

<https://doi.org/10.15255/KUI.2022.042>

KUI-22/2023

Pregledni rad

Prispjelo 25. srpnja 2022.

Prihvaćeno 24. rujna 2022.

Ekotoksičnost nesteroidnih protuupalnih lijekova na vodene organizme

D. Bičanić, A. Čugalj, M. Jajčević,* A. Lazinica, M. Miloloža i D. Kučić Grgić

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International LicenseSveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Trg Marka Marulića 19,
10 000 Zagreb

Sažetak

U današnjem modernom svijetu teško je zamisliti život bez uporabe nesteroidnih protuupalnih lijekova. Naime, zbog lake dostupnosti svjedočimo njihovoj sve većoj prisutnosti u svim sastavnicama okoliša, gdje najčešće završavaju zbog nepropisnog odlaganja ili putem otpadnih voda. Stoga je važno napomenuti da se nesteroidni protuupalni lijekovi najčešće mogu naći kao sastavni dio otpadnih voda porijeklom iz farmaceutskih industrija i bolnica te komunalnih otpadnih voda. Znanstvenici su postali svjesni da ti lijekovi u posljednjih nekoliko desetljeća predstavljaju veliku opasnost jer, osim što onečišćuju sve sastavnice okoliša, uzrokuju i negativne posljedice i na organizme prisutne u okolišu te se sve više vremena posvećuje provođenju testova ekotoksičnosti. Testovi ekotoksičnosti najbolje su rješenje za praćenje štetnih učinaka pojedinih tvari ili njihovih smjesa na organizme, pri čemu se može predvidjeti štetan učinak i na čovjeka.

U ovom radu dan je pregled dosadašnjih istraživanja vezanih uz nesteroidne protuupalne lijekove te njihove uloge u hranidbenom lancu. Dodatno, dan je pregled više vrsta lijekova poput ibuprofena, diklofenaka i ketoprofena te opisan njihov učinak na određene organizme poput *Daphnia magna*, *Danio rerio*, *Tinca tinca* i *Navicula* sp.

Ključne riječi

Nesteroidni protuupalni lijekovi, ibuprofen, diklofenak, ketoprofen, testovi ekotoksičnosti

1. Uvod

U današnje doba život bez farmaceutika je nezamisliv, a kako populacija raste i stanovništvo stari, sve više ih se upotrebljava u svrhu prevencije ili liječenja bolesti.¹ Nesteroidnim protuupalnim lijekovima (engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*, NSAID) tretiraju se raznovrsni slabiji i jači bolovi u organizmu te se upotrebljavaju za liječenje upala, a zbog svoje niske cijene i široke primjene te lake dostupnosti (izdaju se bez recepta) sve se češće mogu naći u raznim sastavnicama okoliša, a posebice vodi.² S obzirom na ustanovljene sve veće koncentracije farmaceutika u vodama, važno je posvetiti se njihovoj identifikaciji i uklanjanju da bi se smanjilo opterećenje na okoliš te očuvalo zdravlje biljnog i životinjskog svijeta i ljudi. Najveću zabrinutost kod stručnjaka izazivaju otpadne vode porijeklom iz farmaceutskih industrija i bolnica, kao glavni onečišćivači okoliša lijekovima, ali nisu zanemarive ni komunalne otpadne vode putem kojih lijekovi, također,

dospijevaju u okoliš.³ Osim iskorištenih i neiskorištenih lijekova te njihove ambalaže koja na sebi sadrži lijek u tragovima, u vodama se nalaze i razni produkti i nusprodukti reakcija lijekova s drugim tvarima iz okoliša. Da bi se mogao ispitati utjecaj lijekova na organizme, odnosno da bi se mogla ustanoviti njihova toksičnost, znanstvenici i stručnjaci pribjegavaju upotrebi testova ekotoksičnosti *in vivo* i *in vitro* na raznim organizmima u uvjetima koji su određeni normama. Neki od najčešće primjenjivanih testova provode se na vodenbuhi *Daphnia magna*,⁴ zebrići *Danio rerio*,⁵ algi *Pseudokirchneriella subcapitata*,⁶ bakteriji

*Vibrio fischeri*⁶ te brojnim drugim organizmima. Dokazano je da nesteroidni protuupalni lijekovi zaista izazivaju negativne učinke na organizme, među kojima je važno istaknuti izazivanje oksidativnog stresa,⁴ promjene ekspresije gena vezanih uz rast, razvoj i reprodukciju (inhibicija i indukcija gena), utjecaj na rast i razvoj jedinki,⁷ hemodinamiku, otkucanje srca,⁵ povećanje smrtnosti i utjecaj na dinamiku populacije,⁸ izazivanje fizičkih malformacija,⁹ pojavu nekoordiniranog kretanja¹⁰ i inhibiciju rasta.⁶ U ovom radu stavljen je naglasak na testove ekotoksičnosti diklofenaka, ibuprofena i ketoprofena, najvažnije predstavnike NSAID-a.

2. Farmaceutici i otpadne vode

Farmaceutici su spojevi koji se u određenim količinama i na određen način mogu upotrebljavati u svrhu sprječavanja, olakšavanja, ublažavanja i liječenja bolesti ili simptoma bolesti i štetnih pojava u ljudskom ili životinjskom organizmu.¹¹ Farmaceutici koji su postojani u okolišu šire se vodom i tlom ili se nakupljaju u biljnom i životinjskom svijetu. Njihova koncentracija je stalna zbog njihova neprekidnog ispuštanja u okoliš te samim time predstavljaju rizik za okoliš zbog svoje toksičnosti. Što se više povećava koncentracija različitih farmaceutika koji imaju slične karakteristike, to je rizik za ekosustav znatno veći.¹² U posljednjih nekoliko desetljeća farmaceutska industrija toliko se brzo razvila da se velika količina lijekova upotrebljava u mnogim područjima, kao što su poljoprivreda, peradarstvo, ribarstvo i medicina. Zbog zahtjeva farmaceutskog procesa troši se velika količina vode, pri čemu se izlučuju neki štetni spojevi koji potom reagiraju s vodom, što rezul-

