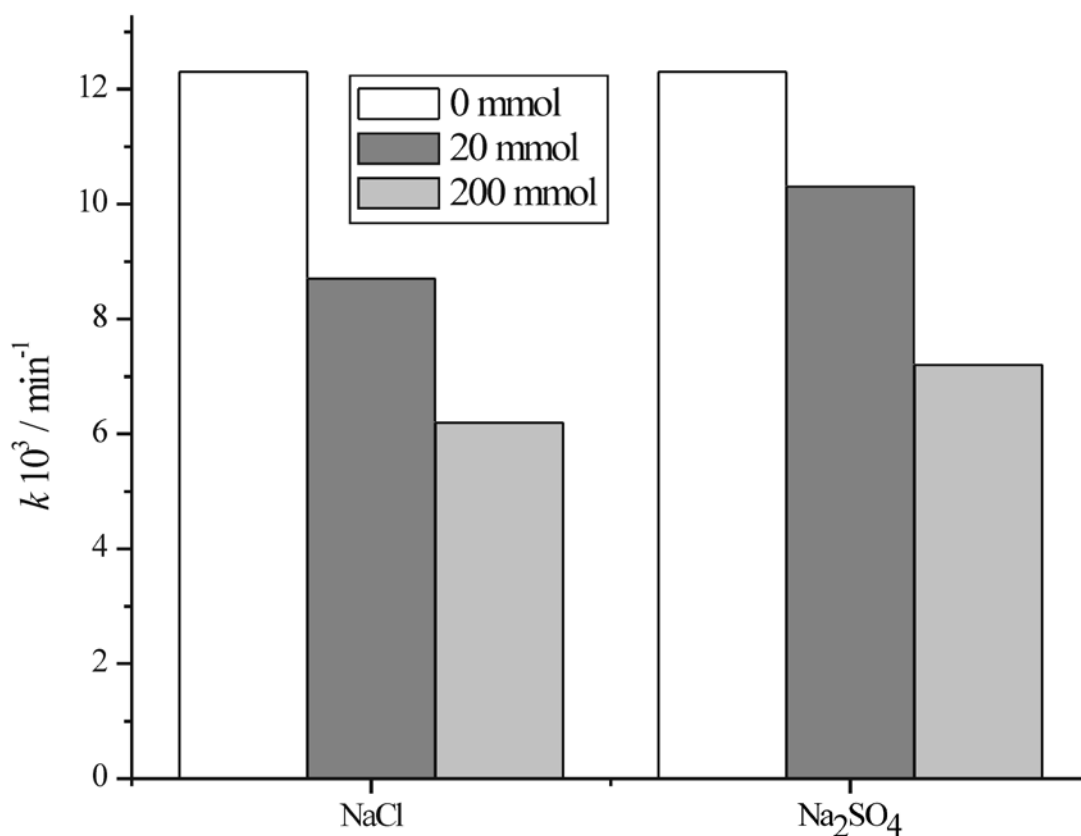
Neorganski joni, koji su obično prisutni u otpadnim vodama, mogu da utiču na fotokatalitičku degradaciju organskih zagađivača. Neorganski anjoni, kao što su karbonati, nitriti, hloridi i sulfati mogu da imaju značajan uticaj na reakcije fotodegradacije (Mijin i sar., 2009). Uticaj početne koncentracije soli na kinetiku heterogene fotokatalize je često predmet istraživanja, s obzirom da su ovi procesi pretežno vođeni oksidativnim vrstama kao što su fotogenerisane šupljine valentne zone (h^+) ili hidroksil-radikali ($\cdot OH$). Prisustvo njihovih akceptora može značajno inhibirati brzinu fotokatalitičke degradacije. Stoga je u okviru ove doktorske disertacije proučavan efekat anjona Cl^- i SO_4^{2-} , dodavanjem $NaCl$ i Na_2SO_4 do određene koncentracije (20 i 200 $mmol\ dm^{-3}$). Neorganski anjoni kao što su SO_4^{2-} i Cl^- inhibiraju proces degradacije tako što ulaze u kompeticiju sa supstratom za aktivna mesta na površini fotokatalizatora, u zavisnosti od pH vrednosti rastvora. Isto tako, anjoni mogu da reaguju sa šupljinama i $\cdot OH$ radikalima pri čemu nastaju radikal joni ($Cl\cdot$, $SO_4^{\cdot-}$). Međutim, redoks potencijali nastalih radikal jona su niži od redoks potencijala $\cdot OH$ radikala, što dovodi do smanjenja efikasnosti degradacije (Wang i sar., 2013). Formirani $Cl\cdot$ se trenutno dalje transformišu: (Hu i sar., 2003; Kashif i Ouyang, 2009; Glavaški i sar., 2016)



Sulfatni kao i hloridni anjoni ulaze kompeticiju sa molekulima amoksicilina, što dovodi do reakcije navedenih anjona sa šupljinama i hidroksil-radikalima. Kao posledica ovih reakcija javlja se usporavanje fotokatalitičkog procesa (Santiago i sar., 2014)



Mesta na površini nanokristalnog TiO_2 na kojima se vrši adsorpcija i transfer elektrona mogu da se blokiraju anjonima, čineći ih na taj način efikasnim inhibitorima. Dobijeni rezultati (Slika 21) pokazuju da je anjon hlora snažniji inhibitor u poređenju sa anjonom sulfata, što je usaglašeno sa prethodno objavljenim rezultatima o uticaju soli (Glavaški i sar., 2016). Povećanje koncentracije soli inhibira reakciju. Dok je konstanta pseudo-prve reakcije za nižu koncentraciju natrijum hlorida $8,7 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, konstanta pseudo-prve reakcije za istu koncentraciju natrijum sulfata iznosi $10,3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, što jasno ukazuje da je anjon hlora snažniji inhibitor od sulfatnog. Isto je primećeno i kod viših koncentracija (konstante brzine reakcije za natrijum-hlorid i natrijum-sulfat su bile: $6,2 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ i $7,2 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, r). Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se je natrijum-hlorid snažniji inhibitor.

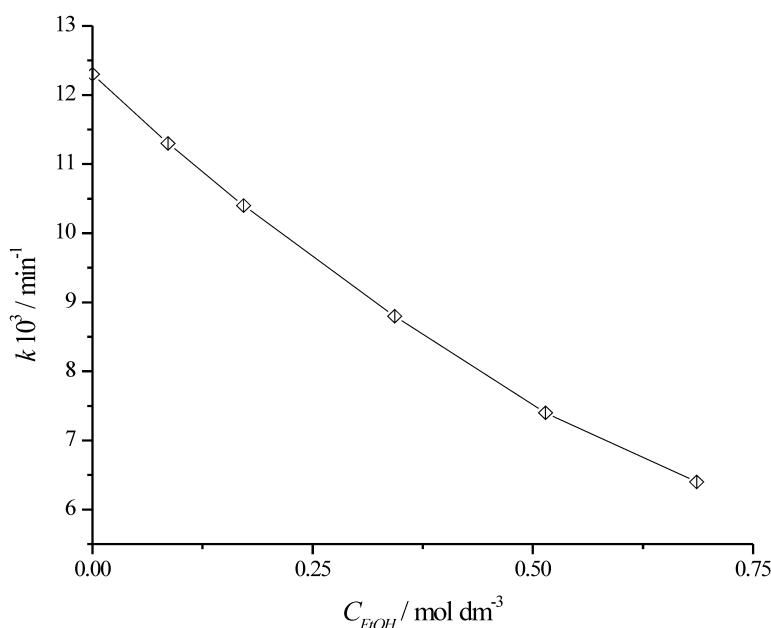


Slika 21 . Uticaj neorganskih soli na brzinu fotokatalitičke degradacije amoksicilina (100 mg dm^{-3}) u dejonizovanoj vodi u prisustvu optimalne koncentracije nanokristalnog TiO_2 od 2 g dm^{-3}

Uticaj „hvatača“ $\cdot\text{OH}$ radikala

Poznato je da alkoholi kao etanol ili metanol deluju kao „hvatači“ $\cdot\text{OH}$ radikala (Ciriaco i sar, 2009; Comninellis i Chen, 2010). U cilju provere dodavan je u reakcionu smešu. Etanol je izabran zato što u njegovom prisustvu nastaju slabiji oksidansi (alkoksi-radikali) koji reaguju sa substratom (Sohrabi i sar., 2009). Brzina fotokatalitičke reakcije se smanjuje povećanjem količine dodatog organskog jedinjenja u odnosu na istu reakciju bez dodatka ovog rastvarača.

Studijom Osajima i sar. (2008) je utvrđeno da je inhibitorni uticaj rastvarača na efikasnost degradacije sledeći: heksan < acetonitril < 2-propanol < 1-butanol < 2-metil-2-propanol, tj. dobijeni rezultati potvrđuju činjenicu da su alkoholi dobri „hvatači“ $\cdot\text{OH}$ radikala. Dobijeni rezultati, prikazani na Slici 22 jasno pokazuju da brzina degradacije opada sa povećanjem koncentracije etanola u reakcionoj smeši. Dodavanje etanola, u koncentraciji od $0,69 \text{ mol dm}^{-3}$ umanjuje brzinu reakcije dva puta. To ukazuje da $\cdot\text{OH}$ radikali imaju značajnu ulogu u fotodegradaciji amoksicilina (Daneshvar i sar., 2004).



Slika 22. Uticaj etanola na brzinu fotokatalitičke degradacije amoksicilina (100 mg dm^{-3}) u dejonizovanoj vodi u prisustvu optimalne koncentracije nanokristalnog TiO_2 od 2 g dm^{-3}

Očitavanje rezultata dobijenih jonskom hromatografijom i TOC analizom

Cilj svakog degradacionog postupka je transformacija polaznog jedinjenja u netoksične materije, kao što su neorganske soli, ugljenik (IV)-oksid i voda. Naravno da je takvo idealno rešenje veoma teško ostvarivo. Stoga je degradacija polaznog jedinjenja u manje toksična uz postizanje što višeg stepena mineralizacije poželjan rezultat.

Jonske vrste nastale u procesu degradacije amoksicilina, kao i normalizovana potpuna eliminacija organskog ugljenika (TOC/TOC₀), prikazane su na Slici 23. Atomi ugljenika i kiseonika daju CO₂ i H₂O, dok heteroatomi daju odgovarajuće neorganske jone.

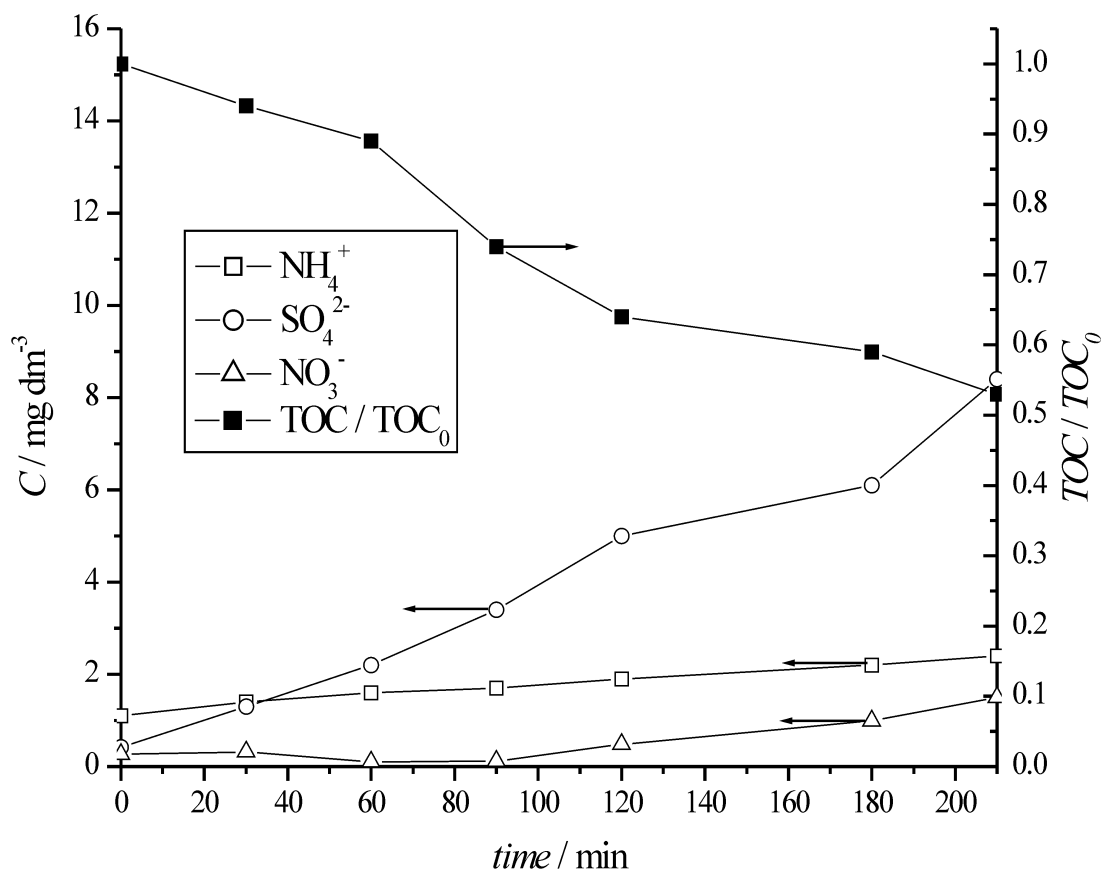
Budući da amoksicilin sadrži azot i sumpor kao heteroatome, očekivano je nastajanje NH₄⁺, NO₂⁻/NO₃⁻ i SO₄²⁻ jona. Jonska hromatografija je zabeležila formiranje NH₄⁺, NO₃⁻ i SO₄²⁻ jona, kao rezultat fotodegradacije. Amoksicilin u svojoj strukturi sadrži tri atoma azota, od kojih su dva povezana alifatičnom vezom i jedan atom sumpora koji se nalazi u β-laktamskom prstenu.

Rezultati su pokazali da je inicijalna koncentracija NH₄⁺ bila 1,1 mg dm⁻³. Nakon fotodegradacije koncentracija se uvećala na 2,4 mg dm⁻³. Koncentracija NO₃⁻ jona se postepeno uvećala od 0,26 do 1,50 mg dm⁻³. Može se zaključiti da je nakon 210 min fotokatalitičke degradacije oko 11,2% azota prevedeno u 8,8% NH₄⁺ i 2,4% NO₃⁻ jona. Na početku reakcije, koncentracija sulfatnih jona je iznosila 0,42 mg dm⁻³, a nakon 210 min vrednost koncentracije se uvećala na 8,4 mg dm⁻³. To ukazuje da je oko 30,4% sumpora mineralizovano u procesu degradacije.

