Uklanjanje farmaceutika RO/NF membranama iz voda u kiselim uvjetima

Vertuš, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:948118

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Kristina Vertuš

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Kristina Vertuš

UKLANJANJE FARMACEUTIKA RO/NF MEMBRANAMA IZ VODA U KISELIM UVJETIMA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Davor Dolar

Članovi ispitnog povjerenstva:
Doc. dr. sc. Davor Dolar
Prof. dr. sc. Krešimir Košutić
Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, rujan 2015.

SAŽETAK

Sažetak

Prisutnost lijekova u okolišu svakodnevno raste zbog sve veće primjene u zdravstvu i veterini. Ovaj rad ispitivao je učinkovitost i mehanizam uklanjanja odabranih veterinarskih farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon, prokain · HCl i albendazol) iz voda u kiselim uvjetima RO/NF membranama (XLE, NF, NF270). Učinkovitost uklanjanja farmaceutika iz voda u kiselim uvjetima ovisilo je o veličini pora membrane i veličini farmaceutika, o interakcijama između farmaceutika i membrane, te fizikalno-kemijskim karakteristikama farmaceutika. Pokazano je da je mehanizam isključenja prema veličini dominantan mehanizam. Rezultatima FTIR analize utvrđeno je postojanje interakcija između membrane i farmaceutika, čak i hidrofilnih farmaceutika i membranama, posebno kod membrana većih pora i većeg protoka.

Ključne riječi: reverzna osmoza, nanofiltracija, farmaceutici, uklanjanje

REMOVAL OF PHARMACEUTICALS WITH RO/NF MEMBRANES FROM WATER IN ACIDIC CONDITIONS

Summary

The presence of drugs in the environment is increasing daily due to the increasing applications in medicine and veterinary. This paper examines the retention and removal mechanism of selected veterinary pharmaceuticals (sulfaguanidine, trimethoprim, hydrocortisone, procaine · HCl and albendazole) from water in the acidic conditions of RO/NF membrane (XLE, NF, NF270). The effectiveness of removing pharmaceuticals from water in acidic conditions depended on the size of membrane pores and the size of pharmaceuticals, the interaction between pharmaceuticals and membranes, and physico-chemical characteristics of pharmaceuticals. Dominant rejection mechanism of the examined pharmaceuticals was the size exclusion. Results of FTIR analysis point to the existence of interaction between the membrane and pharmaceuticals, even hydrophilic pharmaceuticals and membranes, especially with the membrane with bigger pores and higher flux.

Key words: reverse osmosis, nanofiltration, pharmaceutical, retention

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. OPĆI DIO 2
   2.1. Farmaceutici 2
   2.2. Membranski separacijski procesi 4
      2.2.1. Nanofiltracija i reverzna osmoza 5
   2.3. Membrane 6
      2.3.1. Mehanizam separacije membrana 7
      2.3.2. Karakterizacija membrana 8
         2.3.2.1. Radni parametri 8
         2.3.2.2. Morfološki parametri 8
         2.3.2.3. Naboj 9
   2.4. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama 9
3. EKSPERIMENTALNI DIO 11
   3.1. Materijali 11
      3.1.1. Membrane 11
      3.1.2. Farmaceutici 11
   3.2. Uređaji za mjerenje 13
      3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj 13
      3.2.2. Ostali uređaj za mjerenje 14
         3.2.2.1. Infracrveni spektofotometar s Fourierovom transformacijom signala 14
         3.2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti 14
   3.3. Postupak i uvjeti rada na laboratorijskom RO/NF uređaju 15
      3.3.1. Predobrada 15
      3.3.2. Ispitivanje zadržavanja modelnih otopina farmaceutika 16
4. REZULTATI I RASPRAVA 17
   4.1. Karakterizacija membrana 17
   4.2. Zadržavanje odabranih farmaceutika 18
      4.2.1. Uklanjanje sulfagvanidina RO/NF membranama 20
      4.2.2. Uklanjanje trimetoprima RO/NF membranama 23
      4.2.3. Uklanjanje hidrokortizona RO/NF membranama 26
      4.2.4. Uklanjanje prokain·HCl RO/NF membranama 27
      4.2.5. Uklanjanje albendazola RO/NF membranama 30
5. ZAKLJUČAK 33
6. POPIS SIMBOLA 34
7. LITERATURA 36
8. ŽIVOTOPIS 38

1. UVOD

Lijekovi su danas više nego ikad prisutni u životu svakog čovjeka u smislu poboljšanja kvalitete života – čovjekova zdravlja te zdravlja životinja, a koriste se bilo za prehrambene, osobne ili druge svrhe. Značajan problem predstavljaju veterinarski farmaceutici jer ulaze u okoliš zbog nekontrolirane uporabe na farmama, ali i nemogućnosti da se uklone iz otpadnih voda klasičnim sustavima za obradu otpadnih voda. Tek zadnjih nekoliko desetljeća počeo se istraživati utjecaj lijekova na okoliš i njihova prisutnost koja se mjeri u vrlo malim koncentracijama od nekoliko µg/L do nekoliko ng/L [1, 2]. Tako niske koncentracije u okolišu imaju utjecaj na mikroorganizme, životinje, ali i čovjeka, a detektirati ih se može samo vrlo osjetljivim analitičkim metodama koje zahtijevaju stalno unaprjeđenje. Glavni izvori lijekova u okolišu jesu obrađene i neobrađene otpadne vode. Reverzna osmoza (RO) i nanofiltracija (NF) pokazale su se kao veoma učinkovite metode za uklanjanje farmaceutika iz voda.

Prvi cilj rada bio je ispitati učinkovitost uklanjanja farmaceutika iz voda u kiselim uvjetima tijekom 5 sati rada. U ovom radu ispitivana je učinkovitost uklanjanja jedne reverzno osmotske (RO) membrane (XLE) i dvije nanofiltracijske (NF) membrane (NF i NF270) za pet farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon, prokain·HCl i albendazol). Učinkovitost uklanjanja, te karakterizacija membrana u usporedbi s fizikalno-kemijskim karakteristikama farmaceutika upotrijebljeni su za detaljnije utvrđivanje mehanizma zadržavanja farmaceutika iz voda pri pH-vrijednosti 4.

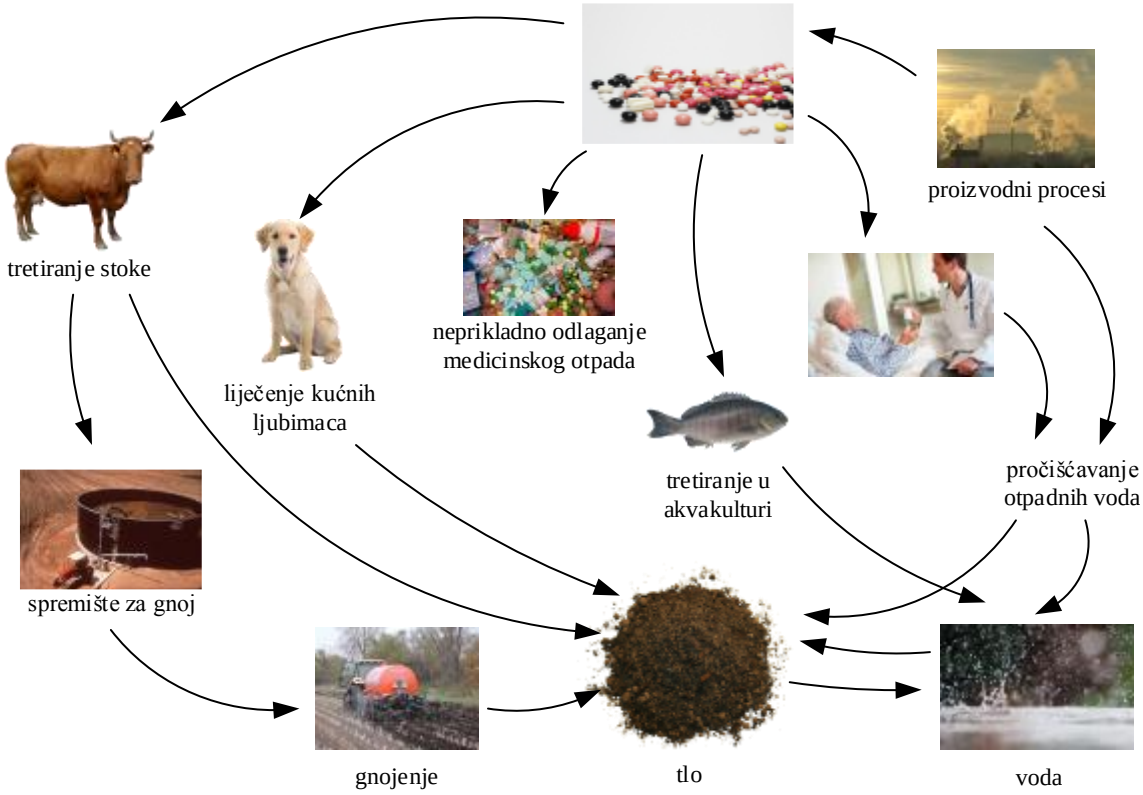
2. OPĆI DIO

2.1. Farmaceutici

Biološki teško razgradivi organski spojevi podrazumijevaju uglavnom sintetske organske tvari čija fizikalno-kemijska svojstva predstavljaju potencijalnu opasnost za okoliš i ljudsko zdravlje. Istraživanja o njihovoj štetnosti započela su tek nedavno, ali još uvijek nije strogo regulirana njihova dopuštena koncentracija u okolišu. Danas se oni u literaturi često nalaze pod pojmom „mikroonečišćivala“. Navedeni spojevi mogu se podijeliti u nekoliko skupina [1]:

- lijekovi za ljudsku i veterinarsku upotrebu,
- sredstva za osobnu higijenu,
- površinski aktivne tvari i produkti njihove razgradnje,
- plastifikatori,
- industrijski aditivi,
- boje i
- novi pesticidi.