* Autor za dopisivanje: Marko Jajčević
e-pošta: mjajcevic@fkit.hr

tira proizvodnjom velikih količina otpadnih voda. Glavne karakteristike otpadnih voda porijeklom iz farmaceutskih industrija su: visoka koncentracija organskih onečišćivala, velika fluktuacija koncentracije i složeni sastav, velika gustoća bakterijskih populacija, visoka vrijednost biokemijske potrošnje kisika, BPK, i kemijske potrošnje kisika, KPK, i velika razlika vrijednosti BPK/KPK u otpadnoj vodi, visoka koncentracija $\text{NH}_3\text{-N}$ i kroma te visoka koncentracija suspendiranih krutina i salinitet.¹³ Mikroonečišćivala kao što su farmaceutski spojevi postali su problem tijekom pročišćavanja otpadnih voda. Naime, njihovim pročišćavanjem ukloni se samo polovica lijekova koji se uzimaju na recept, kao i novonastalih farmaceutskih produkata.¹¹ Međutim, tehnika adsorpcije pobudila je značajan interes, jer je jednostavna tehnika za uklanjanje lijekova u uzorcima vode iz okoliša. Osim toga, adsorpcija se može kombinirati s postojećim postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda (engl. *wastewater treatment plant*, WWTP) primjenom konvencionalnih procesa obrade vode, kao što su flokulacija, koagulacija i dezinfekcija. Ta kombinacija osigurava učinkovitu obradu otpadnih voda.¹⁴ Među raznim farmaceutskim spojevima, koji se često nalaze u izvorima pitke vode i otpadnim vodama, su i NSAID-i, koji su često detektirani u vodi za piće.¹⁴

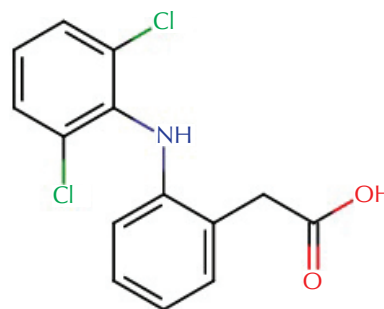
3. Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID)

NSAID-i su najčešće upotrebljavani farmaceutski proizvodi u humanoj i veterinarskoj medicini, koji imaju analgetičko, antipiretičko i protuupalno djelovanje.¹⁵ To su lijekovi za ublažavanje boli, crvenila, otekline, simptoma groznice i upala, pri čemu, za razliku od ostalih lijekova, ne djeluju na psihičko stanje pacijenta. Upravo zbog toga mogu se kupiti u ljekarni bez recepta, što je s jedne strane dobro jer su lako dostupni široj populaciji, a s druge strane njihova česta upotreba istodobno izaziva i veliku zabrinutost stručnjaka. Naime, u posljednje vrijeme detektirani su u okolišu kao onečišćivala koja se pojavljuju u tragovima. Najčešće otkriveni NSAID-i u okolišu su diklofenak (DCF), ibuprofen (IBP) i ketoprofen (KTF). Oni vrlo lako dospijevaju u vodu i tlo, toksični su, mogu se transformirati u druge oblike koji mogu biti još toksičniji te kad jednom dospiju u okoliš teško ih je ukloniti zbog visoke stabilnosti kemijske strukture i vrlo aktivnih funkcionalnih molekularskih skupina. Upravo zbog navedenih svojstava predstavljaju posebnu opasnost za ljude i okoliš. Koncentracije NSAID-a u okolišu variraju ovisno o količini njihove potrošnje od strane stanovništva, starosti populacije određene zemlje te učinkovitosti WWTP-a.¹⁵ Koncentracije tih farmaceutika najviše su u neobrađenim, ali i obrađenim otpadnim vodama, jer ih je procesima obrade vrlo teško ukloniti zbog hidrofилnosti. U površinskim i podzemnim vodama koncentracije su niže zbog prirodnih procesa kao što su biotransformacija, fotoliza, sorpcija, isparavanje i disperzija.¹⁵ Dakle, koncentracije se kreću između nekoliko ng l^{-1} do mg l^{-1} farmaceutika u podzemnim i površinskim vodama, dok su u slučaju pročišćenih otpadnih voda između 0,001 i $1 \mu\text{g l}^{-1}$.¹⁵ Koncentracije NSAID-a u tlu ovise o raznim čimbenicima i stoga ih je teže odrediti. Tlo je općenito onečišćeno otjecanjem različitih tvari s odlagališta otpada ili otpadom životinjskog

porijekla, što povećava koncentraciju mikroonečišćivala u čvrstoj fazi. Bez obzira na veliko iskustvo s tom vrstom lijekova, razumijevanje njihove prisutnosti, raspodjele i ekotoksikoloških učinaka u okolišu i dalje je ograničeno, pa je stoga potrebno provoditi što više testova ekotoksičnosti da bi se ustanovili njihovi učinci na sve sastavnice okoliša.¹⁵⁻¹⁷

3.1. Diklofenak (DCF)

DCF ili 2-[(2,6-diklorfenil)amino] benzenoctena kiselina jedan je od najprodavanijih NSAID-a koji se obično upotrebljava kao analgetik, antiartritik i antireumatik.^{18,19} Hidrofilan je i vrlo stabilan spoj, a njegova struktura prikazana je na slici 1.⁴

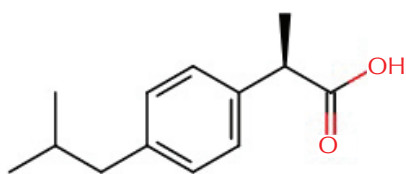


Slika 1 – Struktura diklofenaka
Fig. 1 – Structure of diclofenac

U svijetu ga se godišnje potroši 940 t, a gotovo 75 % upotrebljavanog DCF-a ulazi u vodeni okoliš i tlo.^{4,19} Upravo je zbog toga DCF postao onečišćivalo koje izaziva zabrinutost te je uključen na Popis za praćenje ("Watch list") u sklopu Okvirne direktive EU-a o vodama (EU 2015/495) s ciljem prikupljanja više informacija o njegovoj pojavi i učincima na okoliš.¹⁸ Jedan je od najčešće uočenih farmaceutika u prirodnim vodama i komunalnim otpadnim vodama. U njih kontinuirano i najčešće dospijeva iz farmaceutske industrije, bolnica i odvodnje iz kućanstava, a vrlo često se detektira i u izvorima pitke vode (u mg l^{-1}).¹⁸ Lijek pod nazivom Voltaren najčešće je upotrebljavani oblik diklofenaka. Zbog njegove hidrofилnosti i stabilnosti u vodenom okolišu njegovo je uklanjanje u konvencionalnim WWTP-ima ograničeno (veoma varijabilno, u rasponu 7 – 98 %). Upravo ispuštanjem nedovoljno pročišćenih otpadnih voda dospijeva u sve sastavnice okoliša.¹⁸ S obzirom na razinu koncentracija DCF-a koje nalazimo u okolišu njegova toksičnost je relativno niska. Međutim, dokazano je da mogući sinergistički odnos s drugim farmaceuticima i kemijskim spojevima u vodenom mediju može doprinijeti povećanju štetnog utjecaja na okoliš.²⁰ Stoga DCF izaziva brojne toksične učinke na organizme koji su izloženi njegovom prisustvu u okolišu, a primijećena je i njegova bioakumulacija u tkivima različitih biljaka i životinja. Također, to može dovesti do biomagnifikacije (prijenosa onečišćujuće tvari putem hranidbenog lanca) i vrlo nepovoljno djelovati na ljude putem hranidbenog lanca.¹⁸