Klauson i sar. (2010) navode da se molekul amoksicilina obično razgrađuje izdvajanjem p-hidroksi-benzoiniske kiseline ili gubitkom amino grupe, što je praćeno otvaranjem beta-laktamskog prstena dajući 3-metil-2-okso-3-sulfobutirnu kiselinu. Rezultati u ovom radu, koji takođe ukazuju da degradacija amoksicilina uključuje formiranje ugljen-dioksida, vode, nitrata, amonijaka i sulfata, su u saglasnosti sa ovim rezultatima.

Mineralizacija amoksicilina je takođe proučavana TOC metodom. Nakon 210 minuta ozračivanja, eliminacija organski vezanog ugljenika je iznosila 47% što ukazuje da procenat eliminacije nije bio proporcionalan procentu nestanka amoksicilina iz sistema.

Na osnovu eksperimentalno dobijenih vrednosti može se zaključiti da su brzine nastajanja SO_4^{2-} i NO_3^- jona, odnosno nestajanja organski vezanog ugljenika manje u odnosu na brzinu degradacije osnovnog jedinjenja, što ukazuje na formiranje intermedijera koji sadrže atome sumpora i/ili azota.



Slika 23. Zavisnost koncentracije neorganskih jona (nitrata, nitrita i sulfata) u toku fotokatalitičke degradacije amoksicilina (100 mg dm^{-3}) u dejonizovanoj vodi ($C_{\text{cat}} 2,0 \text{ g dm}^{-3}$)

ELEKTROHEMIJSKA DEGRADACIJA AZITROMICINA

U revijalnom radu Martinez-Huitle i sar. (2015) jasno je prikazano da dimenzionalno stabilne (DSA) anode SnO₂, PbO₂, grafit i BDD pokazuju veliku hemijsku otpornost za vreme tretmana otpadnih voda.

Hemijsko ponašanje Ti substrata koji je obložen tankim slojem metalnih oksida (Ti, Ru, Ir, Sn, Ta i /ili Sb) u procesu elektrohemijske oksidacije različitih organskih polutanata pokazuje značajnu elektrokatalitičku aktivnost i to je saopšteno u radovima (Martinez-Huitle i sar., 2015; Brillas i Martinez-Huitle, 2015; Oturan i sar., 2013).

Zbog očigledne elektrokatalitičke aktivnosti i stabilnosti u korozivnoj sredini, DSA Ti/RuO₂ elektroda je odabrana za potrebe studije o stabilnosti i mogućnosti degradacije azitromicina indirektnom elektrohemijskom oksidacijom.

Indirektna elektrohemijska oksidacija

Elektrohemijska oksidacija organskih zagađivača u vodenim rastvorima može da se vrši pomoću indirektno anodne oksidacije.

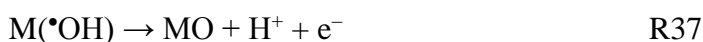
Svojstva materijala od koga su napravljene elektrode utiču na selektivnost i efikasnost oksidacije, a maseni transfer postaje veoma važan proces, često važniji i od brzine oksidacije.

Za oksidaciju organskih jedinjenja kao anode se koriste različiti materijali, koji se uobičajeno svrstavaju u dve grupe prema svom ponašanju u direktnim procesima degradacije. Neke anode proizvode blagu oksidaciju organskih jedinjenja (takozvane aktivne anode), dok druge (takozvane neaktivne anode) proizvode veoma burne oksidacione uslove i organska jedinjenja se lako mineralizuju (Sin i sar., 2012).

Kod obe vrste anoda, prva reakcija (R36) je oksidacija molekula vode na površini elektrode koja vodi do formiranja adsorbovanih hidroksil radikala (Singh i sar., 2003; Singh i sar., 2007):



Elektrohemijska kao i hemijska reaktivnost adsorbovanih hidroksil radikala zavise od prirode materijala od koga su napravljene elektrode. Aktivne elektrode se odlikuju jakim interakcijom između elektrode (M) i hidroksil radikala ($\bullet OH$). Adsorbovani hidroksil radikali mogu da obrazuju takozvani viši oksid MO sa anodom (R37):



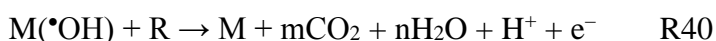
Redoks par MO/M učestvuje u selektivnoj oksidaciji organskih jedinjenja (R38) bez potpunog sagorevanja:



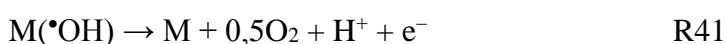
Sporedna reakcija izdvajanja kiseonika (R39), kao rezultat hemijskog razlaganja višeg oksida, je u konkurenciji sa reakcijom navedenom u reakciji:



Neaktivne elektrode karakteriše slaba interakcija između hidroksil radikala i površine elektrode. Na njima se oksidacija organskih jedinjenja odigrava posredstvom hidroksil radikala i može da dovede do potpune mineralizacije organskog jedinjenja.



Ova reakcija je u konkurenciji sa sporednom reakcijom hidroksil radikala u kojoj se proizvodi kiseonik:



Treba naglasiti da neaktivne elektrode ne učestvuju u anodnoj reakciji i takođe nemaju aktivno katalitičko mesto za adsorpciju organskih jedinjenja ili proizvoda (Singh i sar., 2007). U indirektnoj oksidaciji se indirektnom degradacijom dobija hemijski reaktant koji reaguje sa zagađivačem (Sohrabi i sar., 2009). Mogu se koristiti različiti elektrognerisani oksidansi (Fentonov reagens, ozon) (Šojić i sar., 2009; Souissi i sar., 2013).

Natrijum hlorid se najčešće preporučuje u indirektnoj elektrohemijskog oksidaciji (Sohrabi i sar., 2009), zbog svoje niske cene i jakog oksidacionog proizvoda degradacije. Mehanizam elektrognerisanja jakih oksidacionih vrsta - hlora, hipohlorne

kiseline i/ili hipohlorita, iz rastvora koji sadrži jone hlorida uključuje dva koraka (Spasojević i sar., 1987, Stamper i Tuovinen, 1998):

Prvi korak je oksidacija anjona hlorida u hidratisan hlor i odigrava se složenom ukupnom reakcijom:



Drugi korak je brzo disproporcionisanje hidratisanog hlora u HOCl i njihova disocijacija u OCl⁻:



Na pH > 6,0, hipohlorna kiselina disosuje i formira hipohlorit jon i H⁺, na pH ispod ~ 3,5, HOCl daje Cl₂.

Mešavina ovih vrsta se zajednički naziva “aktivni hlor” (Šunjka, 2012).

Uticaj reakcionih parametara na stabilnost azitromicina

Pre galvanostatskih eksperimenata, cikličnom voltametrijom je testirana Ti/RuO₂ anoda u prisustvu azitromicina u elektrolitu čiji je sastav naveden u eksperimentalnom delu i dokazano je da se reakcija direktne oksidacije azitromicina ne odvija uopšte, tj. da je antibiotik elektrohemijski neaktivan .

Prilikom indirektno oksidacije elektrolizom se generišu hemijski reaktanti koji stupaju u interakciju sa ispitivanim molekulima (Cani i Pscarmona, 2014). U radu (Martinez-Huitle i sar., 2015) je istaknuto da najčešće proučavani elektrogenerisani oksidant jeste aktivni hlor, u prvom redu zbog toga što dodavanje jona hlora uzrokuje pojačano uklanjanje organskih polutanata usled učešća “aktivnog hlora” u oksidacionom procesu.

Oksidacija anjona hlora je preduslov formiranja jakih oksidacionih vrsta-hlora, hipohlorne kiseline i/ili hipohlorita (jednačine 1-3)(Mijin i sar., 2012; Cani i Pscarmona, 2014):

Pošto nema podataka koji opisuju reakciju hipohlorita sa makrolidnim antibioticima, može se povući paralela između tercijernog amina i azitromicina. Dakle, u slučaju tercijernog amina, predložena je hlorinacija.

Ovaj mehanizam uključuje korak u kojem se stvara pozitivno naelektrisanje na atomu azota (Abia i sar., 1998) uz izdvajanje hloramonijuma kao prvog međuproizvoda. Ovaj intermedijar može da halogenuje molekule prisutne u rastvoru (Deborde i von Gunten, 2008). Dakle, očekuje se međuproizvod sa halogenim elementom u svojoj strukturi.

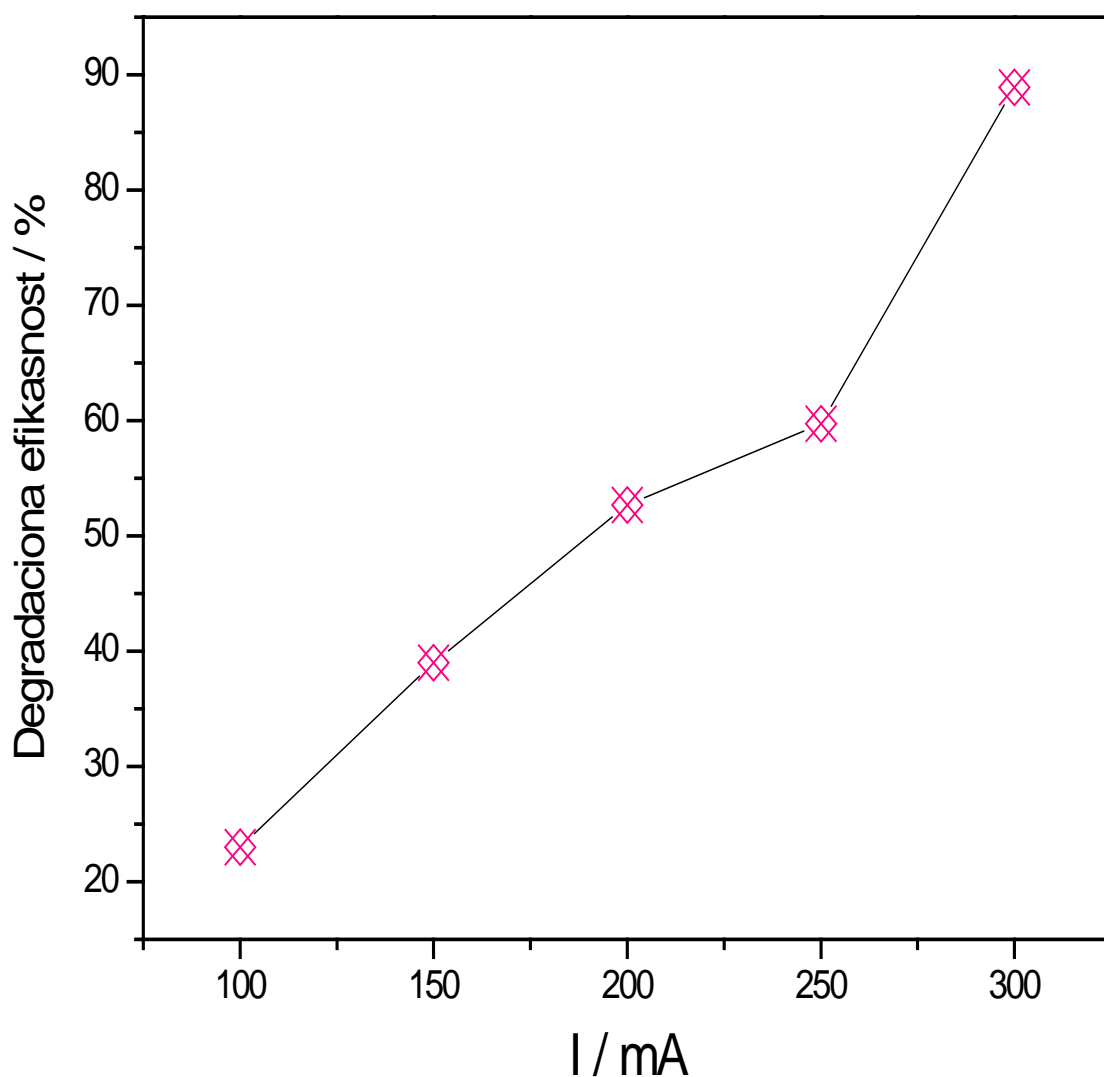
Proučavan je uticaj primenjene struje, koncentracije natrijum hlorida i koncentracije azitromicina na brzinu reakcije i izvedena je optimizacija parametara indirektno elektrohemijske oksidacije azitromicina.

Pretpostavljajući kinetiku reakcije pseudo prvog reda (Zhang i sar., 2009; Kwiecien i Krzek, 2012; Mijin i sar., 2012) konstanta brzine k_{obs} je određena iz nagiba zavisnosti $\ln c(t)/c_0 - t$, uz pomoć statističke regresione analitičke metode na osnovu odgovarajuće jednačine:

$$\ln c(t)/c_0 = -k_{obs}t$$

gde je c_0 - početna koncentracija azitromicina u $\mu\text{g cm}^{-3}$, c - koncentracija azitromicina u reakcionom vremenu t u mg cm^{-3} . Gustina struje je parametar koji određuje brzinu reakcije, i definiše efikasnost procesa. Dakle, proučavanjem uticaja primenjene struje na brzinu hemijske reakcije dobijeni su rezultati prikazani na Slici 24.