Najveću grupu tih spojeva čine lijekovi koji danas igraju veliku ulogu u čovječanstvu te je njihova upotreba za liječenje ljudi i životinja svakodnevno u porastu. Uočeno je da lijekovi u okolišu, u koncentracijama manjim od granične toksičnosti za ljude, mogu imati i neželjene učinke na životinje i mikroorganizme. Potencijalne nuspojave upotrebe lijekova na zdravlje ljudi i životinja se temeljito istražuju, no potencijalni utjecaj na okoliš prilikom proizvodnje i upotrebe lijekova su tek nedavno postali tema istraživačkog interesa. Danas se proizvodi i koristi širok raspon lijekova, od kontracepcijskih sredstava, preko antibiotika do analgetika te drugih lijekova [2]. Sve se više koriste lijekovi i u veterinarstvu, akvakulturi i poljoprivredi, kao što su antibiotici, hormoni, antistetici, antifugalna sredstva i antiparaziticidi. Lijekovi u okoliš mogu dospjeti različitim putevima, kako je prikazano na slici 2.1. [2].



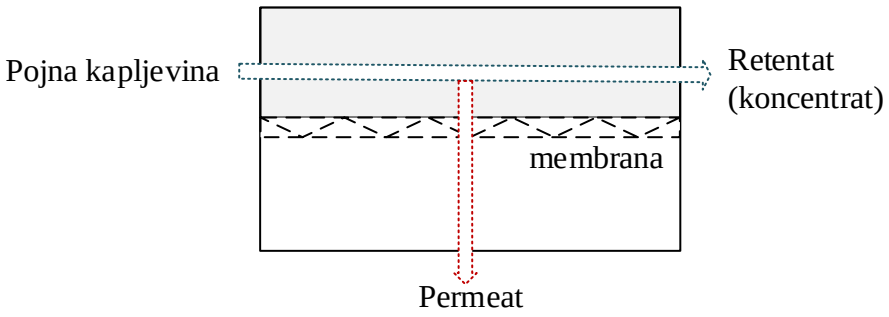
Slika 2.1. Shematski prikaz ulaza lijekova u okoliš.

Lijekovi koje koriste ljudi kroz izlučevine dolaze do kanalizacije, koja se prije ispuštanja u prirodni prijemnik (najčešće površinske vode) obrađuje u postrojenju za pročišćavanje otpadnih voda. Za razliku od navedenih, veterinarski lijekovi koji se primjenjuju često nakon ili prilikom primjene dolaze u površinske i podzemne vode te tlo. Kao primjer možemo navesti liječenje riba u akvakulturi izravnim ispuštanjem antibiotika u površinske vode, te tretiranje antibioticima stoke prilikom čega neizravno preko primjene gnojiva ti lijekovi ulaze u okoliš. Podaci o upotrebi veterinarskih lijekova su relativno oskudni pa je teško napraviti procjenu utjecaja na okoliš i predložiti mjere zaštite okoliša. Prema istraživanju provedenom u Njemačkoj procijenjeno je da je upotreba veterinarskih antibiotika u Europskoj Uniji u 2004. godini porasla za 18% s obzirom na 1999. godinu [3]. Antibiotici zbog svoje biološke aktivnosti predstavljaju specifičnu klasu novih onečišćivala. Njihova stalna prisutnost u vodi uzrokuje otpornost mikroorganizama, ali može uzrokovati i probleme u radu bioloških uređaja za pročišćavanje. Zbog nepovoljnog utjecaja na zdravlje ljudi i okoliš, potrebno je obraditi i ukloniti takve biološki teško razgradive spojeve. Konvencionalni postupci obrade voda (poput koagulacije, flokulacije, taloženje, filtracije, ionske izmjene i adsorpcije) nisu dovoljno učinkoviti za uklanjanje novih onečišćivala pa se u tu svrhu koriste napredni postupci kao što su adsorpcija na aktivnom ugljiku, oksidacijski i membranski procesi. Od navedenih,

membranski separacijski procesi pokazuju dobre rezultate. Osim uklanjanja takvih supstanci, javlja se i problem detektiranja niskih koncentracija zbog čega se moraju razviti osjetljivije analitičke mjerne tehnike [1].

2.2. Membranski separacijski procesi

Svaki membranski separacijski proces karakterizira upotreba membrane koja ulaznu struju (pojnu kapljevinu, eng. *feed*) dijeli u dvije struje: permeat i retentat kao što je prikazano na slici 2.2. [1]. Permeat je dio ulazne struje oslobođene od tvari prisutnih u otopini, najčešće skoro čista voda, dok je retentat dio ulazne struje u kojoj su komponente ulazne otopine zadržane i tako višestruko koncentrirane.



Slika 2.2. Shematski prikaz membranskog separacijskog procesa.

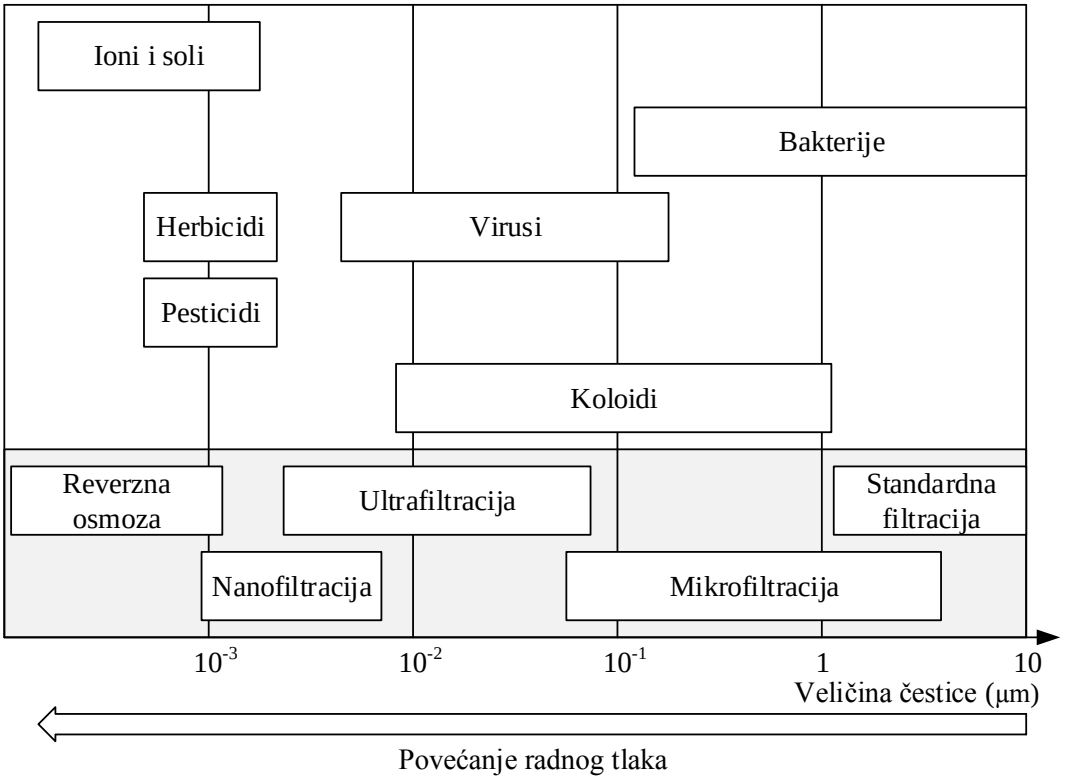
Membrana je osnovni element svake membranske operacije. Za primjenu membrana u obradi otpadnih voda najprihvaćenija je Soltova definicija koja glasi da je membrana: „*Materijal koji ima sposobnost prenijeti jednu komponentu pojne kapljevine mnogo lakše nego ostale komponente što predstavlja temelj separacije pomoću membrana*“ [4]. Ona se odnosi na permselektivne membrane i podrazumijeva da postoji razlika kemijskog potencijala s obje strane membrane.

Dizajn membranskih separacijskih procesa omogućuje fizikalnu ili fizikalno-kemijsku separaciju odabranih komponenata [4] iniciranu odgovarajućom pokretačkom silom. Pokretačka sila može biti: [1, 4]

- razlika koncentracija (Δc),
- razlika tlakova (Δp),
- razlika temperature (ΔT) i
- razlika električnog potencijala (ΔE).

Najveću praktičnu primjenu imaju tlačni membranski procesi kod kojih je pokretačka sila razlika tlakova. To su mikrofiltracija (MF), ultrafiltracija (UF), NF i RO koji se prvenstveno razlikuju u membranama, tj. u veličini pora. Što je veličina pora membrane manja (od UF prema RO), potrebno je primijeniti veći tlak da bi došlo do uspješnog razdvajanja komponenti u nekom sustavu budući da je hidrodinamički otpor sve veći.

Postoji više vrsta membranskih separacijskih procesa temeljenih na različitim separacijskim mehanizmima kojima se mogu riješiti specifični problemi uklanjanja tvari veličine od čestica do molekula. Za bolji uvid u vrste tvari koje se mogu odvojiti različitim membranskim procesima obzirom na veličinu pora membrane može poslužiti slika 2.3. [4, 5] na kojoj su navedeni membranski procesi koji uklanjanju pojedine veličine čestica.



Slika 2.3. Membranski procesi kojima se uklanjanju tvari određene veličine.