3.2. Ibuprofen (IBP)

IBP ili (RS)-2-(4-(2-metilpropil)fenil) propionska kiselina vrlo je topljiv u vodi, a njegova struktura prikazana je na slici 2. Farmaceutski je spoj koji se ubraja u NSAID-e i koji se upotrebljava u liječenju reumatoidnog artritisa i mišićno-koštanih poremećaja u odraslih i djece.²¹ IBP inhibira enzime ciklooksigenaze, uglavnom COX-1 i COX-2, blokirajući sintezu prostaglandina. Prostaglandini su lipidi koji djeluju kao posrednici u upalnom odgovoru i endokrinom, živčanom, reproduktivnom i probavnom sustavu.²² Još se uvelike upotrebljava kao protuupalni lijek za ublažavanje bolova uključujući zubobolju, migrenu te kao analgetik i antipiretik za snižavanje vrućice.²³

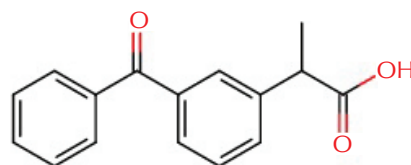


Slika 2 – Struktura ibuprofena
Fig. 2 – Structure of ibuprofen

Primjena IBP-a postala je široko rasprostranjena posljednjih godina i najčešće je prodavan bezreceptni lijek u svijetu, a može ga se naći u vidu svima dobro poznatog lijeka imena Brufen.²⁴ Glavni put unosa IBP-a u okoliš je izlučivanje nemetaboliziranog i metaboliziranog lijeka u mokraćni ljudi i životinja nakon medicinskog liječenja, a toksični učinak može imati i iskorišten i odbačen lijek iz akvakulture i farmaceutske industrije.²⁵ Oko 15 % terapijske doze IBP-a ostaje nepromijenjeno u izlučivanju, dok se oko 26 % izlučuje kao metabolizirani hidroksil-ibuprofen, a 43 % kao karboksi-ibuprofen, koji su čak i toksičniji od ishodnog spoja.²⁶ Zbog kontinuiranog ispuštanja u okoliš IBP je pronađen kao jedan od najčešćih lijekova u otpadnim vodama iz WWTP-a, kanalizacijskom mulju i bolničkim otpadnim vodama u nekoliko europskih, američkih i azijskih zemalja. Fizikalne metode koje su najčešće primjenjivane za uklanjanje IBP-a jesu adsorpcija, osmoza te procesi membranske filtracije. Kemijske metode najčešće primjenjivane za uklanjanje IBP-a uključuju napredne oksidacijske procese, koagulaciju-flokulaciju, elektrokoagulaciju, kemijsku oksidaciju te ionsku izmjenu.²⁷ IBP uzrokuje štetne učinke na gljivicama, bakterijama, algama, mikroorganizmima, rakovima i brojnim vrstama riba te utječe na fotosintezu vodenih biljaka.²⁷

3.3. Ketoprofen (KTF)

KTF, odnosno 2-(3-benzoilfenil)-propionska kiselina, derivat je propionske kiseline koji pripada u skupinu NSAID-a, a obično se izdaje na recept.²⁸ Struktura KTF-a prikazana je na slici 3.



Slika 3 – Struktura ketoprofena
Fig. 3 – Structure of ketoprofen

Patentiran je 1967. godine, a odobren za upotrebu u medicinske svrhe 1980.²⁹ Primjena KTF-a najčešća je u suzbijanju upala, reumatskih bolesti i smanjenju akutne i kronične boli.³⁰ KTF se može okarakterizirati niskom bioraspoloživošću, kratkim biološkim poluvremenom i slabom topljivosti u vodi, a njegovom učestalom konzumacijom može doći do gastrointestinalnih nuspojava.³¹ U listopadu 2020., Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *U.S. Food and Drug Administration*) zatražila je nadogradnju oznake na lijeku KTF zbog otkrivene mogućnosti štetnog utjecaja na jetru u fetalnom razvoju djece, pri čemu se ne preporučuje primjena KTF-a ženama koje su u dvadesetom ili višem tjednu trudnoće ili poslije.³² Kao posljedica djelomične razgradnje u WWTP-u, prisutnost KTF-a detektirana je u otpadnim vodama, rijekama i morima.²⁸ Koncentracija KTF-a u otpadnim vodama ovisi o nekoliko faktora, a posebice o vrsti vodenog medija te može varirati od svega par ng l^{-1} pa do nekoliko mg l^{-1} , kad su u pitanju otpadni tokovi iz farmaceutske industrije. Prema postojećim podacima vezanim uz konvencionalni WWTP, KTF se uklanja u rasponu 40 – 100 %, s prosječnom učinkovitosti od 69 %.³³ Najbolji način za pospješivanje uklanjanja KTF-a iziskuje primjenu trećeg stupnja pročišćavanja koje uključuje napredne oksidacijske procese, međutim potencijalni problem može nastati u slučaju formiranja više toksičnih nusprodukata.³³ Neke od metoda koje se također primjenjuju za uklanjanje KTF-a su heterogena katalitička ozonacija,³⁴ primjena procesa s O_3/UV kombinacijom,⁶ degradacija inducirana radijacijom³⁵ i uklanjanje upotrebom zeolitnih kompozita.³³

4. Testovi ekotoksičnosti

Toksičnost označava svojstvo neke tvari da u živom organizmu izaziva bolest, promjenu ponašanja, karcinogene i mutagene promjene, fiziološke smetnje, fizičke deformacije odnosno smrt.³⁶ Znanost koja se bavi proučavanjem štetnog djelovanja kemijskih i/ili fizikalnih agensa na žive organizme ili određeni biološki sustav naziva se toksikologija.³⁴ Nadalje, tvari koje mogu izazivati štetan učinak općenito se nazivaju toksikantima, a mogu biti prirodnog ili umjetnog podrijetla.^{37,38} S obzirom na to da je djelovanje štetnih tvari vrlo složeno te ovisi o primjeni i učestalosti izloženosti organizama tim toksičnim tvarima, utvrđeno je i dogovoreno da se razlikuju akutna, subakutna, subkronična i kronična izloženost. Ekotoksikologija se definira kao znanost koja se bavi istraživanjem učinaka nastalih kao posljedica prirodnih ili umjetno stvorenih toksičnih i opasnih tvari na sve žive organizme. S obzirom na to da je ekotoksikologija interdisciplinarna znanost, ona uključuje