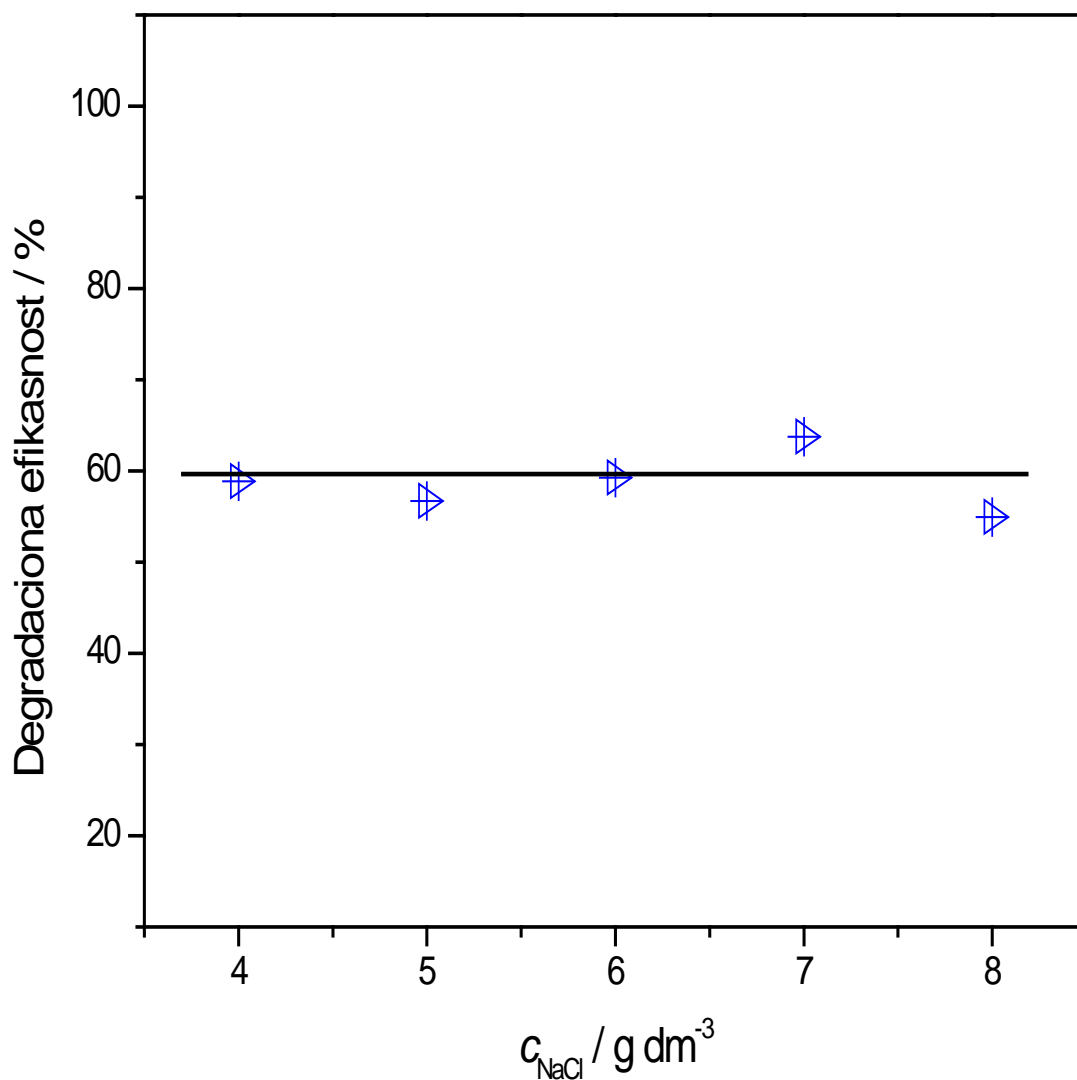
Sa Slike 24 je uočljivo da brzina hemijske reakcije raste linearno sa porastom primenjene struje. Povećanje brzine reakcije sa strujom može se pripisati bržem formiranju elektroaktivnih čestica kao što je OCl^- .



Slika 24. Uticaj primenjene struje na efikasnost degradacije azitromicina (uslovi: koncentracija azitromicina $0,472 \text{ mg cm}^{-3}$, koncentracija natrijum hlorida 7 mg cm^{-3})

Uticaj koncentracije natrijum hlorida na brzinu reakcije elektrohemijske oksidacije azitromicina je dat na Slici 25.

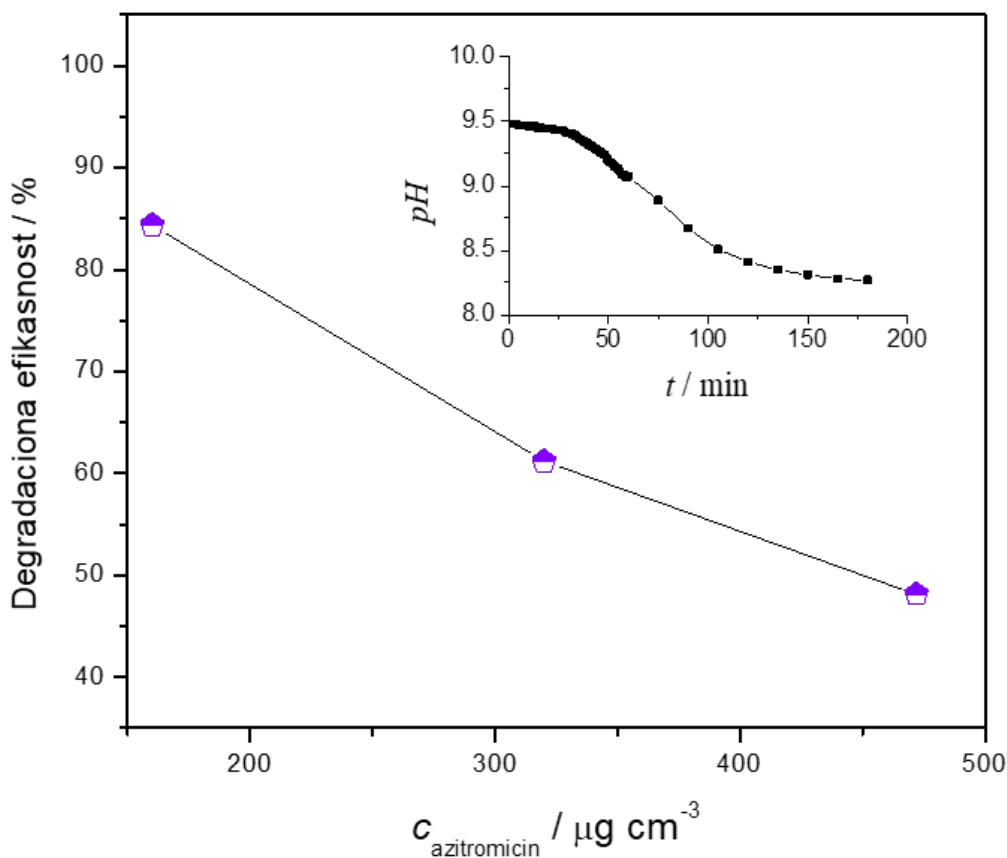
Koncentracija natrijum hlorida je varirana 4 do 8 mg cm^{-3} i u tom opsegu ne utiče na degradaciju azitromicina.



Slika 25. Uticaj koncentracije natrijum hlorida na efikasnost degradacije azitromicina (uslovi: primenjena struja =300 mA, koncentracija azitromicina = 0,472 mg cm⁻³)

Slika 26 pokazuje uticaj koncentracije azitromicina na brzinu indirektno elektrohemijske oksidacije. Početna koncentracija azitromicina je menjana: 0,157-0,472 mg cm⁻³. Porast koncentracije antibiotika umanjuje efikasnost degradacije, što dokumentuje Slika 26. Pošto se za vreme elektrolize stvara jednaka količina OCl⁻, porast koncentracije azitromicina vodi ka snižavanju efikasnosti degradacije (jednaka količina OCl⁻ reaguje sa većim brojem molekula azitromicina). pH vrednost reakcione smeše od skoro 9.5 ukazuje da je OCl⁻ aktivna vrsta na početku hemijske reakcije.

Snižavanje pH vrednosti (dodatak na Slici 26) sa reakcionim vremenom je rezultat degradacije molekula azitromicina i formiranja kiselih deg. proizvoda.



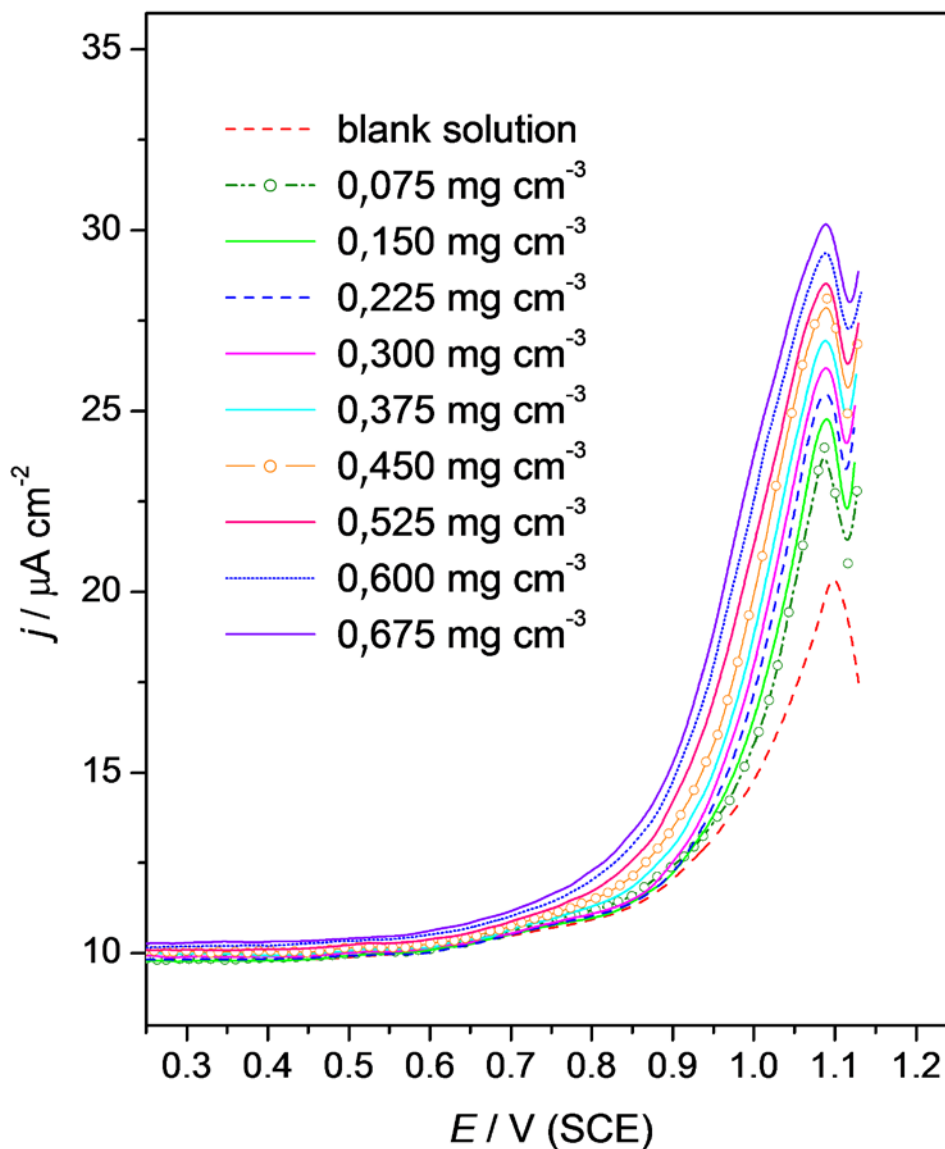
Slika 26. Uticaj koncentracije azitromicina na efikasnost degradacije azitromicina (uslovi: primenjena struja 300 mA, koncentracija natrijum hlorida = 7 mg cm^{-3}); Dodatak: promena pH vrednosti za vreme elektrolize (uslovi: primenjena struja = 300 mA, koncentracija azitromicina = $0,472 \text{ mg cm}^{-3}$, konc. natrijum hlorida = 7 mg cm^{-3})

Prema dobijenim rezultatima, optimalna koncentracija soli je 7 mg cm^{-3} a primenjena struja bi trebala biti 300 mA. Iako je brzina reakcije veća pri nižoj koncentraciji azitromicina, u nastavku našeg rada smo koristili koncentraciju od $0,472 \text{ mg cm}^{-3}$ azitromicina. Ciklična voltometrija izvedena na DSA Ti/RuO₂ prema optimizovanim eksperimentalnim podacima pokazala je da je azitromicin potpuno neaktivan, tj. da ne postoji njegova direktna elektrooksidacija. Ovo je ubedljiva sugestija da samo korišćenjem galvanostatski proizvedenog hipohlorita započinje postupak indirektno elektrooksidacije azitromicina. Sa ciljem da se korelišu optimizovani eksperimentalni

podaci sa određivanjem koncentracije azitromicina za vreme procesa degradacije, u ovom elektrolitu su izvedena DPV merenja na način opisan ispod.

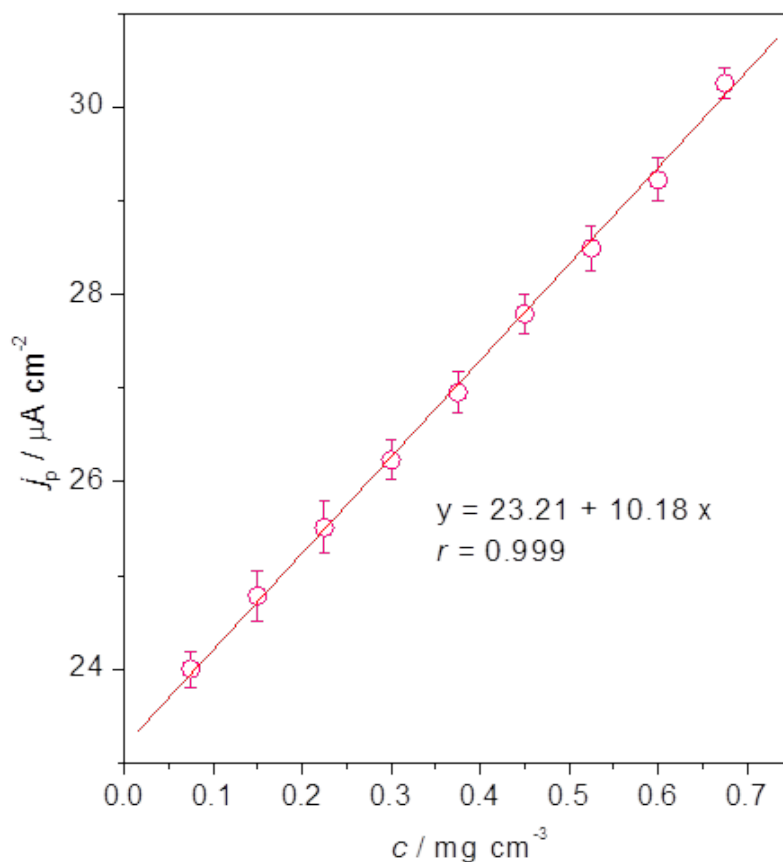
Određivanje koncentracije azitromicina DPV metodom

Rezultati DPV merenja za devet različitih koncentracija azitromicina dati su na Slici 27.



Slika 27. Voltamogram dobijen DPV metodom na GC elektrodi u osnovnom elektrolitu (tačkasta linija) i u prisustvu različiih koncentracija azitromicina: 0,075; 0,150; 0,225; 0,300; 0,375; 0,450; 0,525; 0,600 i 0,675 mg cm⁻³. Inicijalni potencijal 0, brzina skeniranja 50 mVs⁻¹, amplituda pulsa 50 mV, vreme pulsa 0,05 s.