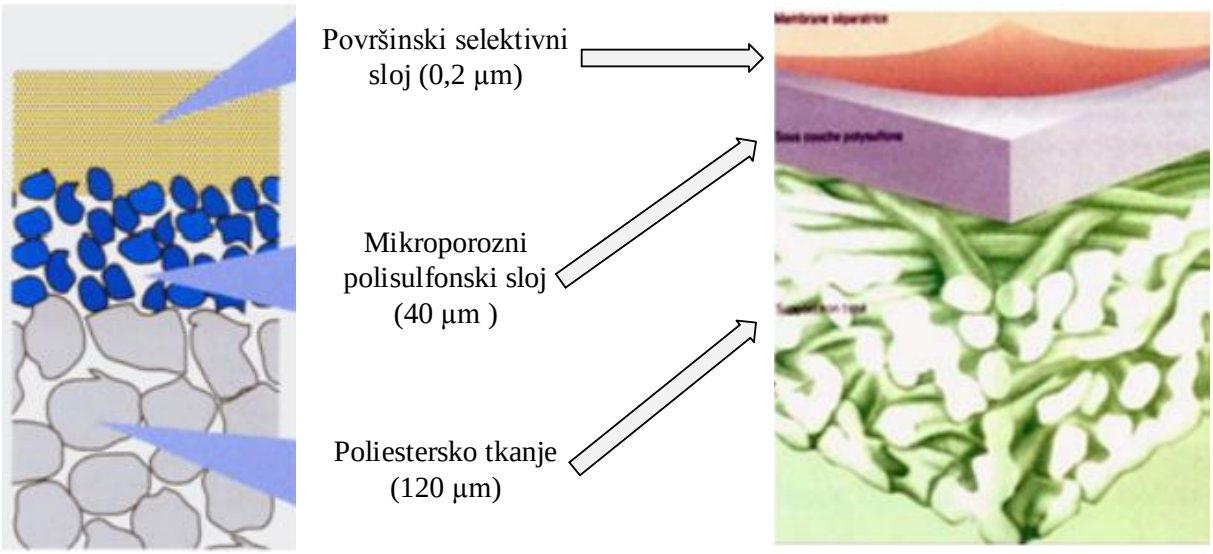
2.2.1. Nanofiltracija i reverzna osmoza

Pokretačka sila kod NF i RO jest razlika tlaka. Princip separacije u oba procesa je praktički jednak. Postiže se primjenom tlaka većeg od osmotskog tlaka ($\Delta\pi$) na otopinu koja se tretira. Osmotski tlak je prirodna težnja za izjednačavanjem kemijskog potencijala s jedne i druge strane membrane, voda tada migrira iz razrijeđenije u koncentriraniju otopinu kako bi

došlo do izjednačavanja kemijskog potencijala. Primjenom većeg tlaka od osmotskog na otopinu ($\Delta P > \Delta\pi$) voda mijenja prirodni tok i teče iz koncentriranije u razrijeđenu otopinu kroz polupropusnu membranu. Prosječne vrijednosti radnih tlakova za NF procese iznose najviše 20 bar, a za RO proces iznosi od 10 - 80 bar. NF i RO procesi se razlikuju i u vrsti membrane. RO membrane su asimetrične ili kompozitne membrane pripravljene uglavnom od celuloznih derivata, aromatskih poliamida i poliestera. NF membrane su kompozitne poliamidne membrane, no imaju otvoreniju strukturu.

2.3. Membrane

Način pripreme membrana (stupanj polimerizacije) i vrsta polimera određuje njihovu fizikalnu strukturu, tj. *morfologiju*. Ovisno da li je poroznost jednaka ili različita po cijelom presjeku govori se o izotropnim, tj. anizotropnim membranama. Za tlačne membranske procese se uglavnom upotrebljavaju anizotropne membrane koje mogu biti asimetrične (od jedne vrste polimera) i kompozitne (sastavljene od više vrsta polimera). Trenutno u NF i RO separacijskim porocesima dominira upotreba tankoslojnih kompozitnih membrana (TFC - engl. *thin film composite*) [6]. Na slici 2.4. dan je shematski prikaz TFC membrane.



Slika 2.4. Presjek tankoslojne kompozitne membrane (TFC).

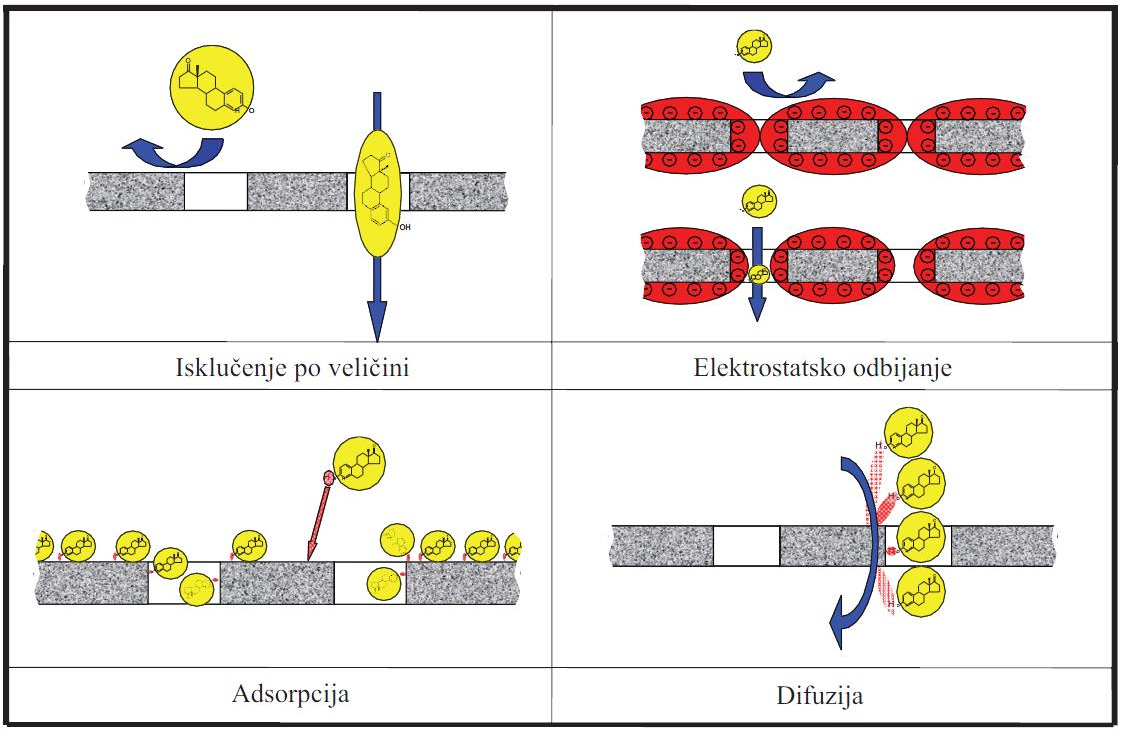
Tankoslojnu kompozitnu membranu čine tri sloja: [1]

- tanki površinski aktivni poliamidni sloj, debljine < 0,2 μm, koji određuje zadržavanje komponenata i o kojem ovise glavna svojstva kompozitne membrane,
- mikroporozna polisulfonska podloga debljine ≈ 40 μm, koja je porozna, neselektivna i podnosi visoke tlakove i
- poliestersko tkanje debljine ≈ 120 μm koje membrani daje mehaničku čvrstoću.

2.3.1. Mehanizam separacije membrana

Mehanizam zadržavanja ili *separacije* ovisi o svojstvima komponente koju treba ukloniti, o svojstvima aktivnog površinskog sloja membrane, o prirodi otopine i radnim parametrima. Govorimo o tri osnovna mehanizma separacije pomoću membrana (slika 2.5.): [1, 7]

- isključenje veličinom (separacija temeljena na razlici u veličini čestica i veličini pora membrane),
- isključenje nabojem (separacija temeljena na razlici naboja tvari koju treba zadržati i membrane) i
- mehanizam otapanja/difuzije (separacija temeljena na razlici u interakcijama i difuzivnosti materijala membrane i otopine koja dolazi u kontakt s membranom).



Slika 2.5. Mehanizmi uklanjanja mikroonečišćivala.

2.3.2. Karakterizacija membrana

Poznavanje membranskih karakteristika od velike je važnosti za uspješno provođenje membranskog separacijskog procesa te određivanje mehanizma zadržavanja komponenata otopljenih u vodi. Vrlo je bitno okarakterizirati membranu, posebno njezin aktivni površinski sloj. Metode karakterizacije možemo podijeliti u tri grupe: radni parametri, morfološki parametri i naboj [1].

2.3.2.1. Radni parametri

Pod radnim parametrima podrazumijevaju se mjerenja zadržavanja i protoka nabijenih i nenabijenih molekula (za vodene i organske otopine), te mjerenje protoka vode jer te otopine daju izravne informacije o karakteristikama membrana u prirodnom okruženju. Mjerenjem se dobivaju parametri veličinske raspodjele pora (VRP krivulja) i granične molekulske mase komponente (MWCO). MWCO se definira kao molekulska masa komponente koju membrana zadržava najmanje 90% [1].

2.3.2.2. Morfološki parametri

Kako bi procijenili ponašanje neke membrane prilikom separacije potrebno je poznavati parametre kao što su hidrofobnost, hrapavost površine i kemijska struktura membrane.

Hidrofobnost/hidrofilnost membranske površine određuje se mjerenjem kontaktnog kuta. Kontaktni kut je mjera koja označava stupanj kvašenja membrane, tj. količinu vode koja će se adsorbirati. To se interpretira kao hidrofobnost membrane. Kada voda pokazuje mali kontaktni kut (niži od 90°) površina membrane je hidrofilna, ona ima sposobnost interakcija disocirajućih grupa na površini membrane s molekulama vode (dipolima). Ako je kut veći od 90° membrana je hidrofobna [1].