fiziologiju, ekologiju, toksikologiju, patofiziologiju i ekofiziologiju.³⁹ Metode za određivanje ekotoksičnosti su različiti testovi ekotoksičnosti u kojima se testni organizmi izlažu toksičnim tvarima, smjesama tvari, odnosno različitim onečišćujućim tvarima te se procjenjuju učinci na preživljavanje, rast, reprodukciju, ponašanje i druge osobine testnih organizama.^{37,38} Testovi ekotoksičnosti mogu se primjenjivati za određivanje akutne toksičnosti (izlaganje testnih organizama ispitivanoj tvari tijekom kraćeg razdoblja, uz jednokratnu ili višekratnu veću dozu) i kronične toksičnosti (izlaganje testnih organizama ispitivanoj tvari tijekom duljeg razdoblja, uz višekratnu manju dozu). Nadalje, ti testovi mogu se provoditi *in vivo* (na živim organizmima) i *in vitro* (na stanicama ili tkivima). Neki od najpoznatijih testova za određivanje akutne toksičnosti su testovi s *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna*, *Danio rerio* i *Pseudokirchneriella subcapitata*, dok se za određivanje kronične toksičnosti primjenjuju testovi upotrebom *Pseudomonas putida*, *Desmodesmus subcapitata*, *Skeletonema costatum* i *Daphnia magna* kao testnim organizmima.³⁹

Pojmovi pomoću kojih se izražavaju rezultati dobivenih istraživanja su:

- LC₅₀ (engl. *lethal concentration*) – koncentracija tvari koja je smrtonosna za 50 % istraživanih jedinki u testu ekotoksičnosti,
- EC₅₀ (engl. *effective concentration*) – koncentracija tvari kod koje su štetni učinci vidljivi kod 50 % promatranih organizama,
- IC₅₀ (engl. *inhibitory concentration*) – koncentracija određene tvari, primjerice farmaceutika, pesticida ili druge onečišćujuće tvari, potrebna za 50 %-tnu inhibiciju biološkog procesa.^{38,40}

Testovi ekotoksičnosti pomažu utvrditi koncentracije onečišćujućih tvari koje mogu uzrokovati štetne učinke kod testiranih organizama.³⁸

4.1. Testovi ekotoksičnosti – Diklofenak (DCF)

Zbog velike prisutnosti DCF-a u vodenom okolišu provedena su brojna istraživanja njegova učinka na različite vodene organizme. Tablica 1 sažima neka provedena istraživanja.

Istraživanja se provode na embrijima i odraslim jedinkama zebrića *Danio rerio* s obzirom da su pogodni za ispitivanje ekotoksičnosti zbog lakog održavanja u laboratoriju, brzog razvoja i rasta te visoke plodnosti.⁷ U istraživanju koje su proveli *Bio i Nunes*,⁷ proveden je test akutne toksičnosti, tijekom 96 h, za četiri relevantne koncentracije DCF-a za okoliš: 0,5, 5, 50 te 500 µg l⁻¹. Nakon 96 h izlaganja embrija i odraslih jedinki zebrića DCF-u uslijedilo je određivanje biomarkera oksidativnog stresa (katalaza (CAT), glutation-S-transferaza (GST) i glutation peroksidaza (GPx)) te peroksidacija lipida. Zaključeno je da je DCF izazvao oksidativni stres kod embrija i odraslih jedinki *Danio rerio*, što ukazuje na to da uslijed izloženosti organizama DCF-u u prirodnim staništima dolazi do oksidativnog stresa budući da su ispitivane okolišne koncentracije DCF-a.⁷ Nadalje, *Liu i sur.*⁴¹ ispitivali su utjecaj DCF-a na preživljavanje, ek-

Tablica 1 – Pregled provedenih testova ekotoksičnosti za diklofenak na različitim testnim organizmima

Table 1 – Overview of conducted ecotoxicity tests for diclofenac on different test organisms

Testni organizam	Vrijeme izlaganja	Ispitivane koncentracije / µg l ⁻¹	Praćeni utjecaji	Lit.
<i>Danio rerio</i>	96 h	0,5 – 500	oksidativni stres, preoksidacija lipida	7
<i>Daphnia magna</i>	24, 48 i 96 h	5 – 5000	preživljavanje, brzina rasta, reprodukcija	41
<i>Tinca tinca</i>	35 dana	0,02 – 60	oksidativni stres, promjene u biotransformaciji i antioksidativnim enzimima	42

spresiju gena povezanih s detoksikacijskim metabolizmom, brzinu rasta i reprodukciju vodenbuha *Daphnia magna* i to pomoću testa kronične ekotoksičnosti. *Daphnia magna* naširoko se upotrebljava u procjeni toksičnosti kemikalija zbog svoje visoke osjetljivosti na širok raspon kemikalija, kratkog životnog ciklusa i lakoće uporabe u laboratoriju.⁴¹ Osim toga, pojavljuju se u velikom broju slatkovodnih jezera i ribnjaka te imaju ključnu ulogu u prijenosu energije i hranjivih tvari.⁴¹ U testu akutne ekotoksičnosti izlaganje je provedeno za koncentracije od 5, 50, 500 i 5000 µg l⁻¹ tijekom 24, 48 i 96 h. U testu kronične ekotoksičnosti vodenbuhe su bile izložene istim koncentracijama DCF-a, ali tijekom 21 dana. Pratio se učinak DCF-a na ekspresiju sljedećih gena: HR96, P-gp, CYP360A8, CYP314, GST, EcR i VTC, koji su povezani s detoksikacijskim metabolizmom, rastom, razvojem i reprodukcijom. Navedeni geni bili su inhibirani pri niskim koncentracijama (5 i 50 µg l⁻¹), međutim produljenjem vremena izlaganja gena istim koncentracijama DCF-a, ali i povećanjem koncentracija (500 i 5000 µg l⁻¹), došlo je do njihove indukcije. Te ekspresije gena pružile su bolji uvid u molekularne toksične mehanizme DCF-a, međutim potrebna su daljnja istraživanja.⁴¹ Osim testova ekotoksičnosti određenog NSAID-a na odabrani testni organizam, provode se i istraživanja u kojima se uspoređuje toksični učinak dvaju ili više NSAID-a. Jedno od takvih istraživanja koje su proveli *Stancova i sur.*⁴⁰ ispituje učinak samih IBP-a, DCF-a i CBZ-a i učinak njihove smjese na parametre oksidativnog stresa u ranim životnim stadijima linjaka (*Tinca tinca*), odnosno slatkovodne ribe iz porodice šarana. Zametci i ličinke linjaka bili su izloženi 35 dana otopinama pojedinačnih lijekova u nominalnoj koncentraciji od 60 µg l⁻¹ i mješavinama lijekova u nominalnim koncentracijama od 0,02; 0,2; 2; 20 i 60 µg l⁻¹ svakoga lijeka. Brojni biomarkeri izloženosti ksenobiotičima (enzimski sustavi koji kataliziraju reakcije biotransformacije, biomarkeri za razinu antioksidanasa, biomarkeri za lipidnu peroksidaciju) praćeni su u ribama nakon 35 dana izlaganja otopinama pojedinačnih lijekova i njihovim smjesama. Ispitivani lijekovi inducivali su oksidativni stres u ribama, i pojedinačno i u smjesi. Zaključeno je da je vrlo teško odrediti jesu li toksičnije otopine pojedinačnih lijekova ili smjesa upravo zbog činjenice da se otopine po-

jedninačnih lijekova mogu smatrati smjesama koje se sastoje od aktivnog spoja te njegovih metabolita.⁴²