Nekoliko važnih elektrohemijskih parametara kod DPV metode je varirano sa ciljem da se ostvari optimalna osetljivost odgovarajuće rezolucije. Odabrani parametri kao što su veličina pulsa: 50 mV; frekvencija: 10 Hz; veličina koraka: 5 mV i brzina skeniranja 50 mV s⁻¹ obezbeđuju dobro definisan voltametrijski odziv za oksidaciju azitromicina. Najveće struje se dobijaju kada je akumulacioni potencijal na 0,0 V, a vreme akumulacije traje 60 s, čime se obezbeđuje zasićenost površine elektrode. Povećanjem frekvencije, pojačava se i strujni maksimum ali pik postaje manje oštar i slabije definisan. Viši strujni pik se zapaža sa povećanjem pulsa ali se kapacitivna struja takođe povećava. Primećeno je takođe da strujni pik linearno raste sa korakom pulsa i to do 5mV. Dakle, najbolje definisan pik je snimljen prilikom korišćenja frekvencije od 10 Hz pri veličini koraka od 5 mV i veličini pulsa od 50 mV. Na Slici 28 prikazana je zavisnost struje pika od koncentracije azitromicina, za vrednosti očitanih sa Slike 27. Dobijena je linearna zavisnost sa odličnim korelacionim koeficijentom ($r = 0,999$). Na ovaj način je konstruisana kalibraciona kriva.



Slika 28 . Zavisnost gustine strujnog maksimuma od koncentracije azitromicina

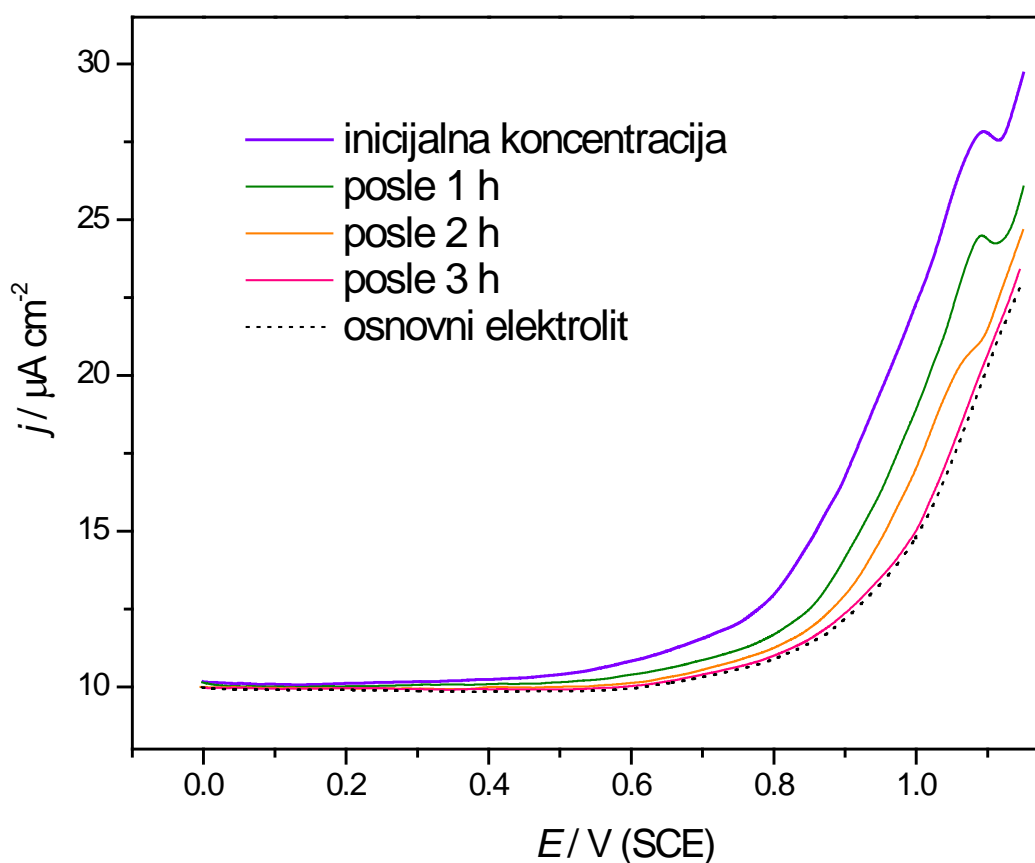
Linearna zavisnost struje pika od koncentracije azitromicina određena DPV metodom, kao što je prikazano na Slici 28, omogućuje određivanje više parametara, koji su zatim upoređeni sa odgovarajućim parametrima dobijenim korišćenjem HPLC-UV metode, što je prikazano u Tabeli 1. Validacija DPV procedure je ostvarena određivanjem limita detekcije (LOD), limita kvantifikacije (LOQ) i prinosa. LOD i LOQ su računati iz kalibracionih krivih kao $kxSD/b$ gde je $k = 3$ za LOD i 10 za LOQ, SD je standardna devijacija i b je nagib kalibracione krive (Nigović, 2004). Dobijene vrednosti su: LOD 0,044 mg cm^{-3} i LOQ 0,145 mg cm^{-3} .

Test regulacije je takođe izvedene sa ciljem da se proceni preciznost DPV metode. Šest merenja su urađena sa niskim, srednjim i visokim koncentracijama azitromicina (0,075 mg cm^{-3} , 0,300 mg cm^{-3} i 0,675 mg cm^{-3}). Srednji prinos od 99,4 % sa relativnom standardnom devijacijom od 2,23 % su određeni i predstavljeni u Tabeli 1.

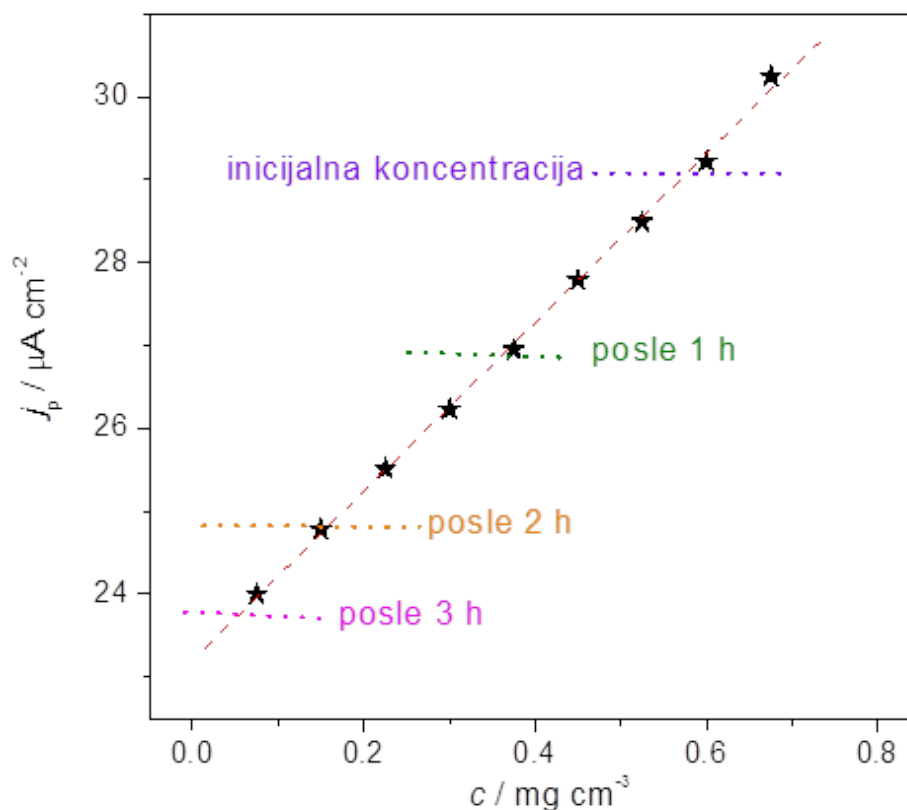
Parametar	DPV	HPLC-UV
Opseg / mg cm^{-3}	0,075 – 0,675	0,0008 – 0.400
Regresiona jednačina*		
Nagib	13,68	5326,69
S.D. nagiba	0,442	0,48
Odsečak	14,20	2,84
S.D. odsečka	0,167	3,14
Korelacioni koeficijent	0,997	0,999
Prinos / %	99,4	101,8
S.D. / %	2,23	2,50
LOD / mg cm^{-3}	0,044	0,0048
LOQ / mg cm^{-3}	0.15	0.016

Tabela 1. Degradacija azitromicina praćena DPV i HPLC-UV metodom

Zavisnost struja od koncentracija (Slika 28) dobijena DPV metodom primenjena je za određivanje nepoznatih koncentracije azitromicina za vreme indirektno elektrohemijske oksidacije na DSA Ti/RuO₂, pod optimalnim reakcionim uslovima koji su navedeni. U tom smislu, uzorci elektrolita su uzimani na svakih sat vremena u periodu od tri sata i analizirani pomoću DPV metode kao što je prikazano na Slici 29. Koncentracije azitromicina za vreme procesa degradacije su određivane na način kako je prikazano na Slici 30. Naime sa voltamogramima prikazanih na slici 27, očitavane su struje pika, a dobijene vrednosti su unete na kalibracionu krivu. Na taj način je bilo moguće odrediti nepoznate koncentracije azitromicina koje se nalaze u elektrolitu u toku procesa degradacije.



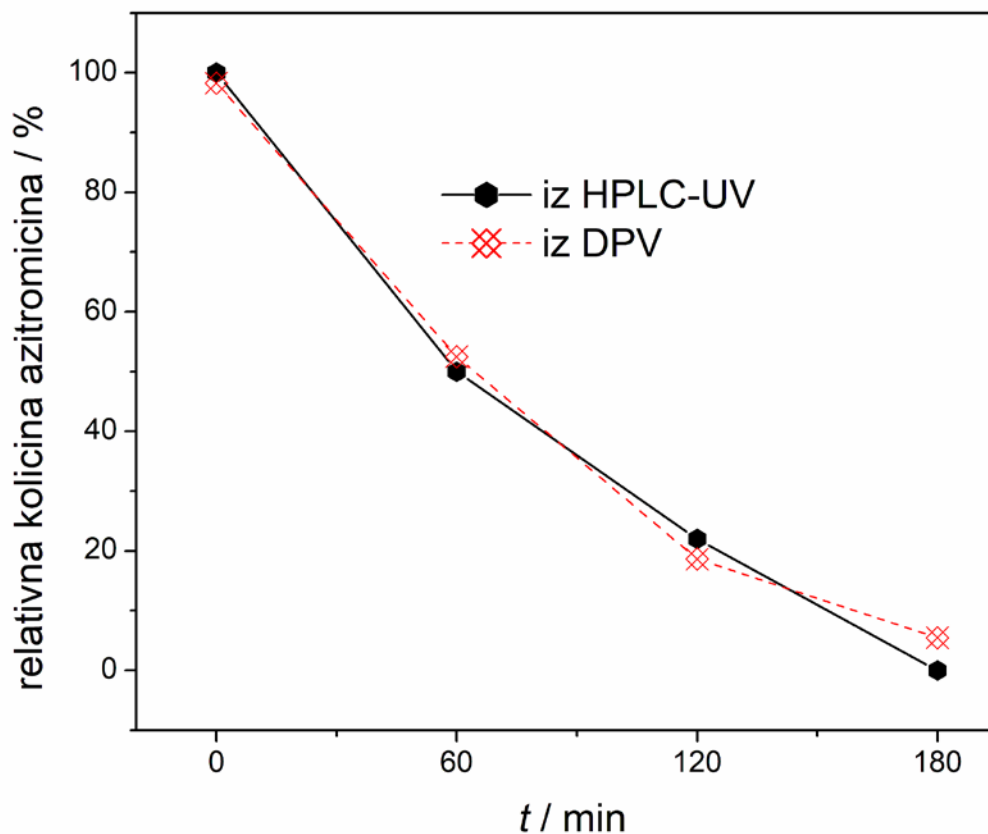
Slika 29. Diferencijalno pulsni anodni voltamogrami dobijeni na GC elektrodi u osnovnom elektrolitu (tačkasta linija) i u prisustvu alikvota elektrolita uzorkovanih na sat vremena za tri sata degradacije azitromicina na DSA Ti/RuO₂. Inicijalni potencijal 0 V, brzina promene potencijala 50 mVs⁻¹, amplituda pulsa 50 mV, vreme pulsa 0,05 s



Slika 30. Zavisnost gustine struje u piku od koncentracije tokom tri sata degradacije azitromicina

HPLC je zvanična metoda za analizu azitromicina i ova metoda obezbeđuje preciznu definiciju pika azitromicina i njegovo razdvajanje od pikova međuproizvoda (European Pharmacopeia 5th Edition-Supplement 5.4.Council of Europe (2006); Wang i sar., 2015). Uzorci elektrolita uzimani na sat vremena degradacije azitromicina na DSA Ti/RuO₂, su ispitivani HPLC-UV metodom što je prikazano na Slici 31. HPLC analiza elektrolita je pokazala značajan procenat degradacije u prvih 60 minuta elektrohemijškog procesa. Za to vreme je skoro 50% azitromicina degradirano. Sledećih 60 minuta procenat degradiranog azitromicina se smanjivao u kontinuitetu (23.3%) i konačno nakon 180 minuta nije bilo makrolidnog antibiotika u elektrolitu (Slika 31). Uporedo sa rezultatima HPLC-UV metode, dati su i rezultati DPV metode na istoj slici. Zapaža se da je rezultat, dobijen DPV metodom za nepoznatu koncentraciju azitromicina prilikom njegove degradacije na DSA Ti/RuO₂, u skladu sa rezultatom

dobijenim HPLC analizom i ukazuje na to da degradacioni proizvodi slične strukture ne utiču na DPV određivanje koncentracije azitromicina. Iz ovoga sledi da se DPV metoda može biti alternativa i dopuna hromatografskoj metodi za određivanje azitromicina.



Slika 31. Poređenje HPLC-UV i DPV metode za određivanje nepoznatih koncentracija azitromicina

Strukturno tumačenje proizvoda elektrodegradacije

Molekulske mase (i molekulske formule) proizvoda azitromicina na DSA TI/RuO₂, generisanih u 250 cm³ elektrolita određene su pomoću masenog spektrometra visoke rezolucije (LC - ESI - MS instrument), kao što je opisano u Eksperimentalnom delu. Na početku eksperimenta, pre elektrodegradacije, u smeši su detektovane četiri komponente, dok su u prvih 60 minuta dekompozicionog procesa identifikovana 22

proizvoda (Tabela 2). Elementalni sastavi komponenata nastalih u elektrolitu za vreme degradacije, kao i relevantni i aktuelni literaturni podaci (Tong i sar., 2011), omogućavaju da se pretpostave moguće strukture bar nekih elektrodegradacionih proizvoda (Slika 32). Nastanak jedinjenja M_{2a} ili M_{2b} izmerene molekulske mase 734,4928 (molekulska formula C₃₇H₇₀N₂O₁₂), koje je 14 masenih jedinica lakše od azitromicina, može se objasniti ili eliminacijom metil grupe sa kladinoze (reakcija O-demetilovanja, M_{2a}) ili sa dezozamina (reakcija N-demetilovanja, M_{2b}) (Tabela 2, Slika 32) (Tong i sar., 2011). Prema podacima dobijenim merenjem tačnih masa, jedinjenje M_{2a} ili M_{2b} gubi vodu (reakcija dehidratacije) i daje jedinjenje M_{3a} odnosno M_{3b}, molekulske mase m/z 716,4459 i pripadajuće molekulske formule C₃₆H₆₄N₂O₁₂ (Tabela 2, Slika 32). Nastajanje jedinjenja M_{4a} ili M_{4b} (Tabela 2, Slika 32) tumači se ili istovremenom reakcijom N- i O-demetilovanja (M_{4a}) ili reakcijom bis-N- demetilovanja (M_{4b}) azitromicina (Tong i sar., 2011). Jedinjenje M_{5a} ili M_{5b} nastaje eliminacijom OH grupe iz molekula M_{4a} ili M_{4b} (reakcija dehidratacije) (Tabela 2, Slika 32).