Hrapavost površine, tj. karakterizacija površine membrane ili njezinog poprečnog presjeka određuje se vrlo učinkovitim mikroskopskim metodama.

Za detektiranje funkcionalnih skupina u membrani koristi se infracrvena spektofotometrija s Fourierovom transformacijom signala (FTIR). ATR-FTIR spektroskopija ima dubinu penetracije od nekoliko stotina nm do nekoliko μm, ovisno o ulaznoj valnoj duljini. Ta metoda je više površinski osjetljiva u području visokih valnih duljina s dubinom penetracije ≤ 200 nm frekvencije 4000 – 2600 cm^{-1}. Dubina penetracije je veća od 300 nm pri frekvencijama nižim od 2000 cm^{-1}, što znači da je moguće dobiti kemijske informacije površinski selektivnog sloja i polisulfonske podloge [1].

2.3.2.3. Naboj

Elektrokinetička mjerenja koriste se za određivanje naboja membrane pri čemu se određuje zeta potencijal površine metodom potencijala strujanja. U kontaktu s otopinom elektrolita na površini membrane dolazi do disocijacije funkcionalnih skupina prisutnih u selektivnom površinskom sloju membrane pri čemu ona postaje nabijena.

2.4. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama

Bellona i sur. [8] dali su pregled radova iz kojih su došli do zaključka da se uklanjanje tragova organskih komponenata RO/NF membranama bazira na isključenju veličinom, ali i na elektrostatskim interakcijama ako se radi o nabijenim molekulama. Osim navedenog, ključni parametri su i morfologija membrane te sastav i fizikalno-kemijska svojstva ulazne struje. Izradili su dijagram prema kojem se iz fizikalno-kemijskih svojstava mikroonečišćivala i membrana može doći do pretpostavke o uklanjanju određene tvari.

Radijenović i sur. [9] ispitivali su uklanjanje različitih farmaceutika RO/NF membranama u vodama iz membranskog postrojenja za obradu pitkih voda. Uočeno je da je za separaciju nenabijenih komponenata iz vodenih sustava odgovoran mehanizam separacije po veličini, te zadržavanje za te farmaceutike iznosi >85%. Separacija nabijenih komponenata ovisi o elektrostatskim odbijanjima negativno nabijenih RO/NF membrana (BW30 i NF90) i negativno nabijenih farmaceutika i razlikuje se ovisno o farmaceuticima (30 - 95%).

Košutić i sur. [10] ispitivali su uklanjanje veterinarskih antibiotika RO/NF membranama iz modelne otpadne vode. Ispitivane membrane bile su RO (XLE, TFC-S i HR95) i NF (NF90), a antibiotici sulfagvanidin, sulfadiazin, sulfametazin, trimetoprim, prazikvantel, enrofloksacin i oksitetraciklin. Za sve RO i gustu NF membranu dobiven je relativno visok postotak zadržavanja (> 98%). NF membrana rahlije strukture lošije je zadržavala manje molekule antibiotika (> 65%). Zaključili su da je glavni mehanizam separacije isključenje po veličini, no utjecaj fizikalno-kemijskih svojstava na proces (poput hidrofobnosti/hidrofilnosti i naboja) nije uočen.

Nghiem i sur. [11] ispitivali su mehanizme zadržavanja organskih komponenata koje oponašaju hormone (nonilfenol, tertbutilfenol i bisfenol A) nanofiltracijskim membranama različitih veličina pora (NF90 i NF270). Učinkovitost uklanjanja ispitivana je promjenom parametara kao što je pH vrijednost, ionska jakost otopine i prisutnost prirodne organske tvari. Zaključili su da pH vrijednost, za razliku od ionske jakosti otopine, utječe na zadržavanje onečišćivala kod uklanjanja s rahlom NF membranom. No, ionska jakost otopine ima utjecaj

na uklanjanje ako je prisutna organska tvar pri čemu dolazi do interakcija između otopljenih tvari te između membrane i otopine što rezultira boljim zadržavanjem onečišćivala.

U sljedećem radu Nghiem i sur. [12] ispitivali su utjecaj elektrostatskih interakcija na zadržavanje farmaceutika rahlom TFC-SR2 nanofiltracijskom membranom. Ispitivana membrana je relativno hidrofilna, ima negativni naboj i relativno otvorene pore s prosječnim radijusom pora 0,64 nm. Promjena pH vrijednosti i ionske jakosti otopine utječe na zadržavanje ioniziranih farmaceutika sulfametoksazola i ibuprofena, dok na neionizirani farmaceutik karbamazepin ono ne utječe. Porastom pH vrijednosti iznad pK_a ionizirajući farmaceutici postaju negativno nabijene čestice. Suprotno tome, ionska jakost otopine potiskuje dvosloj ili Debye-evu duljinu i zbog toga smanjuje efektivnost elektrostatskih interakcija kao glavnog mehanizma zadržavanja s rahlom NF membranom. Međutim, takvo smanjenje je relativno malo i zadržavanje negativno nabijenih farmaceutika sulfametoksazola i ibuprofena s rahlom NF membranom ostaje dosta visoko (50 - 85%).

Dolar i sur. [13] pratili su učinkovitost uklanjanja veterinarskih antibiotika (sulfametoksazol, trimetoprim, ciprofloksacin, deksametazon i febantel) i njihove mješavine RO/NF membranama. RO membrane (LFC-1 i XLE) te gusta NF90 membrana pokazale su odlično uklanjanje (> 95%) za sve ispitivane antibiotike. Nanofiltracijske membrane NF270, NF i HL pokazale su nešto lošije uklanjanje za binarne otopine, no nešto bolje uklanjanje pokazano je za smjesu antibiotika što je rezultat sinergističkog efekta. U slučaju separacije RO membranama i gustom NF membranom glavni mehanizam separacije je bio isključenje po veličini, dok je rahlijim NF membranama mehanizam separacije bio kombinacija isključenja nabojem i fizikalno-kemijskih interakcija.

Provedenim istraživanjima tijekom godina je uočeno da na uklanjanje farmaceutika i mikroonečišćivala utječe mehanizam separacije po veličini, ali i fizikalno-kemijska svojstva komponenata i membrana te interakcije između membrana i mikroonečišćivala.

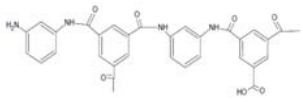
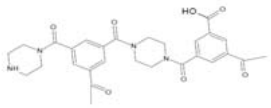
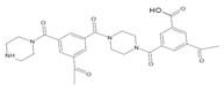
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Membrane

Prilikom provedbe eksperimenta korištene su tri komercijalno dostupne poliamidne RO/NF membrane dobavljene od proizvođača Dow-Filmtec (SAD). Ispitivane NF i NF270 su membrane na bazi polipiperazinskog amida, a RO membrana je na bazi poliamida. Karakteristike membrana definirane su od strane proizvođača i prikazane u tablici 3.1. MWCO za RO XLE membranu iznosi 100 Da, a za NF i NF270 membrane 150 - 300 Da.

Tablica 3.1. Nazivna svojstva ispitivanih komercijalnih membrana.

Svojstvo	**XLE**	**NF**	**NF270**
Kemijska struktura poliamidnog sloja			
Radni tlak, p (bar)	8,6	8,9	4,8
Maksimalni radni tlak, p (bar)	41,0	41,0	41,0
Maksimalna radna temperatura, T (°C)	45,0	45,0	45,0
Dozvoljena pH vrijednost (/)	2-11	3-10	2-11
Faktor zadržavanja, R_f (/)	0,99 [a]	>0,98 [b]	>0,97 [b]
Protok permeata, J (L/(m^2 h))	53,9	63,04	51,3

[a]- c(NaCl)=2000 mg/L, p=8,6 bar; T=25°C; [b]-.c($MgSO_4$)=2000 mg/L, p=4,8 bar, T=25 °C

3.1.2. Farmaceutici

Farmaceutici ispitivani u ovom radu su veterinarski farmaceutici dobiveni od Veterine (Kalinovica, Hrvatska). Generalno je prihvaćeno pravilo da su komponente hidrofobne ukoliko je log $K_{O/W}$ > 2,5, a hidrofilne ukoliko je log $K_{O/W}$ < 2,5. U tablici 3.2. prikazana je lista

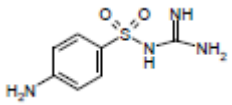
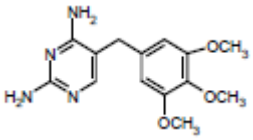
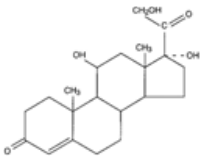
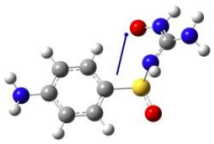
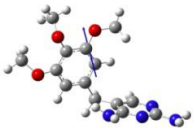
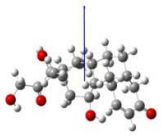
ispitivanih farmaceutika redoslijedom kako su ispitivani. U tablicama 3.3. i 3.4. navedena su fizikalno-kemijska svojstva odabranih farmaceutika.

Tablica 3.2. Lista odabranih farmaceutika.