4.2. Testovi ekotoksičnosti – Ibuprofen (IBP)

U tablici 2 dan je pregled provedenih testova ekotoksičnosti za IBP na različitim testnim organizmima. *Zhang i sur.*⁵ ispitali su utjecaj IBP-a na *Danio rerio* pri koncentracijama 0,19, 0,91, 4,3 i 21,9 $\mu\text{g l}^{-1}$. Proučavao se utjecaj na razvoj embrija prateći otkucaje srca, pojavu spontane kontrakcije i uspješnost izlijevanja tijekom 56 h. Pri izlaganju embrija najvišoj koncentraciji lijeka (21,9 $\mu\text{g l}^{-1}$) otkucaji srca bili su smanjeni za 8 %; vidljivo je bilo blago uvećanje ventrikularnog udarnog volumena; minutni volumen srca se povećao za čak 30,6 % pri koncentracijama od 0,91, 4,3 i 21,9 $\mu\text{g l}^{-1}$. Osim fiziologije, proučavan je i utjecaj IBP-a na hemodinamiku, odnosno na brzinu kretanja krvnih stanica, gustoću i protok krvi. Utvrđena je povećana brzina kretanja pri koncentracijama od 4,3 i 21,9 $\mu\text{g l}^{-1}$, što je čak 60,2 % brže od uobičajene brzine kretanja.⁵ Pri istim koncentracijama smanjila se gustoća krvi za 20,9 %, dok je pri koncentraciji od 4,3 $\mu\text{g l}^{-1}$ protok uvećan za 20,8 %, odnosno za 26,7 % pri koncentraciji od 21,9 $\mu\text{g l}^{-1}$.⁵

Tablica 2 – Pregled provedenih testova ekotoksičnosti za ibuprofen na različitim testnim organizmima

Table 2 – Overview of conducted ecotoxicity tests for ibuprofen on different test organisms

Testni organizam	Vrijeme izlaganja	Ispitivane koncentracije/ $\mu\text{g l}^{-1}$	Praćeni utjecaji	Lit.
embrij <i>Danio rerio</i>	56 h	0,19 – 21,9	otkucaji srca, pojava spontane kontrakcije, uspješnost izlijevanja, fiziologija kardiovaskularnog sustava, hemodinamika	5
<i>Daphnia magna</i>	24 h – 14 dana	20 000 – 80 000	somatski rast, reprodukcija, preživljavanje, dinamika populacije	8
<i>Navicula</i> sp.	10 dana	100 – 100 000	brzina rasta, sadržaj klorofila i karotenoida	44

*Heckmann i sur.*⁸ ispitali su učinak IBP-a (20, 40 i 80 mg l^{-1}) na *Daphnia magna* tijekom 24 h do 14 dana izlaganja. Proučavani su sljedeći parametri: somatski rast, reprodukcija, preživljavanje i dinamika populacije. Somatski rast proučavan je u vidu tjelesne površine, a uočeno je da je došlo do njegova značajnijeg porasta pri višim koncentracijama IBP-a i to tek nakon 8 dana izlaganja organizama. Naime, uočeno je da se toksični učinak povećavao s duljim vremenom izlaganja s obzirom na povećanje tjelesne površine od 12. do 14. dana pri koncentracijama od 40 i 80 mg l^{-1} . Najznačajniji utjecaj IBP je imao upravo na reprodukciju *Daphnia magna*, gdje je utvrđeno da je koncentracija od 40 mg l^{-1} IBP-a odgodila reprodukciju, a sveukupna

reproduktivnost ženki tijekom cijelog razdoblja ispitivanja najviše je smanjena pri najvišoj ispitanoj koncentraciji od 80 mg l^{-1} . Ispitivana koncentracija IBP-a od 80 mg l^{-1} doprinijela je visokoj smrtnosti *Daphnia magna*. Dinamika populacije mijenjala se s koncentracijom, odnosno porastom koncentracije IBP-a uočeno je smanjenje dinamike populacije, a odnos između koncentracije i dinamike populacije je linearan.⁸ Procijenjene vrijednosti EC_{10} i EC_{50} za cjelokupno razdoblje ispitivanja iznosile su 2,04 mg l^{-1} odnosno 13,4 mg l^{-1} .⁸ Parametre preživljavanja, dinamike populacije i reprodukcije proučavali su i *Hayashi i sur.*,⁴³ koji su potvrdili ispitivanja koja su proveli *Heckmann i sur.*⁸ Naime, nađeno je da je najveća smrtnost *Daphnia magna* bila pri koncentraciji IBP-a od 80 mg l^{-1} te da se porastom koncentracije smanjivala dinamika populacije. Nadalje, potvrdili su da je najmanja reproduktivnost ženki bila pri izlaganju najvećoj koncentraciji IBP-a (80 mg l^{-1}).⁴³ Ispitivanja mogućih negativnih učinaka NSAID-a provode se i na algama. Tako je u istraživanju koje su proveli *Ding i sur.*⁴⁴ na zelenoj algi *Navicula* sp. promatran utjecaj IBP-a na parametre brzine rasta te sadržaj klorofila i karotenoida. Test se provodio 10 dana uz izloženost koncentracijama IBP-a od 0,1, 0,5, 1, 10, 50 i 100 mg l^{-1} . Uočeno je da brzina rasta alge ovisi kako o koncentraciji lijeka tako i o vremenu izlaganja s obzirom na to da je nakon dva dana uočena 100 %-tna inhibicija rasta algi pri koncentracijama IBP-a od 50 i 100 mg l^{-1} . Međutim, u razdoblju od 2. do 7. dana izlaganja došlo je do ponovnog rasta algi, što se može pripisati mehanizmu oporavka algi. Mehanizam oporavka podrazumijeva preraspodjelu hranjivih tvari, pri čemu dolazi do regeneracije oštećenih dijelova i ponovnog rasta algi.⁴² Nakon 7. dana izloženosti nastavljen je trend opadanja brzine rasta algi uslijed povećanja koncentracije IBP-a, ali i povećanja koncentracije nusprodukata nastalih njegovim raspadom. Inhibicija fotosinteze također je uočena pri višim koncentracijama IBP-a (10, 50 i 100 mg l^{-1}) pri kojima je došlo do znatnog smanjenja sadržaja klorofila. Kao i kod klorofila, koncentracija karotenoida bila je veća pri izlaganju koncentracijama od 0,1, 0,5 i 1 mg l^{-1} , dok pri višim koncentracijama karotenoidi ne mogu deaktivirati pobuđeni klorofil ili reagirati s nusproduktima raspada IBP-a, što dovodi do inhibicije rasta alge *Navicula* sp.⁴⁴

4.3. Testovi ekotoksičnosti – Ketoprofen (KTF)

S obzirom na to da je KTF sveprisutan u površinskim i otpadnim vodama, provedena su brojna istraživanja njegova učinka na raznovrsne organizme. Tako su ispitivanja provedena na embrijima i odraslim jedinkama zebrića *Danio rerio* i vodenbuhi *Daphnia magna* (tablica 3).