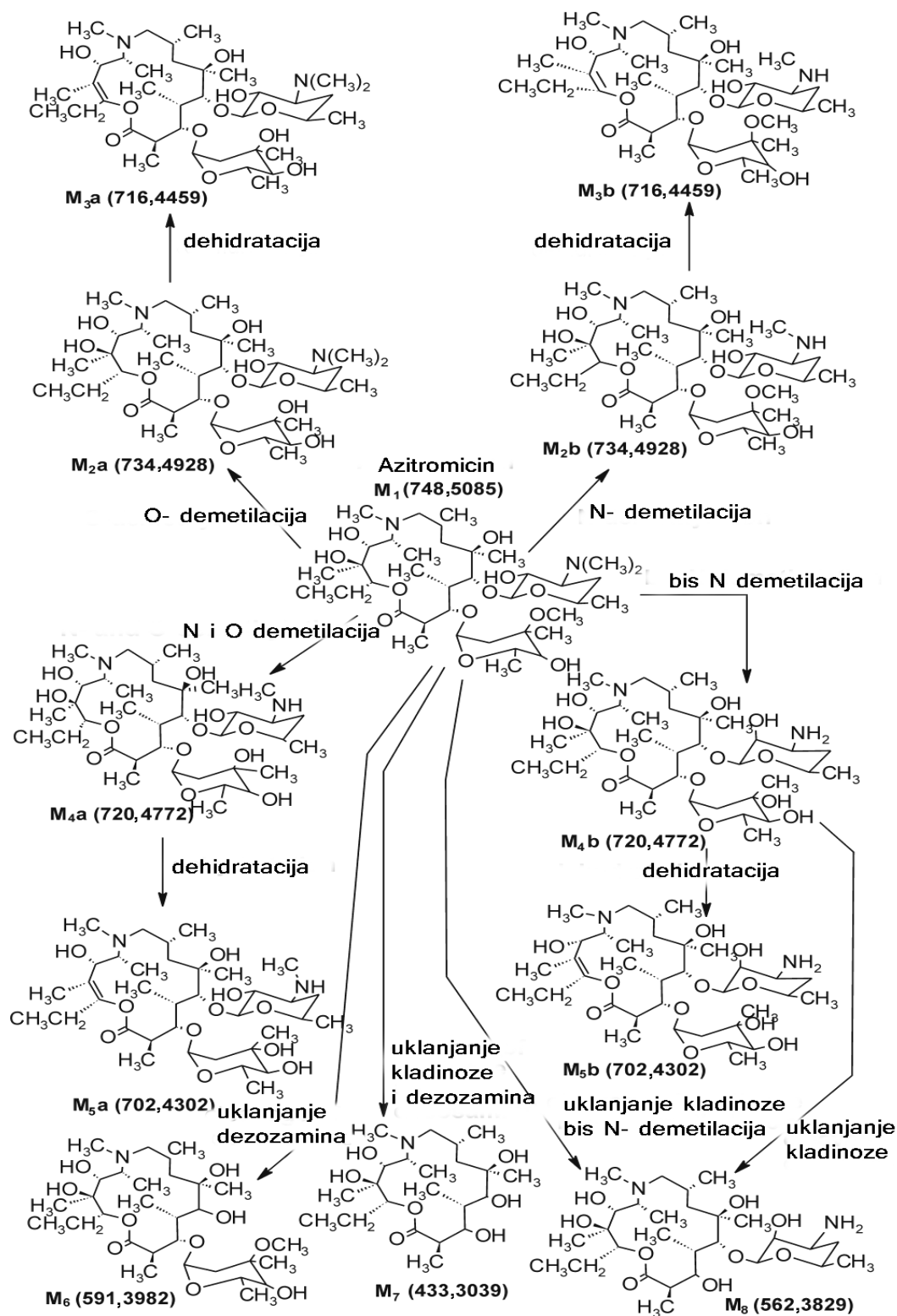
Prisustvo jedinjenja M₆, molekulske mase 591,3982, odnosno molekulske formule C₃₀H₅₇NO₁₀ može se objasniti uklanjanjem dezozamina iz molekula azitromicina (Tabela 2, Slika 32) (Tong i sar., 2011). Postojanje jedinjenja M₇ (molekulska masa 433,3039, odnosno molekulska formula C₂₂H₄₃NO₇) u smeši proizvoda elektrodegradacije azitromicina objašnjava se istovremenom eliminacijom kladinoze i dezozamina (Tabela 2, Slika 32) (Tong i sar., 2011) i pokazuje da u elektrolitičkim reakcijama učestvuju isključivo dva prstena pridružena centralnom jezgru, dok centralni makrolidni prsten ostaje netaknut. Jedinjenje M₈, molekulske mase m/z 562,3829 i pripadajuće molekulske formule C₂₈H₅₄N₂O₉ (Tabela 2, Slika 32) može nastati na dva načina: iz azitromicina, M₁ (uklanjanjem kladinoze uz istovremenu eliminaciju obe metil grupe sa atoma azota na dezozaminu) ili iz molekula M_{4b} (uklanjanjem kladinoze). Pošto su sva tri molekula prisutna u rastvoru elektrodegradacionih proizvoda, na osnovu primenjene tehnike ne može se utvrditi kako nastaje jedinjenje M₈. Da bi se protumačile strukture drugih proizvoda degradacije azitromicina i da bi se razjasnile nedoumice, trebalo bi sprovesti LC - MS/MS i/ili LC/NMR analizu što će biti predmet daljeg istraživanja.

U Tabeli 2. prikazani su rezultati LC - ESI - MS analize elektrolita sa azitromicinom i proizvodima njegove elektrodegradacije.

Retenciono vreme komponente u LC – ESI – MS hromatogramu (min) i izmerene m/z vrednosti identifikovanih jona	Molekulska formula i izmerena molekulska masa komponente	Naziv alikvota u kojem je određena komponenta identifikovana	Greška merenja mase (ppm)	DBE
4,44: 384,2667; 767,5268; 789,5057; 805,4793	$C_{38}H_{74}N_2O_{13}$ (766,5191)	0, 1, 2, 3, 3*	0,0	3
4,68: 434,3114; 456,2951	$C_{22}H_{43}NO_7$ (433,3039)	3, 3*	-0,3	2
4,76: 361,2458; 721,4836; 743,4665; 759,4383	$C_{36}H_{68}N_2O_{12}$ (720,4772)	1, 2, 3*	+0,9	4
4,77: 282,2009; 563,3901	$C_{28}H_{54}N_2O_9$ (562,3829)	1, 2, 3, 3*	+0,2	3
4,80: 368,2536; 735,4993; 757,4819	$C_{37}H_{70}N_2O_{12}$ (734,4928)	1, 2, 3, 3*	+0,4	4
4,84: 375,2617; 749,5152; 771,4987; 787,4737	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ (748,5085)	0, 1, 2, 3, 3*	+1,4	4
5,12: 383,2586; 765,5100; 787,4930; 803,4684	$C_{38}H_{72}N_2O_{13}$ (764,5034)	1, 2, 3, 3*	+1,0	4
5,31: 578,3896; 600,3664; 616,3436; 1177,7486	$C_{29}H_{55}NO_{10}$ (577,3826)	2, 3, 3*	+0,5	3
5,43: 749,4435	$C_{36}H_{64}N_2O_{14}$ (748,4357)	2, 3, 3*	-0,6	6
5,54: 795,4479; 833,4000	$C_{37}H_{66}N_2O_{16}$ (794,4412)	1, 2	+0,8	6
5,71: 706,4365; 728,4207	$C_{35}H_{63}NO_{13}$ (705,4299)	1, 2, 3, 3*	+1,0	5
5,74: 749,4789; 771,4615; 787,4433	$C_{37}H_{68}N_2O_{13}$ (748,4721)	0, 1, 2, 3, 3*	+0,7	5

5,80: 703,4376	$C_{35}H_{62}N_2O_{12}$ (702,4302)	1, 2, 3, 3*	-0,1	6
5,83: 763,4658; 785,4767; 801,4528	$C_{38}H_{70}N_2O_{13}$ (762,4878)	0, 1, 2, 3*	+5,1	5
6,04: 592,4050; 614,3871; 630,3621; 1205,7858; 1221,7551	$C_{30}H_{57}NO_{10}$ (591,3982)	1, 2, 3, 3*	+0,8	3
6,19: 777,4754; 799,4560; 815,4359	$C_{38}H_{68}N_2O_{14}$ (776,4670)	1, 2, 3, 3*	-1,4	6
6,23: 747,4639, 769,4472; 785,4244	$C_{37}H_{66}N_2O_{13}$ (746,4565)	1, 2, 3, 3*	-0,2	6
6,29: 779,4909; 817,4469	$C_{38}H_{70}N_2O_{14}$ (778,4827)	1, 2, 3, 3*	-1,2	5
6,36: 777,4740; 815,4328	$C_{38}H_{68}N_2O_{14}$ (776,4670)	2, 3, 3*	+0,5	6
6,44: 720,4511; 742,4343; 758,4114	$C_{36}H_{65}NO_{13}$ (719,4456)	0, 1, 2, 3, 3*	+2,4	5
6,53: 717,4516	$C_{36}H_{64}N_2O_{12}$ (716,4459)	1, 2, 3, 3*	+2,1	6
6,93: 750,4623	$C_{37}H_{67}NO_{14}$ (749,4561)	1, 2, 3, 3*	+1,5	5
7,00: 704,4574; 726,4346	$C_{36}H_{65}NO_{12}$ (703,4506)	1, 2, 3, 3*	+0,8	5

Tabela 2. Molekulske mase (i molekulske formule) proizvoda elektrodegradacije azitromicina na DSA TI/RuO₂ određene masenom spektrometrijom visoke rezolucije (Legenda: 0 – početak procesa; 1 - posle 20 minuta; 2 - posle 40 minuta; 3 - posle 60 minuta, 3* - posle 60 minuta (10 puta razblaženi uzorak rastvora) ; DBE- broj nezasićenja (ekvivalenti dvostruke veze)).



Slika 31. Moguće hemijske strukture nekih proizvoda nastalih u procesu elektrohemijske degradacije azitromicina

ZAKLJUČAK

Proučavanje degradacije amoksicilina i azitromicina primenom različitih fizičko-hemijskih metoda u vodenoj sredini obuhvatilo je kao prvo ispitivanje procesa fotolize, adsorpcije i fotokatalize amoksicilina u prisustvu nanokristalnog TiO_2 kao fotokatalizatora. Na osnovu dobijenih rezultata izvršena je optimizacija i poređenje fotokatalitičkog procesa u dejonizovanoj vodi. U drugom delu doktorske disertacije proučavano je ponašanje azitromicina primenom indirektno elektrohemijske degradacije na DSA Ti/RuO_2 elektrodi u elektrolitu koji sadrži NaCl . Na osnovu rezultata ispitivanja do kojih se došlo može se zaključiti sledeće:

1. Rezultati fotolize i adsorpcije amoksicilina do kojih se došlo pokazali su neznatan pad početne koncentracije amoksicilina koji je manji od 5%. Fotokataliza je u trajanju od 210 min pokazala gotovo potpunu degradaciju aktivne materije (> 99 %).

2. Za opisivanje kinetike procesa razgradnje korišćena je Langmuir-Hinshelwood-ova jednačina. Konstanta brzine reakcije pseudo prvog reda, k (min^{-1}), određena je za svaki eksperiment i korišćena kao mera fotokatalitičke efikasnosti.

3. Rezultati ispitivanja uticaja koncentracije nanokristalnog TiO_2 na kinetiku procesa fotokatalitičke razgradnje u dejonizovanoj vodi su pokazali da se maksimum brzine fotokatalitičke razgradnje dostiže pri količini katalizatora od $2,0 \text{ g dm}^{-3}$.

4. Fotodegradacija amoksicilina je proučavana za pet različitih pH vrednosti. Rezultati ispitivanja uticaja pH vrednosti na kinetiku fotokatalize amoksicilina u dejonizovanoj vodi su pokazali da se proces sporije odvija pri vrednostima pH bliskim izoelektričnoj tački. Veći procenat degradacije u kiselim uslovima u poređenju sa neutralnim uslovima mogu da se objasne hidrolizom antibiotika. Povećanje degradacije sa povećanjem pH rezultat je intenzivnijeg formiranja hidroksi radikala pri višim pH i hidrolizi antibiotika. Konstanta brzine fotokatalitičkog procesa pri pH 3 iznosi $k=14,6 \text{ min}^{-1}$, dok je proces neznatno brži u baznoj sredini (pri pH 11 iznosi $k = 19,2 \text{ min}^{-1}$).

5. Uticaj početne koncentracije soli na kinetiku fotokatalize amoksicilina u dejonizovanoj vodi su pokazali da neorganski anjoni, kao što su Cl^- i SO_4^{2-} , inhibiraju proces razgradnje, što se objašnjava elektrostatičkim interakcijama između površine fotokatalizatora i dodatih anjona.

6. Izračunata konstanta brzine degradacije amoksicilina pri dodavanju etanola u reakcionu smešu u dejonizovanoj vodi je pokazala smanjenje brzine dva puta, što implicira da radikali $\cdot\text{OH}$ igraju glavnu ulogu u fotodegradaciji amoksicilina.

7. Jonska hromatografija je otkrila formiranje NH_4^+ , NO_3^- i SO_4^{2-} anjona, kao rezultat degradacije amoksicilina. Rezultati su pokazali da je nakon 210 min fotokatalitičke degradacije, oko 11,2% azota i oko 30,4% sumpora transformisano.