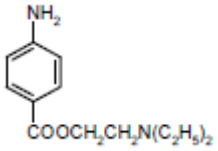
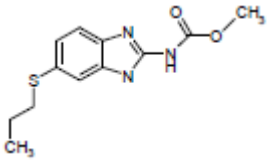
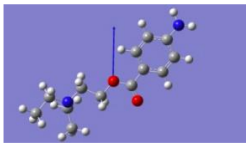
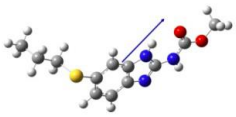
Farmaceutik	IUPAC* ime	Grupa farmaceutika	CAS No.
Sulfagvanidin (eng. *sulfaguanidine*)	4-amino-N-(diaminometilen)benzenesulfonamid	antibiotik (sulfonamidni)	57-67-0
Trimetoprim (eng. *trimethoprim*)	5-(3,4,5-trimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamin	sinergist sulfonamidnih antibiotika	738-70-5
Hidrokortizon (eng. *hydrocortisone*)	(11β)-11,17,21-trihidroksipregn-4-an-3,20-dien	kortikosteroid	50-23-7
Prokain·HCl (eng. *procaine HCl*)	2-(dietilamino)etil 4-aminobenzoat	anestetik	51-05-8
Albendazol (eng. *albendazole*)	metil-N-[6-(propilsulfanil)-1H-1,3-benzodiazol-2-il]karbamat	antihelmintik	54965-21-8

*-eng. *International Union of Pure and Applied Chemistry*

Tablica 3.3. Fizikalno-kemijska svojstva sulfagvanidina, trimetoprima i hidrokortizona.

	Sulfagvanidin	Trimetoprim.	Hidrokortizon
M_w (g/mol)	214,24	290,32	362,47
Strukturna formula			
3D strukturna formula			
Veličina molekule (nm)[a]	X=0,454 Y=0,302 Z=0,970	X=0,804 Y=0,489 Z=1,138	X=0,627 Y=0,456 Z=1,264
log $K_{O/W}$	-1,22	0,91	1,61
log D (pH=7,4)[b]	-0,83	0,67	1,43
pK_a	11,25	7,12	12,58
Dipolni moment, μ (D)[c]	2,68; 4,32	3,40	5,90; 4,14
Naboj molekule (pH=4)	pozitivan	pozitivan	pozitivan

Tablica 3.4. Fizikalno-kemijska svojstva prokaina i albendazola.

	Prokain	**Albendazol**
M_w (g/mol)	272,77	265,33
Strukturna formula		
3D strukturna formula		
Veličina molekule (nm)[a]	X=0,559 Y=0,309 Z=0,969	X=0,482 Y=0,279 Z=1,632
log $K_{O/W}$	2,14	3,07
log D (pH=7,4)[b]	0,53	3,06
pK_a	8,05	6,90
Dipolni moment, μ (D)[c]	4,00	4,33
Naboj molekule (pH=4)	pozitivan	pozitivan

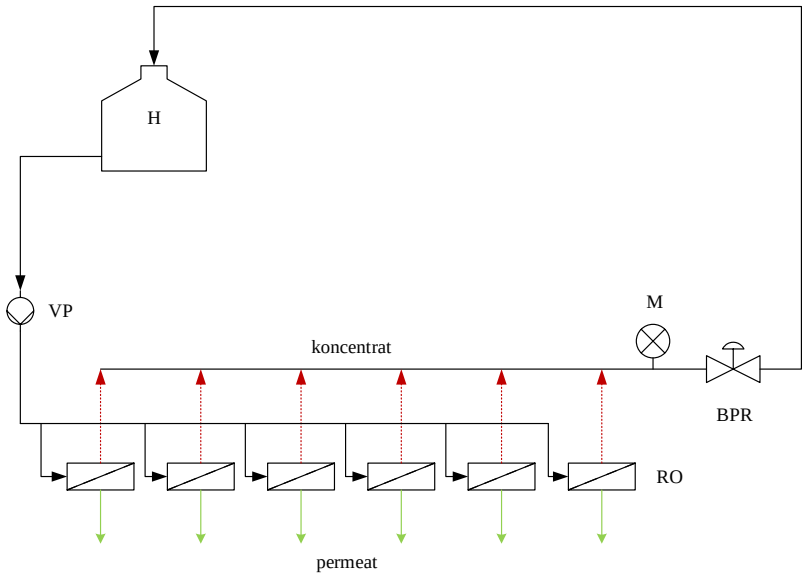
[a] određeno pomoću programa HyperChem 8.0
[b] www. chemspider.com
[c] određeno pomoću Gaussian [14]

Napomena: Rađeno je s prokain·HCl, no podaci za njega nisu tablično prikazani zbog nedostupnosti istih.

3.2. Uređaji za mjerenje

3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj

Prilikom provedbe eksperimenta korišten je laboratorijski membranski uređaj baziran na principu filter preše u kojem je paralelno spojeno šest RO/NF jedinica. Svaka od jedinica sastoji se od okvira nehrđajućeg čelika unutar kojeg su smještene i pričvršćene ravne membrane. U svaku od jedinica kontinuirano se uvodi pojna smjesa modelne otopine farmaceutika koja se iz spremnika potiskuje visokotlačnom pumpom aksijalno preko površine membrane uz stalni prolaz permeata (gotovo čiste vode) kroz membrane. Korišten laboratorijski uređaj prikazan je na slici 3.1.



Slika 3.1. Shema laboratorijskog reverzno osmotskog uređaja.
H-spremnik za pojnu smjesu, **VP**-visokotlačna pumpa, **RO**-RO/NF jedinica,
M-manometar, **BPR**-regulator tlaka (ventil)

U prijašnjem radu [15] ispitana je adsorpcija ispitivanih farmaceutika u laboratorijskom uređaju. Otopina svakog od farmaceutika u MilliQ vodi recirkulirala je kroz uređaj, bez membrane, 4 sata prilikom čega je svakog sata praćena koncentracija pojne kapljevine. Za sve farmaceutike, osim albendazola, koncentracije pojne kapljevine su bile stabilne. Koncentracija albendazola se stabilizirala nakon 2 sata.

3.2.2. Ostali uređaj za mjerenje

3.2.2.1. Infracrveni spektofotometar s Fourierovom transformacijom signala

Za utvrđivanje mogućih interakcija odabranih farmaceutika i membrana snimao se FTIR spektar. Korišten je uređaj *Vertex 70* (*Bruker Corporation*, globalna kompanija) opremljen s MIR (eng. Middle-InfraRed) izvorom svjetla koji emitira zraku svjetlosti u srednjem infracrvenom području od 370 do 7500 cm^{-1}. Kako bi se izbjegle pogreške u mjerenju prije snimanja FTIR spektra uzorka membrane određene površine (≈ 0,5 x 0,5 cm), prije svakog mjerenja snimao se pozadinski spektar, tj. zrak. FTIR spektri snimani su na ν = 400 - 4000 cm^{-1}.

3.2.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Dobiveni uzorci farmaceutika u permeatu i pojnoj smjesi analizirani su tekućinskom kromatografom visoke djelotvornosti *Varian ProStar 500* (*Walnut Creek*, Kalifornija, SAD).

Instrument se sastoji od ProStar 330 UV-Vid detektora s nizom dioda (DAD, eng. *Diode Array Detector*), ProStar 230 tercijarne pumpe, ProStar 410 uređaj za automatsko doziranje uzorka, ProStar 500 termostatiranog držača kolone i odabrane kolone InterSustainTM 250 x 4,6 mm, 5 μm (*GLSciences*, Tokio, Japan). Odabrana kolona predstavlja stacionarnu fazu, a mobilna faza bila je smjesa otapala A (0,01% mravlje kiseline u MilliQ vodi) i otapala B (0,01% mravlje kiseline u acetonitrilu) uz gradijentnu separaciju. Odabrani protok pokretne faze bio je 0,5 mL/min [16].

Svaki uzorak injektiran je dva puta po 30 μL (γ=10 mg/L), a nakon analize kolona se ispirala otopinom acetonitrila (w=65%) pri protoku pokretne faze od 0,5 mL/min. Obzirom na ostale farmaceutike koji su bili injektirani u smjesi otapala, sulfagvanidin je bio injektiran u metanolu u kojem je stabilniji. Valne duljine pri kojima su snimani kromatogrami odabranih farmaceutika su 210 (albendazol i trimetoprim), 254 (hidrokortizon), 285 (sulfagvanidin) i 295 (prokain · HCl) nm.

3.3. Postupak i uvjeti rada na laboratorijskom RO/NF uređaju

Prije početka rada aparatura je isprana s otopinom etanola (w = 50%) i vodom (p = 10 bar) kako bi se uklonila moguća onečišćenja uređaja. Membrane su izrezane na odgovarajuće dimenzije (A = 11,0 cm^2) i smještene u membranske jedinice. Za svaki farmaceutik korištene su nove membrane. Pripremljene su binarne otopine farmaceutika početne koncentracije 10 mg/L otapanjem komponenata u MilliQ vodi. pH otopina podešen je na 4 otopinom HCl (c = 0,1 mol/L) i mjeren pomoću pH metra *Schott CH 842* (Njemačka). Postupak se provodio pri radnom tlaku 10 bar i T = 25 ± 2 ºC. Postupak rada na laboratorijskom RO/NF uređaju možemo podijeliti u dva dijela: predobrada (dekonzerviranje) membrana i testiranje membrana s modelnim otopinama farmaceutika.

3.3.1. Predobrada

(1) Nakon postavljanja membrana u reverzno osmotske jedinice ispirane su s oko 30 L demineralizirane vode radi uklanjanja konzervansa.

(2) Slijedila je tlačna obrada membrana pri 15 bar u trajanju od 3 sata. Svakih 30 minuta uzimali su se uzorci vode za praćenje protoka. Protok se pratio uzimanjem i vaganjem uzorka permeata na analitičkoj vagi *KERN ALS 220-4* (Njemačka).

3.3.2. Ispitivanje zadržavanja modelnih otopina farmaceutika

(1) Nakon stabilizacije membrana na radnom tlaku, umjesto demineralizirane vode kroz uređaj je propuštena otopina farmaceutika pod radnim tlakom 10 bar u trajanju od 5 sati. Svakih sat vremena pratio se protok i uzimali su se uzorci za određivanje zadržavanja analizom na HPLC kromatografskom sustavu.