*Rangasamy i sur.*⁹ ispitali su mogući negativan učinak KTF-a u koncentracijama od 1, 10 i 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ na embrije i odrasle jedinke zebrića u razdoblju od 42 dana. Kod embrija su ustanovljene promjene poput fizičkih malformacija (zakrivljenje kralježnice i edem perikarda), koje su bile najuočljivije za koncentracije 10 i 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ KTF-a.⁹ Smanjeno izlijevanje i povećanje smrtnosti embrija rasli su s povećanjem ispitivanih koncentracija. Značajnije promjene u otkucajima srca ustanovljene su pri koncentracijama od 10 i 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ KTF-a. S druge strane, kod odraslih jedinki koje su bile izložene KTF-u, ustanovljena je povećana aktivnost

Tablica 3 – Pregled provedenih testova ekotoksičnosti za ketoprofen na različitim testnim organizmima

Table 3 – Overview of conducted ecotoxicity tests for ketoprofen on different test organisms

Testni organizam	Vrijeme izlaganja	Ispitivane koncentracije / $\mu\text{g l}^{-1}$	Praćeni utjecaji	Lit.
embrij <i>Danio rerio</i>	42 dana	1 – 100	pojava fizičkih malformacija, uspješnost izlijevanja, preživljavanje, otkucaji srca	9
odrasle jedinke <i>Danio rerio</i>	42 dana	1 – 100	biokemijski parametri, ponašanje, oksidativni stres	9
<i>Daphnia magna</i>	24 – 48 h	5 – 50 000	brzina plivanja, otkucaji srca, pokretljivost donje čeljusti	10

biokemijskih enzima poput aspartat transaminaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT) i mliječne dehidrogenaze (LDH), smanjena aktivnost Na^+/K^+ ATPaze te je uočeno smanjenje razine antioksidansa u jetri i povećanje razine lipidne peroksidacije pri izloženosti svim ispitanim koncentracijama lijeka. Nusprodukti nastali reakcijom KTF-a doveli su do stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva (slobodnih radikala) koji su uzrokovali promjene u ponašanju odraslih jedinki (primjerice, došlo je do pojave hiperaktivnosti, pri čemu se brzina plivanja povećala odmah pri izlaganju, međutim povećanjem koncentracija dolazilo je do postupnog smanjenja brzine plivanja, odnosno smanjila se hiperaktivnost), ali i oksidativni stres koji se očitovao u obliku oštećenja DNK u tkivima i smrti stanica.⁹ Ispitivanje učinka KTF-a provedeno je i na vodenbuhi *Daphnia magna*. Tako su Bownik i sur.¹⁰ navedeni organizam izlagali koncentracijama KTF-a od 0,005, 0,05, 0,5, 5 i 50 mg l^{-1} . Tim testom ispitivani su brzina plivanja, otkucaji srca i pokretljivost donje čeljusti vodenbuhe nakon izloženosti od 24 i 48 h. Ispitivanja su ukazala na promjenu u brzini plivanja *Daphnia magna*, odnosno nakon 24 h bilo je moguće vidjeti značajan pad u brzini plivanja kod izloženosti svim navedenim koncentracijama, posebice pri koncentraciji od 50 mg l^{-1} . Nakon 48 h svi izloženi organizmi plivali su brzinom u rasponu od 0,2 do 1,2 mm s^{-1} (za usporedbu, brzina plivanja u kontroli nakon 48 h bila je 5,4 mm s^{-1}). Što se otkucaja srca tiče, nakon izloženosti od 24 h vidjelo se da sve koncentracije, osim one od 50 mg l^{-1} , nisu imale značajniji utjecaj, dok je nakon 48 h koncentracija 50 mg l^{-1} KTF-a imala drastičan utjecaj te je smanjila otkucaje srca s prvobitnih 270 otkucaja u minuti na 50 otkucaja u minuti. Kod pokretljivosti donje čeljusti ispitivanih organizama pronađeno je da su nakon 24 h sve koncentracije imale negativan učinak, odnosno smanjena je njezina pokretljivost, međutim kod koncentracije od 0,5 mg l^{-1} došlo je do povećane pokretljivosti donje čeljusti.¹⁰

5. Zaključak

Nesteroidni protuupalni lijekovi danas se primjenjuju za razne bolesti i jedni su od najzastupljenijih lijekova koje proizvode farmaceutske tvrtke. Iako se i dalje o štetnim učincima NSAID-a ne zna mnogo, znanstvenici i stručnjaci diljem svijeta sve više teže i potiču ispitivanja vezana uz njihove utjecaje na različite sastavnice okoliša. Kao velik problem pokazale su se otpadne vode porijeklom iz farmaceutskih industrija i bolnica, koje su glavni izvor onečišćenja farmaceutskim supstancijama, no bitno je naglasiti i činjenicu da sve veće količine lijekova dospijevaju u komunalne otpadne vode, što se najčešće događa zbog nepropisnog postupanja s neiskorištenim lijekovima. Iz pregledane literature i na temelju izdvojenih provedenih testova ekotoksičnosti, može se zaključiti da NSAID-i mogu imati značajniji štetan učinak na organizme. Tako je primijećeno da oni mogu uzrokovati razne malformacije, smanjiti reproduktivnu sposobnost, utjecati na dinamiku populacije, uzrokovati štetu na brojnim organskim sustavima, izazvati hormonski disbalans u organizmu, ali i negativno utjecati na rast organizama. Pregledani radovi ukazuju na to da je važno pažnju posvetiti uklanjanju lijekova iz sastavnica okoliša, da bi se spriječio njihov štetan učinak kako na biljni i životinjski svijet tako i na same ljude koji s dotičnim spojevima dolaze u kontakt putem hranidbenog lanca.