8. Step en mineralizacije određen je primenom jonske hromatografije i TOC-a. Utvrđeno je da je nakon 210 min fotokatalitičke degradacije amoksicilina oko 11,2% azota je prevedeno – oko 8,8% NH_4^+ jone i 2,4% u NO_3^- jone. Takođe, oko 30,4% sumpora je bilo mineralizovano. Analiza sadržaja ukupnog organskog ugljenika pokazala je da je nakon potpune razgradnje amoksicilina, step en njegove eliminacije iznosio 47% u dejonizovanoj vodi. Zaključuje se da su brzine nastajanja SO_4^{2-} i NO_3^- i NH_4^+ jona, odnosno nestajanja organski vezanog ugljenika manje u odnosu na brzinu razgradnje osnovnog jedinjenja, što ukazuje na formiranje intermedijera koji sadrže sumpor i/ili azota.

9. Katalitičko svojstvo nanokristalnog TiO_2 upoređeno je sa P25 katalizatorom i nađeno je da nanokristalni TiO_2 ima slična katalizatorska svojstva kao P25 pri reakciji degradacije amoksicilina.

10. Po prvi put je uspešno izvedena elektrokatalitička degradacija azitromicina indirektnom oksidacijom na dimenzionalno stabilnoj Ti/RuO_2 anodi. Izvršena je optimizacija parametara za vreme indirektno elektrohemijske oksidacije azitromicina i ustanovljeni su optimalni uslovi za koncentraciju NaCl , primenjenu struju i koncentraciju azitromicina.

11. DPV metodom na GC elektrodi je određeno 9 izabranih koncentracija azitromicina u istom elektrolitu ukome je izvršena njegova degradacija. Konstruisana je kalibraciona kriva sa odličnim koeficijentom korelacije ($R= 0.999$) koja je omogućila određivanje nepoznatih koncentracija azitromicina za vreme procesa degradacije.

12. Rezultati dobijeni DPV metodom za određivanje koncentracija azitromicina prilikom njegove degradacije su upoređivani sa rezultatima dobivenim zvaničnom HPLC metodom i ukazuju na to da DPV može biti alternativa i dopuna hromatografskoj metodi za određivanje azitromicina. Analiza elektrolita obema

metodama pokazala je značajan procenat degradacije u prvih 60 minuta elektrohemijskog procesa. Za to vreme 50,3% azitromicina je degradirano. U sledećih 60 minuta procenat degradacije azitromicina je neprekidno opadao do 23,3% i nakon 180 minuta nije bilo makrolidnog antibiotika u elektrolitu.

13. Pretpostavljeni proizvodi elektrodegradacije azitromicina su identifikovani korišćenjem kombinovane spregnute tehnike LC - ESI - MS identifikovana su 22 proizvoda i predložen je mehanizam degradacije.

6. LITERATURA

Abramović B, Kler S, Šojić D, Laušević M, Radović T, Vione D (2011) Photocatalytic degradation of metoprolol tartrate in suspensions of two TiO₂-based photocatalysts with different surface area. Identification of intermediates and proposal of degradation pathways. *Jour. of Hazar. Materials* 198C :123-132

Akpan UG, Hameed BH (2009) Parameters affecting the photocatalytic degradation of dyes using TiO₂-based photocatalysts: A review. *Journal of Hazardous Materials* 170: 520-529

Alkain AF, Kandiel TA, Hussein FH, Dillert R, Bahnemann DW (2013) Enhancing the photocatalytic activity of TiO₂ by pH control: a case study for the degradation of EDTA. *Catalysis Science & Technology* A 466: 32-37

Al-Rimawi F, Kharaof M (2010) Analysis of azithromycin and its related compounds by RP-HPLC with UV detection. *J Chromatogr. SCI* 48:86-90

Amsden GW (2001) Advanced-generation macrolides: tissue-directed antibiotics. *Int J Antimicrob Ag*, Vol.18 S11-5

Andreozzi R, Caprio A, Insola R, Marotta (1999) Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Cat. Today* Vol.53: 51-59

Andreozzi RV, Raffaele M, Nicklas P (2003) Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment, *Chemosphere* 50: 1319-1330

Andreozzi R, Caprio V, Ciniglia C, De Champdore M, Giudice RL, Marrotta R, Zuccato E (2004) Antibiotics in the environment: occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environ. Sci. Technol.* 38(24): 6832-6838

Andreozzi R, Canterino M, Marotta R, Paxeus N (2005) Antibiotic removal from wastewaters: the ozonation of amoxicillin. *J. Hazar.Mater.*122(3):243-250

Arancibia F, Ewig S, Martinez JA, et al. (2000) Antimicrobial treatment failures in patients with community-acquired pneumonia: causes and prognostic implications. *Am J Respir Crit Care Med.* 162(1):154–60

Ardrey RE (2003) *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction*. John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, England

Asadi L, Eurich DT, Gamble JM, Minhas-Sandhu JK, Marrie TJ, Majumdar SR. (2012) Guideline adherence and macrolides reduced mortality in outpatients with pneumonia. *Respir Med.* 106(3):451–458

Avramov-Ivić ML, Petrović SD, Mijin DZ, Živković PM, Kosović IM, Drljević KM, Jovanović MB (2006) Studies on electrochemical oxidation of azithromycin and hemomycin at gold electrode in neutral electrolyte. *Electrochim Acta* 51:2407-2416

Avramović-Ivić ML, Petrović SD, Mijin DZ (2007) A study of the electrochemical activity of some macrolide antibiotics on a gold electrode in a neutral electrolyte. *J Serb Chem Soc* 72:1427-1436

Bahnemann W, Muneer M, Haque MM (2007) Titanium dioxide-mediated photocatalysed degradation of few selected organic pollutants in aqueous suspensions. *Catalysis Today* 124: 133-148

Behnajady MA, Modirshahla N, Hamzavi R (2006) Kinetic study on photocatalytic degradation of C.I. Acid Yellow 23 by ZnO photocatalyst. *J.Hazard.Mater.* 133(1-3):226-232

Bendz D, Paxeus NA, Ginn TR, Loge FJ (2005) Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *J. Hazard. Mater.* 122:195-204

Bielski BHJ, Cabelli DE, Arudi RJL, Ros AB (1985) *J. Phys. Chem. Ref. Data* 14: 1041-1100

Bor Plastika, dostupno na: <http://www.borplastikaeko.rs/industrijske-otpadne-vode/>

Brillas E, Martinez-Huitle CA (2015) Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. An updated review. *Appl Cat B-Environ* 166-167:603-643

Buxton GV, Greenstock CL, Helman WP, Ross AB (1988) Rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}^-$) in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17, 513

Byrne JA, Eiggins BR (1998) Photoelectrochemistry of oxalate on particulate TiO_2 electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 457 (1-2): 61-72

Bendz D, Paxeus NA, Ginn TR, Loge FJ (2005) Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Hölje River in Sweden. *J. Hazard. Mater.* 122:195-204

Calvo ME, Candal RJ, Bilmes SA (2001) Photooxidation of organic mixtures on biased TiO_2 films. *Environ. Sci. Technol.* 35(20):4132-4138.

Caní D, Pescarmona PP (2014) Macroscopic TiO_2 - SiO_2 porous beads: Efficient photocatalysts with enhanced reusability for the degradation of pollutants. *J Catal* 311:404-411

Carlos A, Ferro M-HS (2006) *Chemical Society Reviews*

Ciriaco L, Anjo C, Correia J, Pacheco M J, Lopes A (2009) Electrochemical degradation of Ibuprofen on Ti/Pt/ PbO_2 and Si/BDD electrodes. *Electrochim. Acta* 54(5): 1464-1472

Clarke HT, Johnson JR, Robinson R (1949) *The Chemistry of Penicillin*. Princeton University Press, USA

Comninellis C i Chen G (2010) *Electrochemistry for the Environment*. Springer

Champney WS, Burdine R (1995) *Antimicrob Agents Ch.* Vol.39 :2141

Colón G, Hidalgo MC, Navío JA (2001) *J. Photochem. Photobiol.A* 138: 79–85

Cruz-Morato C, Ferrando-Climent L, Rodríguez-Mozaz S, Barcelo D, Marco-Urrea E, Vicent T, Sarra M (2013) Degradation of pharmaceuticals in non-sterile urban

wastewater by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor. *Water Res* 47:5200-5210

Daneshvar N, Salari D, Khataee AR (2004) *J.Photo. Photobiol. A*162: 317–322

De la Cruz N, Gimenez J, Esplugas S, Grandjean D, de Alencastro LF, Pulgarin C (2012) Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. *Water Res* 46:1947-1957

Deshpande AD, Baheti KG, Chatterjee NR (2004) Degradation of β -lactam antibiotics: Review Article. *Current Sci* 87:1684-1695

Deshpande SB, Potdar HS, Kholam YB, Patil KR, Pasricha R, Jacob NE (2006) *Mater. Chem. Phys.* 97: 207-212

Díaz-Cruz MS, Barceló D (2005) LC–MS² trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *Trends Anal. Chem* 24: 645–657

Dimitrakopoulou D, Rethemiotaki I, Frontistis Z, Xekoukoulotakis NP, Venieri D, Mantzavinos D (2012) Degradation, mineralization and antibiotic inactivation of amoxicillin by UV-A/TiO₂ photocatalysis. *J. Environ. Manage.* 98: 168-174

Drugs.com - Erythromycin Uses, Dosage & Side Effects, dostupno na: http://www.drugs.com/MMX/Erythromycin_Ethylsuccinate.htm

Du YL, Deng Y, Zhang MS (2006) Variable-temperature Raman scattering study on anatase titanium dioxide nanocrystals. *J. P. Chem.Solids* 67:2405-2408

Esplugas S, Gimenez J, Contreras S, Pascual E, Rodriguez M (2002) Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. *Water Res.*36(4):1034-1042

Evgenidiou E, Fzytianos K, Poulis I (2005) *Appl. Catal. B: Environ.* 59, 81

Elmolla ES, Chaudhuri M (2009) Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution. *Journal of Hazard. Mater.* 170(2-3): 666-672

Elmolla ES, Chaudhuri M (2009) Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process. *J. Hazard. Mater.* 172(2-3):1476-1481

Elmolla ES, Chaudhuri M(2010)) Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution USING UV/TiO₂ and UV/H₂O₂/TiO₂ photocatalysis. *Desalination* 252: 46–52

Elmolla ES, Chaudhuri M (2010) Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *J. Hazard. Mater.* 173(1-3):445-449

Eng Y, Sharma Y, Ray VK (2010) Photocatalytic Degradation of Nonionic Surfactant, Brij 35 in Aqueous TiO₂ Suspensions. *Chemosphere* 79:205-209

Ensafi AA, Allafchian AR, Rezaei BA (2013) Sensitive and selective voltammetric sensor based on multiwall carbon nanotubes decorated with MgCr₂O₄ for the determination of azithromycin *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* Vol. 103:468-474

European Pharmacopeia 5th Edition –Supplement 5.4, Council of Europe, 2006

EU Directive 91/271/EEC

Farghaly O i Mohamed NA(2004) Voltammetric determination of azithromycin at the carbon paste electrode . *Talanta* 62(3):531-538

Fenoll J, Flores P, Hellín P, Hernández J, Navarro S (2014) Minimization of methabenzthiazuron residues in leaching water using amended soils and photocatalytic treatment with TiO₂ and ZnO. *Journal of Environmental Sciences* 26:757-764

Fenoll J, Hellín P, Flores P, Martínez CM, Navarro S (2012) Photocatalytic degradation of five sulfonylurea herbicides in aqueous semiconductor suspensions under natural sunlight. *Chemosphere* 87(8):954-961

Fenoll J, Hellín P, Martínez CM, Flores P, Navarro S (2012) Semiconductor-sensitized photodegradation of s-triazine and chloroacetanilide herbicides in leaching water using TiO₂ and ZnO as catalyst under natural sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 238:81-87

Foo KY, Hameed BH (2010) Decontamination of textile wastewater via TiO₂/activated carbon composite materials. *Advances in Colloid and Interface Science* 159: 130-143

Fernandez-Ibanez P, Malato S, de las Nieves FJ (1999) Relationship between TiO₂ particle size and reactor diameter in solar photoreactors efficiency. *Catalysis Today* 54(2-3): 195-204

FiercePharma, dostupno na: <http://www.fiercepharma.com/special-report/top-20-generic-molecules-worldwide>

Figueredo-Sobrinho F, Souza Lucas F, Pacheco Fill T, Rodrigues-Filho E, Helena Mascaro L, Silva Casciano P, Lima-Neto P., Nunes Correia A (2015) *Electrochimica Acta*, 154 278

Fu X, Clark LA, Zeltner WA, Anderson MA (1996) Effects of reaction temperature and water vapor content on the heterogeneous photocatalytic oxidation of ethylene. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 97: 181-186

Gaynor M, Manikin A (2003) *Medical Chemistry Vol.3*

Ghari T, Kobarfard F, Mortazavi S (2013) Development of a simple RP-HPLC-UV method for determination of azithromycin in pharmaceutical dosage forms as an alternative to the USP method. *Iran J Pharm Res* 12:57-63

Giwa A, Nkeonye PO, Bello KA, Kolawole KA (2012) Photocatalytic decolourization and degradation of C.I. basic blue 41 using TiO₂ nanoparticles. *J. Environ. Prot.* 3 1063-1069

Glavaški OS, Petrović SD, Mijin DZ, Jovanović MB, Dugandžić AM, Zeremski TM, Avramov-Ivić ML (2014) Electrochemical degradation of pesticide dimethenamid-P at gold, DSA platinum and ruthenium oxide electrodes in different electrolytes. *Electroanal* 26:1877-1880

Glavaški OS, Petrović SD, Rajaković-Ognjanović VN, Zeremski TM, Dugandžić AM, Mijin DŽ (2016) *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* 22 101–110