(2) Po završetku rada, membrane su isprane s oko 30 L demineralizirane vode pod radnim tlakom (10 bar). Izvadile su se iz RO jedinica i sušile u sušioniku na temperaturi od 40 ºC tijekom 15 sati.

(3) Osušeni uzorci membrana koristili su se za daljnju strukturalnu analizu membranske površine pomoću FTIR-a.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu pratilo se uklanjanje odabranih farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon, prokain·HCl i albendazol) RO/NF membranama (XLE, NF, NF270) iz voda u kiselim uvjetima, točnije, utvrđivao se mehanizam separacije. Odabrani farmaceutici imali su relativno sličnu molekulsku masu, no različit log $K_{O/W}$. Mehanizam separacije određivao se usporedbom veličine molekula i veličine pora, te naboja membrana i farmaceutika. Također je primijenjena FTIR analiza radi utvrđivanja interakcija, odnosno adsorpcije između farmaceutika i membrane.

4.1. Karakterizacija membrana

Nakon tlačne obrade i sušenja, membrane su karakterizirane kako bi se dobio uvid u hidrofobnost, hrapavost, naboj, veličinu pora, protok i zadržavanje. U tablici 4.1. dane su fizikalno-kemijske karakteristike novih membrana određene u prijašnjem radu [15]. Prikazani su faktori zadržavanja natrijevog i kalcijevog klorida, protok vode kroz membrane, kontaktni kut, hrapavost i zeta potencijal pri pH = 4. Za RO XLE membranu je puno veće zadržavanje za obje soli u usporedbi s NF i NF270 membranama. Razlog tome je manja veličina pora kod RO nego kod NF membrana. Zadržavanje $CaCl_2$ je nešto slabije nego NaCl za obje NF membrane. Protok je najveći kod NF270 što je vjerojatno zato što ta membrana ima najveće pore [17]. Iz priložene tablice može se zaključiti da su površine XLE i NF membrane hidrofilne (kontaktni kut ispod 90º). Međutim, prema Akin i Temelli [18] NF270 membranu možemo smatrati kao relativno hifrofobnu jer je njen kontaktni kut veći od 60º. Membrana je to hidrofilnija ako njezin površinski aktivni sloj sadrži što više hidrofilnih funkcionalnih skupina, primjerice hidroksilnih (-OH) i amino ($-NH_2$) skupina. Iz parametara hrapavosti površine presjeka hrapavost - R_a (eng. *roughness average*) i kvadrata hrapavosti - R_q (eng. *root mean squared*) vidimo da je površina XLE membrane najhrapavija, dok NF i NF270 membrane imaju glatku površinu. Vrijednost zeta potencijala, ξ (mV) izražava naboj membranske površine. Pri vrijednosti pH = 4 vidimo da su površine svih membrana relativno malo negativno nabijene, pri čemu se negativna nabijenost membrana smanjuje prema nizu: NF, XLE, NF270.

Tablica 4.1. Fizikalno-kemijske karakteristike membrana (u zagradama je prikazano standardno odstupanje mjerenja pojedinih parametara).

	XLE	NF	NF270
R_{NaCl} (%)[a]	95,96 (1,16)	54,89 (37,48)	35,32 (11,42)
R_{CaCl_2} (%)[a]	98,80 (1,76)	47,37 (26,90)	19,97 (5,91)
J_w (L m^{-2} h^{-1})[b]	87,5 (1,3)	78,7 (1,7)	162,7 (2,1)
Kontaktni kut (°)[c]	59,59 (3,22)	53,80 (5,01)	73,16 (5,72)
R_a (nm)[c]	60,23 (2,16)	5,88 (0,70)	9,07 (2,04)
R_q (nm)[d]	78,07 (2,92)	8,74 (1,45)	13,01 (2,92)
Zeta potencijal pH 4 (mV)[f]	-1,427	-2,565	-0,398
N (10^{16} m^{-2})[g]	5,355 (0,693)	1,122 (0,622)	2,800 (1,554)

[a,c,d,e,f, g] određeno u radu Drašinac, 2014. [15] (N= 5[b], 10[d], 3[e], 4[g])
[b] protok demineralizirane vode (eksperimentalno određeno u ovom radu (N=15))

4.2. Zadržavanje odabranih farmaceutika

Tijekom provedbe procesa, u vremenskom periodu od 5 sati, svakih sat vremena uzimani su uzorci permeata i ulazne otopine te su određivani faktori zadržavanja pojedinih farmaceutika. Koeficijent zadržavanja ili retencije (R_f) računao se prema jednadžbi: [1]

$$R_f = \frac{c_f - c_p}{c_f} = 1 - \frac{c_p}{c_f} \quad (1)$$

gdje je c_f koncentracija tvari u pojnoj smjesi a c_p koncentracija tvari u permeatu. Koeficijent zadržavanja je bezdimenzijski parametar pa je njegova vrijednost ≤ 1, tj. 100% i ne ovisi o jedinici kojom je koncentracija tvari u otopini izražena.

Tablica 4.2. prikazuje faktore zadržavanja farmaceutika R_f (%) ispitivanih membrana u vremenu t = 0 h za sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon, prokain · HCl i albendazol. U tablici 4.3. prikazani su pripadajući protoci, J (L/(m^2 h)).

Tablica 4.2. Koeficijent zadržavanja farmaceutika XLE, NF, i NF270 membranama u vremenu t = 0 h.

Farmaceutik	Membrana					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
Sulfagvanidin	97,99	45,49	7,89	10,47	9,74	97,91
Trimetoprim	97,19	97,37	29,33	58,30	75,23	97,77
Hidrokortizon	98,58	95,24	85,55	75,14	92,31	98,14
Prokain	97,19	85,45	25,34	53,40	33,01	95,96
Albendazol	94,80	70,38	58,19	60,36	62,24	92,62

Tablica 4.3. Protok permeata u vremenu *t* = 0 h.

Farmaceutik	Protok permeata za svaku od membrana, J (L/(m^2 h))					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
Sulfagvanidin	81,19	83,57	159,4	179,9	79,56	86,17
Hidrokortizon	80,60	88,08	135,3	160,2	79,37	81,94
Trimetoprim	80,56	79,55	151,9	164,7	69,37	86,60
Prokain	85,96	84,73	152,5	156,4	73,10	90,42
Albendazol	79,66	84,92	176,3	167,0	80,89	83,58

Iz tablice 4.2. može se primijetiti da XLE membrana ima najbolje zadržavanje svih farmaceutika koje iznosi od 92,62 do 98,58%. To je i logično obzirom da je XLE reverzno osmotska membrana i ima najmanju veličinu pora [17]. Za tu membranu najvjerojatniji i naj dominantniji mehanizam vjerojatno je mehanizam separacije isključenja po veličini s obzirom da MWCO za XLE membranu iznosi 100 Da, a sve molekulske mase (M_w) farmaceutika bile su veće od 214 g/mol. Kao što je i očekivano, zbog svoje rahlije i otvorenije strukture NF270 membrane imaju najveći protok permeata (tablica 4.3.), ali i nešto lošije zadržavanje komponenata naspram ostalih membrana. Osim toga, u tablici 4.2. vidimo da je učinkovitost uklanjanja farmaceutika XLE membranama relativno konstantna osim za albendazol gdje je zadržavanje manje i iznosi 94.80% odnosno 92.62%. Rezultati za sulfagvanidin za sve nanofiltracijske membrane, osim NF-1, su uglavnom manji od 10%. Za ostale farmaceutike

može se primijetiti raznoliko uklanjanje ispitivanih farmaceutika. Detaljne analize prikazati će se u daljnjim poglavljima koja će prikazati uklanjanje farmaceutika tijekom svakog sata uzorkovanja.

4.2.1. Uklanjanje sulfagvanidina RO/NF membranama

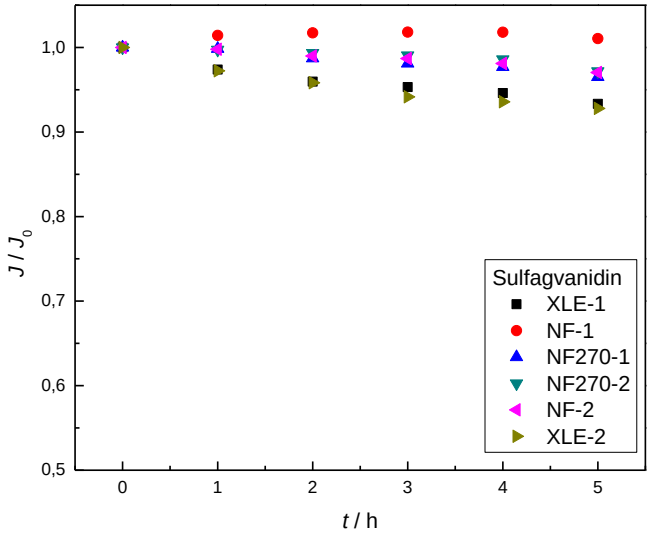
Sulfagvanidin je najhidrofilnija molekula od svih ispitivanih farmaceutika s obzirom da je vrijednost log $K_{O/W}$ najmanja i iznosi -1.22. Prema vrijednosti pK_a (11,25) pri pH = 4 on se najvjerojatnije nalazi u svom protoniranom obliku. Prema molekulskoj masi on je najmanja od ispitivanih molekula (M_w = 214.24 g/mol) iz čega možemo pretpostaviti da ima i najmanje zadržavanje obzirom na ostale ispitivane komponente. U tablici 4.4. prikazani su faktori zadržavanja sulfagvanidina za sve ispitivane membrane tijekom 5 sati rada. Na slici 4.1. prikazan je normalizirani fluks istih membrana u ovisnosti o vremenu.