Popis kratica i simbola

List of abbreviations and symbols

- BPK – biološka potrošnja kisika
– biochemical oxygen demand
- KPK – kemijska potrošnja kisika
– chemical oxygen demand
- WWTP – postrojenje za pročišćavanje otpadnih voda
– wastewater treatment plant
- NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi
– non-steroidal anti-inflammatory drugs
- DCF – diklofenak
– diclofenac
- IBP – ibuprofen
– ibuprofen
- KTF – ketoprofen
– ketoprofen
- CBZ – karbamazepin
– carbamazepine
- LC_{50} – koncentracija tvari koja je smrtonosna za 50 % populacije
– concentration of a substance that is lethal for 50 % of the population
- IC_{50} – koncentracija određene tvari pri kojoj dolazi do 50 %-tne inhibicije
– concentration of a certain substance at which 50 % inhibition occurs
- EC_{10} – efektivna koncentracija pri kojoj dolazi do štetnog utjecaja na 10 % populacije
– concentration of a certain substance at which 50 % inhibition occurs

- EC₅₀ – efektivna koncentracija pri kojoj dolazi do štetnog utjecaja na 50 % populacije
– effective concentration at which a harmful effect occurs in 50 % of the population
- CAT – katalaza
– catalase
- GST – glutation-S-transferaza
– glutathione-S-transferase
- GPx – glutation peroksidaza
– glutathione peroxidase
- AST – aspartat transaminaza
– aspartate transaminase
- ALT – alanin aminotransferaza
– alanine aminotransferase
- LDH – mliječna dehidrogenaza
– lactic dehydrogenase

Literatura References

1. A. Dogan, J. Plotka-Wasyłka, D. Kempnińska-Kupczyk, J. Namieśnik, A. Kot-Wasik, Detection, Identification and Determination of Chiral Pharmaceutical Residues in 2 Wastewater: Problems and Challenges, *Trends Anal. Chem.* **122** (2020) 115710, doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115710>.
2. A. Elizalde-Velázquez, S. Subbiah, T. A. Anderson, M. J. Greenb, X. Zhao, J. E. Cañas-Carrell, Sorption of three common nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to microplastics, *Sci. Total Environ.* **715** (2020) 136974, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136974>.
3. E. Voudrias, L. Goudakou, M. Kermenidou, A. Softa, Composition and production rate of pharmaceutical and chemical waste from Xanthi General Hospital in Greece, *J. Waste Manag.* **32** (2012) 1442–1452, doi: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.01.027>.
4. P. Sathishkumar, R. A. A. Meena, T. Palanisami, V. Ashokkumar, T. Palvannan, F. L. Gu, Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota – a review, *Sci. Total Environ.* **698** (2020) 134057, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134057>.
5. K. Zhang, G. Yuan, A. A. Werdich, Y. Zhao, Ibuprofen and diclofenac impair the cardiovascular development of zebrafish (*Danio rerio*) at low concentrations, *Environ. Pollut.* **258** (2019) 113613, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113613>.
6. E. Illes, E. Szabo, E. Takacs, L. Wojnarovits, A. Dombi, K. Gajda-Schranz, Ketoprofen removal by O₃ and O₃/UV processes: Kinetics, transformation products and ecotoxicity, *Sci. Total Environ.* **472** (2014) 178–184, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.119>.
7. S. Bio, B. Nunes, Acute effects of diclofenac on zebrafish: indications of oxidative effects and damages at environmentally realistic levels of exposure, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **78** (2020) 103394, doi: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103394>.
8. L. H. Heckmann, A. Callaghan, H. L. Hooper, R. Connon, T. H. Hutchinson, S. J. Maund, R. M. Sibly, Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics, *Toxicol. Lett.* **172** (2007) 137–145, doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.06.001>.
9. B. Rangasamy, D. Hemalatha, C. Shobana, B. Nataraj, M. Ramesh, Developmental toxicity and biological responses of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to anti-inflammatory drug ketoprofen, *Chemosphere* **213** (2018) 423–433, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.013>.
10. A. Bownik, M. Jasieczek, E. Kosztowny, Ketoprofen affects swimming behavior and impairs physiological endpoints of *Daphnia magna*, *Sci. Total Environ.* **725** (2020) 138312, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138312>.
11. N. A. Husin, N. M. Hashim, N. Yahaya, M. Miskam, M. Raoov, N. N. M. Zain, Exploring magnetic particle surface embedded with imidazole-based deep eutectic solvent for diclofenac removal from pharmaceutical wastewater samples, *J. Mol. Liq.* **332** (2021) 115809, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115809>.
12. URL: <https://enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=36490> (17. 4. 2022.).
13. Z. Li, P. Yang, Review on Physicochemical, Chemical, and Biological Processes for Pharmaceutical Wastewater, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **113** (2018) 012185, doi: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/113/1/012185>.
14. URL: <https://ec.europa.eu/transparency/regdoc/rep/1/2019/HR/COM-2019-128-F1-HR-MAIN-PART-1.PDF> (17. 4. 2022.).
15. P. Izadi, P. Izadi, R. Salem, S. A. Papry, S. Magdoui, R. Pulicharla, S. Kaur Brar, Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the environment: Where were we and how far we have come?, *Environ. Pollut.* **267** (2020) 115370, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115370>.
16. S. Bindu, S. Mazumder, U. Bandyopadhyay, Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: a current perspective, *Biochem. Pharmacol.* **180** (2020) 114147, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>.
17. K. Świacka, A. Michnowska, J. Maculewicz, M. Caban, K. Smolarz, Toxic effects of NSAIDs in non-target species: a review from the perspective of the aquatic environment, *Environ. Pollut.* **273** (2020) 115891, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115891>.
18. S. Gupta, P. B. Khandale, M. Chakraborty, Application of emulsion liquid membrane for the extraction of diclofenac and relationship with the stability of water-in-oil emulsions, *J. Dispers. Sci. Technol.* **41** (2020) 393–401, doi: <https://doi.org/10.1080/01932691.2019.1579655>.
19. B. Kraigher, I. Mandic-Mulec, Influence of Diclofenac on Activated Sludge Bacterial Communities in Fed-Batch Reactors, *Food Technol. Biotechnol.* **58** (2020) 402–410, doi: <https://doi.org/10.17113/ftb.58.04.20.6424>.
20. M. Kovačić, D. Juretić Perišić, M. Biošić, H. Kušić, S. Babić, A. Lončarić Božić, UV photolysis of diclofenac in water; kinetics, degradation pathway and environmental aspects, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23** (2016) 14908–14917, doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6580-x>.
21. S. Motov, A. Masoudi, J. Drapkin, C. Sotomayor, S. Kim, M. Butt, J. Marshall, Comparison of oral ibuprofen at three single-dose regimens for treating acute pain in the emergency department: A randomized controlled trial, *Ann. Emerg. Med.* **74** (2019) 530–537, doi: <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2019.05.037>.
22. G. Manku, P. Papadopoulos, A. Boisvert, M. Culty, Cyclooxygenase 2 (COX₂) expression and prostaglandin synthesis in neonatal rat testicular germ cells: Effects of acetaminophen and ibuprofen, *Andrology* **8** (2020) 691–705, doi: <https://doi.org/10.1111/andr.12727>.
23. S. Khalaf, J. H. Shoqeir, F. Felario, L. Scrano, S. A. Bufo, R. Karaman, TiO₂ and active coated glass photodegradation of ibuprofen, *Catalysts* **10** (2020) 560, doi: <https://doi.org/10.3390/catal10050560>.