- Golubović A**, Veljković I, Šćepanović M, Grujić-Brojčin M, Tomić N, Mijin D Babić B (2016) Influence of some sol-gel synthesis parameters of mesoporous TiO₂ on photocatalytic degradation of pollutants. *Ch. Ind. C. Eng. Q.* 22(1): 65–73
- Guo C**, Ge M, Liu L, Gao G, Feng Y, Wang Y (2010) Directed Synthesis of Mesoporous TiO₂ Microspheres: Catalysts and Their Photocatalysis for Bisphenol A Degradation. *Environmental Science and Technol.* 44(1): 419-425
- Graham LP** (2013) *An Introduction to Medicinal Chemistry*. 5th edition Oxford University Press USA
- Hackel M**, Lascols C, Bouchillon S, Hilton B, Morgenstern D, Purdy J (2013) Serotype prevalence and antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates among global populations. *Vaccine* 31(42):4881–4887
- Hager DG** (1990) UV-catalyzed hydrogen peroxide chemical oxidation of organic contaminants in water. *Innovative Hazard. Wastes Treat. Technol.* Tucson, AZ: Peroxidation Ser 2: 143-153
- Halling-Sørensen B**, Nielsen SN, Lanzky PF, Ingerslev F, Lützhøft HCH, Jørgensen SE (1998) Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere* 36: 357–393
- Han J**, Qui W, Gao W (2010) *Journal of Hazardous Materials*, 178 115
- Hartig C**, Storm T, Jekel M (1999) Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 854: 163–173
- Hazime R**, Nguyen QH, Ferronato C, Salvador A, Jaber F, Chovelon JM (2014) Comparative study of imazalil degradation in three systems: UV/TiO₂, UV/K₂S₂O₈ and UV/TiO₂/K₂S₂O₈. *Appl. Catalysis. B: Environ.* 144: 286-291
- He D**, Lin F (2007) Preparation and photocatalytic activity of anatase TiO₂ nanocrystallites with high thermal stability. *Mater. Lett.* 61: 3385-3387
- Heberer T** (2002) Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxi. Lett.* 131: 5–17

- Herrmann JM** i **Guillard C** (2000) *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Paris, Série IIc, Chimie/Chemistry* 3 417
- Hincapié M**, **Maldonado M I**, **Oller I**, **Gernjak W**, **Sánchez-Pérez JA**, **Ballesteros MM**, **Malato S**. *Catalysis Today* 101: 203-210
- Hirsch R**, **Ternes T**, **Haberer K**, **Kratz KL** (1999) Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 225: 109–118
- Hladik ML**, **Bouwer EJ**, **Roberts L** (2008) Neutral chloroacetamide herbicide degradates and related compounds in Midwestern United States drinking water sources. *Science of the Total Environment* 390(1): 155-165
- Hoffmann MR**, **Martin ST**, **Choi W**, **Bahnmann DW** (1995) Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. *Chemical Reviews* 95(1): 69-96
- Hu C**, **Yu JC**, **Hao Z**, **Wong PK** (2003) Effects of acidity and inorganic ions on the photocatalytic degradation of different azo dyes. *Applied Catalysis. B: Environmental* 46: 35-47
- Huang CH**, **Renew JE**, **Smeby KL**, **Pinkerston K**, **Sedlak DL**(2001) Assessment of potential antibiotic contaminants in water and preliminary occurrence analysis. *Water Resour. Update* 120: 30-40
- Hurum DC**, **Agrios AG**, **Gray KA**, **Rajh T**, **Thurnauer MC** (2003) Explaining the enhanced photocatalytic activity of Degussa P25 mixed-phase TiO₂ using EPR. *Journal of Physical. Chemistry B* 107(19): 4545-4549
- Huston PL** i **Pignatello JJ** (1999) Degradation of selected pesticide active ingredients and commercial formulations in water by the photo-assisted Fenton reaction. *Water Res* 33:1238–1246
- Hou JP** i **Poole JW** (1971) β -lactam antibiotics: Their physicochemical properties and biological activities in relation to structure. *J. Ph. Sci.* 60 503-532
- Ihos M**, **Manea F**, **Pode R** (2014) Degradation of piroxicam by electrochemical oxidation at DSA electrodes. *IV International Conference ECOLOGY OF URBAN AREAS Serbia* ,276-284

Ishiki RR, Ishiki HM, Takashima K (2005) Photocatalytic Degradation of Imazethapyr Herbicide at TiO₂/H₂O interface. *Chemosphere* 58: 1461-1469

Ivetić-Tkalčević V i Dominis-Kramarić M (2012) Protuupalni i imunomodulacijski učinci makrolidnih antibiotika u in vitro i in vivo sustavima-pregledni članak. *Veterinarska Stanica* 43(5):383-397

Janjić V i Elezović I (2010) Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd

Jeffers PR, Quiseda GD, Casida JE (1998) *Chemical Research in Toxicology*, 11: 353

Jing J, Liu M, Colvin VL, Li W, Yu WW (2011) Photocatalytic degradation of nitrogen-containing organic compounds over TiO₂. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 351: 17-28

Johnson DA, Panetta CA, Smith RR (1966) Nonenzymatic conversion of penicillins to 6-aminopenicillanic acid. *J Org Chem.*31(8):2560-2564

Jørgensen SE i Halling-Sørensen B (2000) Drugs in the environment. *Chemosphere* 40: 691–699

Jugoslovenska farmakopeja, 2000, V izdanje

Jung Jung Y, Gi Kim W, Yoon Y, Kang JW, Min Hong Y, Wook Kim H (2012) Removal of amoxicillin by UV and UV/H₂O₂ processes *Science of the Total Environment* 420 :160-167

Kalkhoff SJ, Kolpin DW, Thurman EM, Ferrer I, Barcelo D (1998) Degradation of Chloroacetanilide Herbicides: The prevalence of sulfonic and oxanilic acid metabolites in Iowa groundwaters and surface waters. *Environmental Science and Technology* 32(11): 1738-1740

Kashif N, Ouyang F (2009) Parameters effect on heterogeneous photocatalysed degradation of phenol in aqueous dispersion of TiO₂. *J. Env. Sci.* 21: 527–533

Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ(2011) Temeljna i klinička farmakologija. 11. izdanje, Zagreb. Medicinska naklada

- Kažić T** (2001) Gotovi Lekovi-priručnik za farmakoterapiju, Integra - Beograd
- Klauson D**, Babkina J, Stepanova K, Krichevskaya M, Preis S (2010) Aqueous photocatalytic oxidation of amoxicillin, *Catalysis Today* 151:39-45
- Komorsky –Lovrić Š i Nigović B** (2004) Identification of 5-aminosalicylic acid, ciprofloxacin and azithromycin by abrasive stripping voltammetry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 36 :81–89
- Konstantinou IK i Albanis TA** (2003) Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: intermediates and degradation pathways. *App. Cat. B Env.* 42(4): 319-335
- Kraft A**, Stadelmann M, Blaschke M, Kreysig D, Sandt B, Schroeder F, Rennau J (1999) Electrochemical water disinfection. Part II: Hypochlorite production from potable water, chlorine consumption and the problem of calcareous deposits. *J Appl Electrochem* 29:861-868
- Kremer CJ** (2002) Azithromycin: A new macrolide. *Primary Care .Antibiotics review Update OB/GYNS Vol.9:174-175*
- Kunec-Vajić E**, Bulat M, Gjuriš V(1993) *Medicinska farmakologija*. Medicinska naklada, Zagreb
- Koslulski M** (2001) *Chemical Properties of Material Surface*. Surfactant Science Series Vol.102, CRC Press
- Kwieceń A**, Krzek J, Walczak M (2012) Stress Degradation Studies on Azithromycin and Development of a Validated Stability-Indicating TLC-Densitometric Method with HPLC/Electrospray Ionization-MS Analysis of Degradation Products *Journal of AOAC International* Vol. 95, No. 5: 1418-1424 (7)
- Lambropoulou DA**, Konstantinou IK, Albanis TA, Fernández-Alba AR, (2011) Photocatalytic degradation of the fungicide Fenhexamid in aqueous TiO₂ suspensions: Identification of intermediates products and reaction pathways. *Chemo.* 83:367-378

Laoufi NA i **Bentahar** F(2014) Pesticide removal from water suspension by UV/TiO₂ process: A parametric study. *Desalination and Water Treatment Desalination and Water Treatment* 52 (10-12): 1947-1955

Legrini O, **Oliveros** E, **Braun** AM (1993) Photochemical processes for water treatment. *Chem. Rev.* 93(2): 671-698

LeBlanc LA i **Kuivila** KM (2008) Occurrence, distribution and transport of pesticides into the Salton Sea Basin, California 2001–2002. *Hydrobiologia* Vol.604: 151-172

Liang C i **Su** H-W (2009) Identification of Sulfate and Hydroxyl Radicals in Thermally Activated Persulfate. *Industrial and Engineering Chem. Research* 48(11): 5558 –5562

Lin C i **Lin** KS(2007) Photocatalytic oxidation of toxic organohalides with TiO₂/UV: the effects of humic substances and organic mixtures. *Chemosphere* 66: 1872-1877

Li Puma G, **Bono** A, **Krishnaiah** D, **Collin** JG (2008) Preparation of titanium dioxide photocatalyst loaded onto activated carbon support using chemical vapor deposition: a review paper. *Journal of Hazar. Materials* 157(2-3):209-219

Liu C, **Nanaboina** V, **Korshin** G (2012) Spectroscopic study of the degradation of antibiotics and the generation of representative EfOM oxidation products in ozonated wastewater. *Chemosphere* 86:774-782

Malato S, **Blanco** J, **Caceres** J, **Fernandez-Alba** AR, **Agüera** A, **Rodriguez** A (2002) Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy. *Catal. Today* 76: 209-220

Malato S, **Fernández-Ibáñez** P, **Maldonado** MI, **Blanco** J, **Gernjak** W(2009) Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today* 147: 1-59

Mandić Z, **Weitner** Z, **Ilijas** M (2003) Electrochemical oxidation of azithromycin and its derivatives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 33:647-654

Martinez-Huitle C i **Brillas** A (2009) Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: a general review. *E. Applied Catalysis. B: Environmental* 87(3): 105-145

Martinez-Huitle CA, Rodrigo MA, Sires I, Scialdone O (2015) Single and coupled electrochemical processes and reactors for the abatement of organic water pollutants: a critical review. *Chem Rev* 115:13362-13407

McFarlane A i Sligl W (2015) The Value of Macrolide-Based Regimens for Community Acquired Pneumonia. *Current Infectious Disease Reports* 17:50

Méndez-Arriaga F, Esplugas S, Giménez (2008) Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO₂ and simulated solar irradiation. *J Water Research* 42(3): 585-594

Moreno AH, Silva MFC i Salgado HRN (2009) Stability study of azithromycin in ophthalmic preparations. *Braz. J. Pharm. Sci.* Vol.45: 219-226

Mijin D, Savić M, Perović S, Smiljanić A, Glavaški O, Jovanović M, Petrović S (2009) A study of the photocatalytic degradation of metamitron in ZnO water suspensions. *Desalination* 249: 286-292

Mulazimoglu P, Tulkens M, Van Bambeke F (2004) *Macrolides*. ATV book released

Mijin DZ, Avramov-Ivić ML, Onjia AE, Grgur BN (2012) Decolorization of textile dye CI Basic Yellow 28 with electrochemically generated active chlorine. *Chem Engineering Journal* 204-206:151-157

Nayler JHC (1971) Structure-activity relationship in semi-synthetic penicillins. *Royal Society of London, Series B. Biological Sci.* 179:357-367

Neyens E i Baeyens J (2003) A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J. Hazard. Mater.* 98(1-3):33-50

Nie W, Li B, Xiu Q (2014) Beta-lactam/macrolide dual therapy versus beta-lactam monotherapy for the treatment of community acquired pneumonia in adults: a systematic review and metaanalysis. *J Anti. Chemo.* 69(6):1441-1446

Niessen Wilfried MA (2006) *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, 3rd ed. CRC Press Taylor & Francis Group, LLC

Nikolaou A, Meric S, Fatta D (2007) Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal. Bioanal. Chem.* 387:1225-1234

Nigović B i Simunić B (2003) Voltametric assay of azithromycin in pharmaceutical dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 32(1):197-202

Nigović B (2004) Adsorptive stripping voltametric determination of azithromycin at a glassy carbon electrode modified by electrochemical oxidation. *Analytical Science* 20:639-643

NMW , dostupno na: http://www.nmw.co.rs/slike/resursi_slatke_vode.jpg

Ohtani H, Taninaka C, Hanada E, Kotaki H, Sato H, Sawada Y, Iga T (2000) Comparative pharmacodynamic analysis of Q-T interval prolongation induced by the macrolides clarithromycin, roxithromycin, and azithromycin in rats. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:2630-2637

Osajima JA, Ishiki HM, Takashima K (2008) *Monatshefte für Chemie* 139:7-11

Oturan N, Wu J, Zhang H, Sharma VK, Oturan MA (2013) Electrocatalytic destruction of antibiotic tetracycline in aqueous medium by electrochemical advanced oxidation processes: Effect of electrode materials. *Cat B-Environ* 140-141:92-97

Pacheco SR, Da Cunha FJB, Faria AF (2014) Azithromycin drug determination in pharmaceutical formulations by UV spectrometry and HPLC-UV. *Br J Anal Chem* 3:481-486

Palma P, Kuster M, Alvarenga P, Palma V L, Fernandes RM, Soares AMVM, López de Alda MJ, Barceló D, Barbosa I R (2009) Risk assessment of representative and priority pesticides in surface water of the Alqueva reservoir (South of Portugal) using on-line solid phase extraction- liquid chromatography - tandem mass spectrometry. *Environment International* 35:545-551

Panizza M, Cerisola G (2003) Influence of anode material on the electrochemical oxidation of 2-naphthol: Part 1. Cyclic voltammetry and potential step experiments. *Electrochimica. Acta* Vol.48: 3491-3497

Parsa JB i Abbasi M (2012) Application of in situ electrochemically generated ozone for degradation of anthraquinone dye Reactive Blue 19. *Journal of Applied Electrochemistry* Vol.42: 435-442

Pelaez M, Nolan NT, Pillai SC, Seery MK, Falaras P, Kontos AG, Dunlop PSM, Hamilton JWJ, Byrne JA, O'Shea K, Entezari MH, Dionysiou DD(2012) A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Applied Catalysis B: Environ.* Vol.125:331– 349

Peng JY, Hou CT, Liu XX, Li HB, Hu XY (2011) Electrochemical behavior of azithromycin at graphene and ionic liquid composite film modified electrode. *Talanta* 86: 227– 232

Pera-Titus M, Garsia-Molina V, Banos MA, Gimenez J, Esplugas S (2004) Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Appl Catal B: Environ* 47:219-256

Petri J, William A(2006) Cephalosporins and other β -lactam antibiotics. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutic*: 1127-1154

Petrović S, Mijin D, Stojanović N (2005) Hemija prirodnih organskih jedinjenja. Tehnološko- metalurški fakultet, Beograd

Planet Voda , dostupno na: <http://planet-voda.com/?p=3194>

Pravilnik o zaštiti voda od zagađivanja stav 1. Službeni glasnik br. 30/2010

Reck E i Richards M (1999) TiO₂ manufacture and life cycle analysis. *Pigment and Resin Technology* 28(3): 149

Rendić S, Medić-Šarić M (2013) Metabolizam lijekova i odabranih ksenobiotika. Medicinska naklada, Zagreb

Robinson I, Junqua G, Van Coillie R, Thomas O (2007) Trends in the detection of pharmaceutical products, and their impact and mitigation in water and wastewater in North America. *Anal. Bioanal. Chem.* 387: 1143–1151