Tablica 4.4. Faktori zadržavanja sulfagvanidina u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana.

***t*, h**	**Membrana**					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
0	97,99	45,49	7,89	10,47	9,74	97,91
1	97,73	42,09	6,34	8,24	4,70	98,58
2	98,52	44,36	7,11	11,19	7,67	98,35
3	98,04	41,49	7,37	10,53	6,32	98,01
4	98,29	42,21	6,57	10,15	7,79	98,49
5	98,41	42,21	6,57	10,55	5,19	98,58

Iz tablice 4.4. i slike 4.1. vidimo da je uklanjanje sulfagvanidina konstantno tijekom cijele provedbe procesa i normalizirani fluks blago linearno pada što se može pripisati povećanju osmotskog tlaka ulazne otopine zbog malog smanjenja količine ulazne otopine. Očekivano najbolje uklanjanje imaju XLE membrane (98%). Obzirom na dobivene rezultate te karakteristike membrana (tablica 4.1) i sulfagvanidina (tablica 3.3.), možemo zaključiti da je dominantan mehanizam uklanjanja sulfagvanidina isključenje prema veličini. MWCO od XLE membrane je 100 Da što je manje od M_w sulfagvanidina. S obzirom da je sulfagvanidin pozitivno nabijen, a XLE membrana ima mali negativni naboj (-1,427 mV) vjerojatno je prisutno i slabo elektrostatsko privlačenje između sulfagvanidina i membranske površine. Ne

očekuje se interakcija sulfagvanidina s membranom jer oboje posjeduju hidrofilni karakter što je potvrđeno analizom FTIR spektra (slika 4.2).

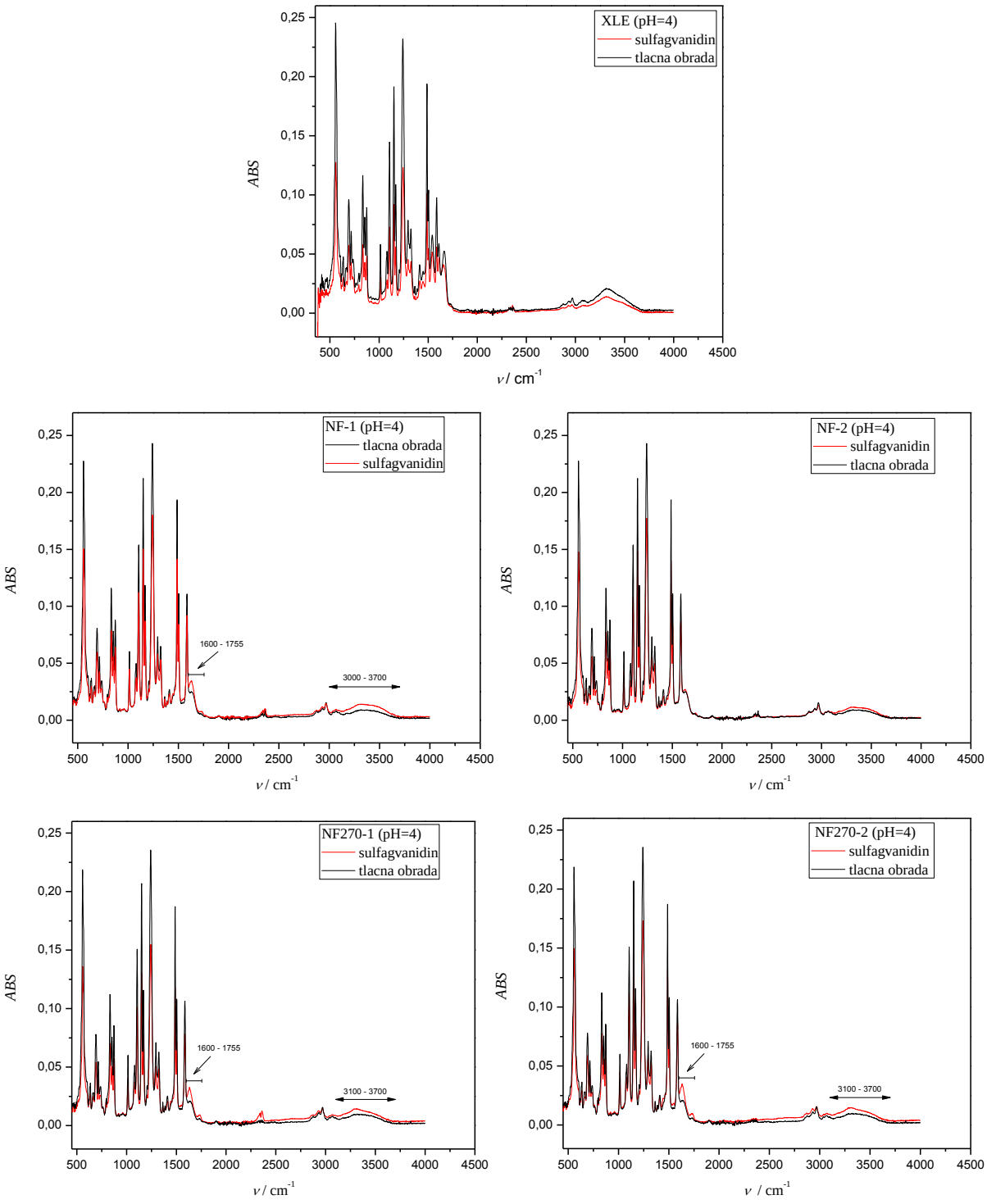


Slika 4.1. Ovisnost normaliziranog fluksa permeata o vremenu.

Uklanjanje s NF membranom je također konstantno tijekom svih 5 h rada, a uklanjanje je manje nego kod XLE membrane pošto se radi o rahlijoj membrani. Prema literaturi [19] MWCO od NF membrane je 200 Da. Usporedbom karakteristika membrana i karakteristika sulfagvanidina s dobivenim rezultatima može se zaključiti da je mehanizam isključenja prema veličini dominantan. Zbog malog negativnog naboja NF membrane (-2,565 mV) i pozitivno nabijene molekule sulfagvanidina vjerojatno je prisutno i slabo elektrostatsko privlačenje između sulfagvanidina i površine membrane. NF-1 membrana pokazuje konstantno zadržavanje sulfagvanidina (44%), dok NF-2 membrana pokazuje slabije zadržavanje molekule sulfagvanidina (9%) čije uklanjanje oscilira s vremenom.. Analizom FTIR spektra (slika 4.2.) vidljivo je da kod NF-2 ne dolazi do nikakvih interakcija, no kod NF-1 membrane uočavamo postojanje H-veza u području 3000 - 3700 cm^{-1}, te vibraciju karbonilne skupine u području od 1600 - 1755 cm^{-1}. Možemo reći da su boljem uklanjanju kod NF-1 membrane doprinijele i interakcije između komponente i membrane.

Nanofiltracijska NF270 membrana pokazuje vrlo malo konstantno uklanjanje sulfagvanidina (7 - 10%). Zbog gotovo neutralnog naboja NF membrane (-0,398 mV) i pozitivno nabijene molekule sulfagvanidina vjerojatno je prisutno i vrlo slabo elektrostatsko privlačenje između molekule i površine membrane. MWCO od NF270 membrane iznosi 300 Da [19]. Prema dobivenim rezultatima i karakteristikama membrana može se reći da je također dominantan mehanizam uklanjanja mehanizam isključenja po veličini. I za NF270

membranu, iako se nije očekivalo, FTIR spektar (slika 4.2.) pokazao je stvaranje H-veze koje se primjećuje povećanjem bazne linije između 3125 - 3665 cm^{-1}, te vibraciju karbonilne skupine u području od 1600 - 1755 cm^{-1}.



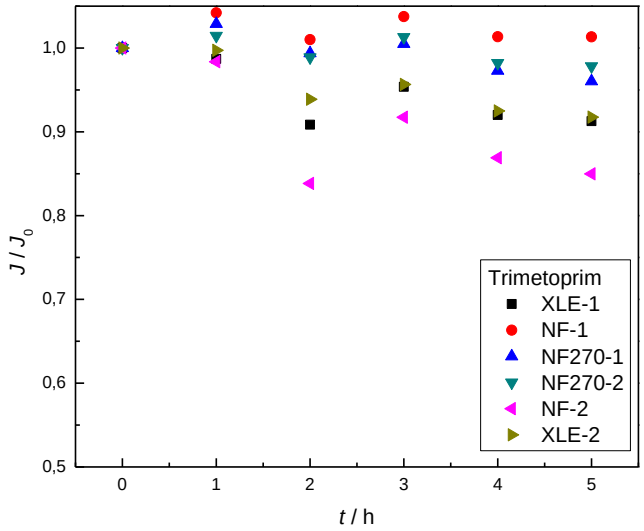
Slika 4.2. FTIR spektar za XLE, NF-1, NF-2, NF270-1 i NF270-2 membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom sulfagvanidina.

4.2.2. Uklanjanje trimetoprima RO/NF membranama

Trimetoprim je hidrofilna komponenta (log $K_{O/W}$ = 0,91) čija vrijednost pK_a iznosi 7,12. Molekula trimetoprima pri pH = 4 ne disocira te se u vodenoj otopini najvjerojatnije nalazi u protoniranom obliku. U tablici 4.5. prikazani su faktori zadržavanja trimetoprima za sve ispitivane membrane tijekom 5 sati rada. Na slici 4.3. prikazan je normalizirani fluks istih membrana u ovisnosti o vremenu.

Tablica 4.5. Srednji faktori zadržavanja trimetoprima u vremenu za svaku od membrana.