24. A.-B. Muniz-Gonzalez, Ibuprofen as an emerging pollutant on non-target aquatic invertebrates: effects on *Chironomus riparius*, Environ. Toxicol. Pharmacol. **81** (2020) 103537, doi: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103537>.
25. M. Tanveer, G. T. Guyer, G. Abbas, Photocatalytic degradation of ibuprofen in water using TiO₂ and ZnO under artificial UV and solar irradiation, Water Environ. Res. **91** (2019) 822–829, doi: <https://doi.org/10.1002/wer.1104>.
26. E. Brillas, A critical review on ibuprofen removal from synthetic waters, natural waters, and real wastewaters by advanced oxidation processes, Chemosphere **286** (2022) 131849, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131849>.
27. S. N. Oba, J. O. Ighalo, C. O. Aniagor, C. A. Igwegbe, Removal of ibuprofen from aqueous media by adsorption: A comprehensive review, Sci. Total Environ. **780** (2021) 146608, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146608>.
28. A. Torrinha, M. Martins, M. Tavares, C. Delerue-Matos, S. Morais, Carbon paper as a promising sensing material: Characterization and electroanalysis of ketoprofen in wastewater and fish, Talanta **226** (2021) 122111, doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122111>.
29. E. M. Alapi, J. Fischer, Table of Selected Analogue Classes, u J. Fischer and C. R. Ganellin, Analogue-based Drug Discovery, Wiley-VCH, Weinheim, 2006., str. 520.
30. F. Cuklev, J. Fick, M. Cvijovic, E. Kristiansson, L. Forlin, D. G. Joakim Larsson, Does ketoprofen or diclofenac pose the lowest risk to fish?, J. Hazard. Mater. **229–230** (2012) 100–106, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.077>.
31. D. Sid, M. Baitiche, R. Bourzami, R. Merir, F. Djerboua, A. Gil, M. Boutahala, Experimental and theoretical studies of the interaction of ketoprofen in halloysite nanotubes, Colloids Surf. A Physicochem. Eng. **627** (2021) 127136, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127136>.
32. URL: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-recommends-avoiding-use-nsaids-pregnancy-20-weeks-or-later-because-they-can-result-low-amniotic> (12. 4. 2022.).
33. D. Smiljanić, B. de Gennaro, F. Izzo, A. Langella, A. Daković, C. Germinario, G. E. Rottinghaus, M. Spasojević, M. Mercurio, Removal of emerging contaminants from water by zeolite-rich composites: A first approach aiming at diclofenac and ketoprofen, Micropor. Mesopor. Mater. **298** (2020) 110057, doi: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110057>.
34. B. Saenz-Roblero, J. Esteban Duran, M. Masis-Mora, D. Ramirez-Morales, C. E. Rodriguez-Rodriguez, Removal of cimetidine, ketoprofen and naproxen by heterogeneous catalytic ozonation over volcanic sand at low pH, J. Water Process. Eng. **37** (2020) 101461, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101461>.
35. E. Illes, E. Takacs, A. Dombi, K. Gajda-Schrantz, K. Gonter, L. Wojnarovits, Radiation induced degradation of ketoprofen in dilute aqueous solution, Radiat. Phys. Chem. **81** (2012) 1479–1483, doi: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.11.038>.
36. URL: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_10_96_1879.html (22. 4. 2022.).
37. URL: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=61610> (22. 4. 2022.).
38. URL: <https://docplayer.net/91446360-Ekotoksikologija-skripta-za-studente-doc-dr-sc-lucija-foglar.html> (22. 4. 2022.).
39. D. Kučić Grgić, Primjena ekotoksikologije, Materijali za predavanja, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2022.
40. J. Papac, K. Perović, M. Halužan, Određivanje ekotoksičnosti farmaceutika u vodi, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017., str. 19–21.
41. Y. Liu, L. Wang, B. Pan, C. Wang, S. Bao, X. Nie, Toxic effects of diclofenac on life history parameters and the expression of detoxification-related genes in *Daphnia magna*, Aquat. Toxicol. **183** (2017) 104–113, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.020>.
42. V. Stancova, L. Plhalova, J. Blahova, D. Zivna, M. Bartoskova, Z. Siroka, P. Marsalek, Z. Svobodova, Effects of the pharmaceutical contaminants ibuprofen, diclofenac, and carbamazepine alone, and in combination, on oxidative stress parameters in early life stages of tench (*Tinca tinca*), Vet. Med. **62** (2017) 90–97, doi: <https://doi.org/10.17221/125/2016-VETMED>.
43. Y. Hayashi, L.-H. Heckmann, A. Callaghan, R. M. Sibly, Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen, Ecotoxicology **17** (2008) 246–251, doi: <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0191-3>.
44. T. Ding, M. Yang, J. Zhang, B. Yang, K. Lin, J. Lim, J. Gan, Toxicity, degradation and metabolic fate of ibuprofen on freshwater diatom *Navicula* sp., J. Hazard. Mater. **330** (2017) 127–134, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.02.004>.

SUMMARY

Ecotoxicity of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs on Aquatic Organisms

Danijela Bičanić, Antonela Čugalj, Marko Jajčević, Antonija Lazinica, Martina Miloloža, and Dajana Kučić Grgić*

In today's modern world, it is difficult to imagine life without the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Namely, due to easy availability, we witness their increasing presence in all components of the environment, where they most often end up due to improper disposal or *via* wastewater. Therefore, it is important to note that non-steroidal anti-inflammatory drugs can often be found as part of wastewater originating from pharmaceutical industries and hospitals, as well as municipal wastewater. In the last few decades, scientists have become aware that these drugs represent a great danger because, in addition to polluting all components of the environment, they also cause negative consequences for organisms present in the environment, thus, more time is being devoted to conducting ecotoxicity tests. Ecotoxicity tests are the best solution for monitoring the negative effects of individual substances and/or their mixtures on the organisms, whereby a negative effect for humans can be predicted as well.

This paper provides an overview of previous research related to non-steroidal anti-inflammatory drugs and their role in the food chain. An overview of several types of drugs such as ibuprofen, diclofenac, and ketoprofen is given, as well as their effect on certain organisms such as *Daphnia magna*, *Danio rerio*, *Tinca tinca*, and *Navicula* sp.

Keywords

Non-steroidal anti-inflammatory drugs, ibuprofen, diclofenac, ketoprofen, ecotoxicity tests

University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology, Trg Marka Marulića 19, 10 000 Zagreb, Croatia

Review

Received July 25, 2022

Accepted September 24, 2022