Retsema J i Fu W (2001) *Int J Antimicrob Ag* Vol.18:S3

Rheineck BD Postle J, , Allen PE, Baldock JO, Cook CJ, Zogbaum R VandenBrook JP (2004) Chloroacetanilide Herbicide Metabolites in Wisconsin Groundwater: 2001 Survey Results. *Environmental Science and Technology* 38(20): 5339-5343

Rincon AG i Pulgarin C (2004) Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on E.coli K12 photocatalytic inactivation by TiO₂ implications in solar water disinfection. *Appl. Catal. B: Environ* Vol. 51 : 283–302

Ren-Jang W, Ching-Chang C, Ming-Hung C, Chung-Shin L (2009) Titanium dioxide-mediated heterogeneous photocatalytic degradation of terbufos: Parameter study and reaction pathways. *Journal of Hazardous Materials* Vol.162: 945-953

Sabo A, Tomić Z, Rašković A, Stanulović M (2014) Antibakterijski lekovi. Alfagraf, Novi Sad

Sakkas VA, Calza P, Vlachou AD, Medana C, Minero C, Albanis T(2011) Photocatalytic transformation of flufenacet over TiO₂ aqueous suspensions: Identification of intermediates and the mechanism involved. *Applied Catalysis B: Environmental* Vol.110:238-250

San N, Hatipoğlu A, Koçtürk G, Çınar Z (2001) Prediction of primary intermediates and the photodegradation kinetics of 3-aminophenol in aqueous TiO₂ suspensions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 139: 225-232

Santiago DE , Arana J, Gonzales-Diaz O, Aleman—Dominiquez ME, Acosta-Dacal AC, Fernandez-Rodriquez C, Perez-Pena J, Jose M, Dona-Rodriquez JM (2014) *Appl. Catal. B* 156-157: 284-292

Sato K i Takasugi M (2000) Physicochemical properties and stability of the 15-membered macrolide azithromycin. *Kagaku Ryoho no Ryouiki* 16:1170-1174

Sin JC, Lam SM, Mohamed AR, Lee KR (2012) Degrading endocrine disrupting chemicals from wastewater by TiO₂ photocatalysis: A Review. *International Journal of Photoenergy*. Article ID 185159: 23 pages

Singh HK, Muneer M, Bahnemann D (2003) Photocatalysed degradation of a herbicide derivative, bromacil, in aqueous suspensions of titanium dioxide . *Photochemical & Photobiological Sciences* 2 :151-156

Singh HK, Saquib M, Haque MM, Muneer M, Bahnemann DW(2007a) Titanium dioxide mediated photocatalysed degradation of phenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, in aqueous suspensions. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 264:66-72

Skalsky K, Yahav D, Lador A, Eliakim-Raz N, Leibovici L, Paul M (2013) Macrolides vs. quinolones for community-acquired pneumonia: meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Microbiol Infect.* 19(4)370–378

Slepchenko ES, Karbainov YA, Slepchenko GB, Anisimova LS (2004) Voltammetric research of electrochemical activity of azithromycin dehydrate. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii, Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya* 47:6-9

Sohrabi MR, Davallo M, Miri M (2009) Influence of operational parameters on eliminating azo dyes from wastewater by advanced oxidation technology. *Int J ChemTech Res* 1:446–451

Soussa MA, Goncalves C, Vilar VJP, Boaventura RAR, Alpendurada MF(2012) Suspended TiO₂-assisted photocatalytic degradation of emerging contaminants in a municipal WWTP effluent using a solar pilot plant with CPCs. *Chem Eng J* 198-199:301-309

Souissi Y, Bourcier S, Ait-Aissa S, Maillot-Maréchal E, Bouchonnet S, Genty C, Sablier M (2013) Using mass spectrometry to highlight structures of degradation compounds obtained by photolysis of chloroacetamides: case of acetochlor. *Journal of Chromatography A* 1310: 98-112

Spasojević MD, Krstajić NV, Jakšić MM (1987) Structure, properties and optimization of an anodic electrocatalyst: RuO₂/TiO₂ on titanium. *Journal of Molecular Catalysis*, 40:311-326

Stamper DM, Tuovinen OH (1998) Biodegradation of the acetanilide herbicides alachlor, metolachlor and propachlor. *Critical Reviews in Microbiol.* 24 :1-22

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Odjel za biologiju, dostupno na: http://biologija.unios.hr/webbio/wpcontent/uploads/2013/nastavni_materijali/10utjecaj_covjeka_na_hidrosferu_i_kriosferu.pptx

Šojić DV, Anderluh VB, Orčić DZ, Abramović (2009) Photodegradation of clopyralid in TiO₂ suspensions: identification of intermediates and reaction pathways. *BF Journal of Hazardous Materials* 168: 94–101

Šunjka, D. B, Ostaci atrazina i njegovih degradacionih produkata u podzemnim vodama Srbije, Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu (2012)

Takashima H (2003) Structural Consideration of Macrolide Antibiotics in Relation to the Ribosomal Interaction and Drug Design. *Current Topics in Medicinal Chemistry* Vol.3 :991-999(9)

Thapliyal N, Chiwunze TE, Karpoormath R, Goyal RN, Patel H , Cherukupalli S (2016) Research progress in electroanalytical techniques for determination of antimalarial drugs in pharmaceutical and biological samples. *RSC Adv.*6: 57580-57602

The New Zealand Hospital Pharmacists' Association (NZHPA), dostupno na: <http://www.nzhpa.org.nz/Macrolides.pdf>

Ternes T, Bonerz M, Schmidt T (2001) Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 938:175–185

Timoumi S, Mangin D, Peczalski R, Zagrouba F, Andrieu J (2014) Stability and thermophysical properties of azithromycin dehydrate. *Arab J Chem* 7:189-195

Tixier C, Singer HP, Ollers S, Muller SR (2003) Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environ. Sci. Technol.* 37: 1061-1068

Tong L, Eichhorn P, Perez S, Wang Y, Barcelo D (2011) Photodegradation of azithromycin in various aqueous systems under simulated and natural solar radiation: Kinetics and identification of photoproducts. *Chemosph.* 83:340-348

Tsukinaka Y, Tsuji A, Mizukami Y(1974) Kinetic Approach to the Development in β -lactam antibiotics. Chem Pharm Bull. 22(5): 1185-1197

Turchi CS i Ollis DF(1990) Photocatalytic degradation of organic water contaminants: Mechanisms involving hydroxyl radical attack. Journal of Catalysis 122: 178-192

Vladimirov S, Živanović-Stakić D (2006) Farmaceutska hemija II deo. Farmaceutski fakultet, Beograd

Vorontsov AV, Altynnikov AA, Savinov EN, Kurkin EN (2001) Correlation of TiO₂ photocatalytic activity and diffuse reflectance spectra. J. Ph. Photobiol. A 144 :193-196

Wang Z, Song X, Zhou T, Bian K, Zhang F, He L, Liua Q (2015) Simultaneous determination of ten macrolides drugs in feeds by high performance liquid chromatography with evaporation light scattering detection. RSC Advances 5:1491-1499

Wang Y, Lu K, Feng C (2013) Influence of inorganic anions and organic additives on photocatalytic degradation of methyl orange with supported polyoxometalates as photocatalyst. J. Rare Earths 31:360-365

WebMD - The 10 Most Prescribed Drugs, dostupno na: <http://www.webmd.com/drug-medication/news/20110420/the-10-most-prescribed-drugs#1>

Weigel S, Aulinger A, Brockmeyer R, Harms H, Löffler J, Reincke H, Schmidt R, Stachel B, von Tümpling W, Wanke A (2004) Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. Chemosphere 57: 107–126

WHO - World Health Organization, dostupno na: http://www.who.int/watersanitation_health/monitoring/jmp2005/en/index.html,

Wu Y, Ji X, Hu S (2004) Studies on electrochemical oxidation of azithromycin and its interaction with bovine serum albumin. Bioelectrochemistry 64:91-97

Xu H, Cooper WJ, Jung J, Song W (2011) Photosensitized degradation of amoxicillin in natural organic matter isolate solutions. Water Res. 45:632-638

Yesodharan S, Yesodharan E, Gratzel M (1984) Sol. Energy Mater. 10: 287-302

Yunus RF, Zheng YM, Nadeeshani Nanayakkara KG, Chen JP (2009) Electrochemical removal of rhodamine 6G by using RuO₂ coated Ti DSA. *Ind Eng Ch Res* 48:7466-7473

Zakon o vodama (Sl. gl. R. Srbije 30/2010)

Zhang G, Ji S, Xi B (2006) Feasibility study of treatment of amoxicillin wastewater with combination of extraction, Fenton oxidation and reverse osmosis. *Desalination* 196: 32-42

Zhang Y, Liu X, Cui Y, Huang H, Chi N, Tang X (2009) Aspects of Degradation Kinetics of Azithromycin in Aqueous Solution. *Chroma*. 70:67-73

Zubata P, Ceresole R, Rosasco MA, Pizorno MT (2002) *J Pharm. Biomed Anal.* 27:833-836

BIOGRAFIJA KANDIDATA

Kristina D. Radosavljević, dipl.inž.šumarstva, rođena je 25. 02. 1978. u Beogradu. Osnovnu školu je pohađala u Beogradu, nakon čega je upisala VI beogradsku gimnaziju koju je završila 1997. godine. Iste godine je upisala Šumarski fakultet Univerziteta u Beogradu na kojem je diplomirala.

Diplomske studije završila je 2007. godine sa prosečnom ocenom 9,42. Diplomski rad odbranila je sa ocenom 10. Doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2010/11. godine, studijski program Inženjerstvo zaštite životne sredine.

Od 2007. do 2010. godine radi u struci, kao inž.šumarstva, u preduzeću Demetra RB. 2011. godine se zapošljava u preduzeću BIOS, kao istraživač-saradnik. U prvoj i drugoj godini doktorskih studija, sve ispite predviđene planom i programom položila je u roku. U okviru doktorskih studija položila je sve ispite predviđene studijskim programom sa prosečnom ocenom 9,58.

Objavljeni i saopšteni rezultati koji čine deo teze:**1. Rad objavljen u vrhunskom međunarodnom časopisu - M22**

1.K.Radosavljević, J.Lović, D.Mijin, S.Petrović, M.Jadranin, A.Mladenović, M.Avramov-Ivić, "*Degradation of azithromycin using Ti/RuO₂ anode as catalyst followed by DPV,HPLC-UV* ", Insitute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, January 2017, DOI:10.1007/s 11696-016-0115-2, ISSN: 2585-7290 (Print), 1336-9075 (Online), IF 1.258

2. Rad objavljen u međunarodnom časopisu - M23

1. **K. Radosavljević**, A. Golubović, M.Radišić,A. Mladenović, Dusan Ž. Mijin , S.Petrović, "*Amoxicilin photodegradation by nanocrystalline tio₂* ", Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly,January 2016,DOI: 10.2298/CICEQ160122030R, ISSN:1451-9372, IF 0.867

3. Saopštenje sa skupa međunarodnog značaja štampano u celini– M33

1. **K. Radosavljević**, S. Petrović, D. Antonović, "*Degradation of β - Lactam antibiotics by various oxidation agents in industrial wastewaters*", 12th International Conference "*Research and Development in Mechanical Industry* " RaDMI 2012, Proceedings, Volume II Section D39, pp. 1165-1170, 13 -17 th of September 2012, Vrnjačka banja, Serbia

2. **K. Radosavljević**, S. Petrović, D. Antonović, D. Mijin, "*photocatalytic application of TiO₂ as environmental remediation perspective*",13th International Conference "*Research and Development in Mechanical Industry* " RaDMI 2013,Proceedings, Volume II , p.927-932, 12-15 September 2013, Kopaonik, Serbia

3. **K. Radosavljević**, M.Radišić, A. Mladenović, D. Mijin, M.Avramov-Ivić, S. Petrović," *Electrochemical and photo-degradation of selected enironmentaly relevant macrolides*", 14th International Conference "*Research and Development in Mechanical Industry*"RaDMI 2014, Proceedings, Volume II Section E24, p. 913-918, 18-21 September 2014,Topola, Serbia

4. Saopštenje sa skupa međunarodnog značaja štampano u izvodu- M34

1. Milka L. Avramov Ivić, Jelena D. Lović, Dušan Ž. Mijin, Milka B. Jadranin, **Kristina D. Radosavljević**, Aleksandar R. Mladenović, Slobodan D. Petrović, "Degradation of azithromycin using Ti/RuO₂ anode as catalyst followed by DPV, HPLC-UV and MS analysis", 6th RSE-SEE Conference, Book of abstracts, p 140 (P2 AN02), Balatonkenese, Hungary, 2017

5. Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu- M64

1. **K.Radosavljević**, M. Avramov-Ivić, A. Mladenović, M. Radišić, B. Grgur, D. Mijin, M. Laušević, S. Petrović, "Elektrohemijska razgradnja azitromicina na DSA N platina-oksidi elektrodi", 51. savetovanje Srpskog hemijskog društva i 2. konferencija mladih hemičara Srbije, Kratki izvodi radova, Niš, 5-7. juni 2014

2. M. Avramov-Ivić, J. Lović, D. Mijin, M. Jadranin, **K.Radosavljević**, A. Mladenović, S. Petrović, "Electrochemical degradation of azithromycin using TiO₂/RuO₂ anode", 12th Symposium "Novel Technologies and Economic Development". Book of Abstracts, Leskovac, 20-21 Oktobar 2017

8. IZJAVA O AUTORSTVU

Potpisani-a KRISTINA D.RADOSAVLJEVIĆ_____

broj upisa_____ (studenti upisuju br.indeksa, a doktoranti koji su direktno prijavili doktorsku disertaciju ostavljaju prazno)

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

DEGRADACIJA AMOKSICILINA I AZITROMICINA U VODENOJ SREDINI
RAZLIČITIM FIZIČKO-HEMIJSKIM METODAMA

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranta

U Beogradu , _____

9. IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANE I ELEKTRONSKE VERZIJE

Ime i prezime autora KRISTINA D.RADOSAVLJEVIĆ_____

Broj
upisa_____

–

Studijski
program_____

Naslov rada DEGRADACIJA AMOKSICILINA I AZITROMICINA U VODENOJ
SREDINI RAZLIČITIM FIZIČKO-HEMIJSKIM METODAMA

Mentor DR DUŠAN ANTONOVIĆ

Potpisana KRISTINA RADOSAVLJEVIĆ

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranta

U Beogradu,_____

10. IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

DEGRADACIJE AMOKSICILINA I AZITROMICINA U VODENOJ SREDINI
RAZLIČITIM FIZIČKO-HEMIJSKIM METODAMA

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno –deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranta

U Beogradu, _____