***t*, h**	**Membrana**					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
0	97,19	97,37	29,33	58,30	75,23	97,77
1	97,12	96,19	24,74	56,64	65,83	97,21
2	97,48	95,52	30,55	57,94	60,92	97,53
3	97,46	94,96	32,88	58,00	54,83	97,45
4	97,77	94,76	35,78	59,51	50,25	97,72
5	97,94	94,62	38,06	60,97	46,99	97,89



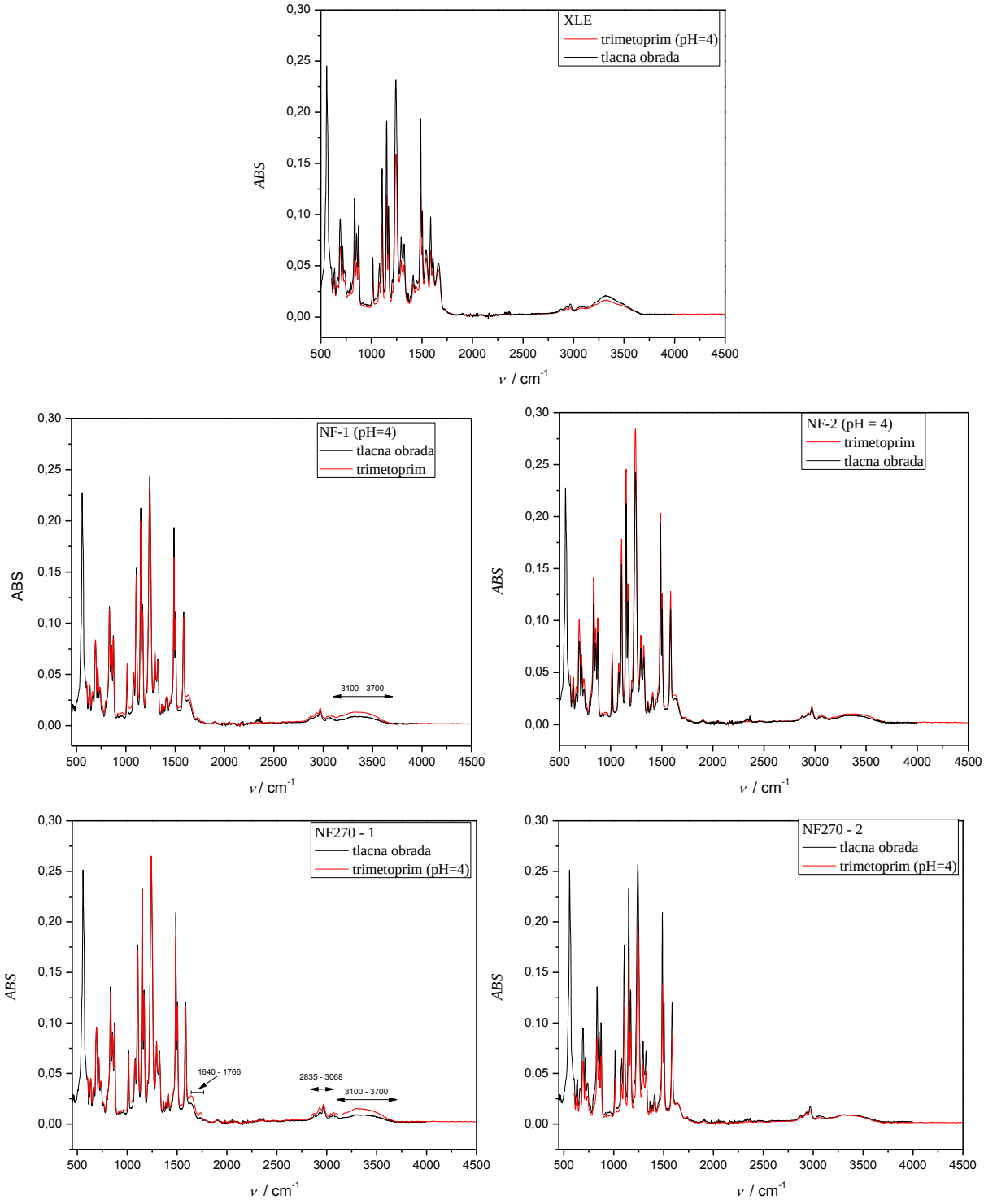
Slika 4.3. Ovisnost normaliziranog fluksa permeata o vremenu.

Iz tablice 4.5. vidimo da je najbolje uklanjanje trimetoprima dobiveno s RO XLE membranama (97%) koje je ujedno konstantno tijekom 5 h rada. Prema dobivenim rezultatima i karakteristikama membrana (tablica 4.1.) i karakteristika trimetoprima (tablica 3.3.) može se

zaključiti da je dominantni mehanizam uklanjanja trimetoprima mehanizam isključenja prema veličini s obzirom na veliku razliku između vrijednosti MWCO XLE membrane i M_w trimetoprima. S obzirom na naboj komponente, pozitivno nabijena pri radnim uvjetima, i mali negativni naboj XLE membrane (-1.427 mV) prisutno je vjerojatno i slabo elektrostatsko privlačenje između trimetoprima i površine membrane. Za trimetoprim se ne očekuje adsorpcija, odnosno interakcije s XLE membranom zbog hidrofilnog karaktera komponente i membrane što je potvrđeno FTIR analizom.

Uklanjanje trimetoprima s NF membranama je bolje nego uklanjanje sulfagvanidina. Mehanizmi zadržavanja su isti (isključenje prema veličini i elektrostatsko privlačenje) obzirom na karakteristike membrana i farmaceutika no vjerojatno je mehanizam isključenjem prema veličini više došao do izražaja. Razlog je veća M_w, a ujedno i veće dimenzije same molekule. Ne očekuje se adsorpcija trimetoprima na NF membranu jer su obje hidrofilnog karaktera što je i FTIR spektar pokazao za NF-2 membranu dok kod NF-1 primjećujemo da dolazi do stvaranja H-veza (slika 4.4.). NF-1 membrana pokazala je dosta dobro zadržavanje trimetoprima s tim da je zadržavanje s vremenom blago padalo (od 97 na 94%). Međutim, za NF-2 membranu dobiveno je slabije zadržavanje koje je s vremenom izraženije padalo (75% - 47%), uz što dolazi i do pada protoka.

NF270 membrana pokazuje najmanje zadržavanje trimetoprima koje se tijekom 5 sati provedbe procesa blago povećavao. Točnije, NF270-2 pokazuje konstantno zadržavanje (59%) uz konstantan protok, dok NF270-1 membrana pokazuje nešto lošije zadržavanje s koje raste s vremenom (29 – 38%). Zbog gotovo neutralnog naboja NF membrane (-0,398 mV) i pozitivno nabijene molekule trimetoprima vjerojatno je prisutno i vrlo slabo elektrostatsko privlačenje između trimetoprima i površine membrane. I u ovom slučaju pokazano je da je dominantan mehanizam isključenje prema veličini no zbog porasta faktora zadržavanja i vjerojatno treba uzeti u obzir i druge mehanizme.. Iako je trimetoprim hidrofilna molekula FTIR spektar (slika 4.4.) pokazao je da je došlo do stvaranja H-veza (3000 – 3700 cm^{-1}) te vibracije karbonilne skupine (1640 – 1766 cm^{-1}). Također, primijetile su se i π-interakcije između trimetoprima i membrane u području od 2835 – 3068 cm^{-1}. Interesantno je to što je za NF270-1 membranu primijećeno stvaranje H-veza i π-interakcija te je zadržavanje s vremenom raslo. Kod druge membrane (NF270-2) zadržavanje je bilo konstantno i nije primijećena adsorpcija. Dakle, za prvu membranu uz mehanizam isključenja prema veličini treba uzeti u obzir i interakcije, dok je za drugu prisutan samo prvi mehanizam.



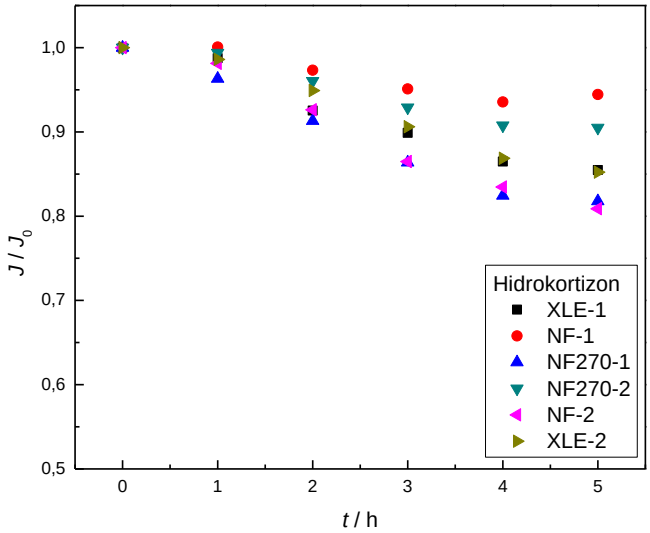
Slika 4.1. FTIR spektar za XLE, NF, NF270-1 i NF270-2 membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom trimetoprima.

4.2.3. Uklanjanje hidrokortizona RO/NF membranama

Hidrokortizon je hidrofilna molekula najveće molekulske mase (M_w = 362,47 g/mol) od svih ispitivanih molekula. Pri pH = 4 nalazi se u svom protoniranom obliku (pK_a = 12,58). U tablici 4.6. prikazani su faktori zadržavanja hidrokortizona dok su na slici 4.5. prikazani normalizirani protoci ispitivanih membrana u ovisnosti o vremenu.

Tablica 4.4. Faktori zadržavanja hidrokortizona u vremenu za svaku od membrana.

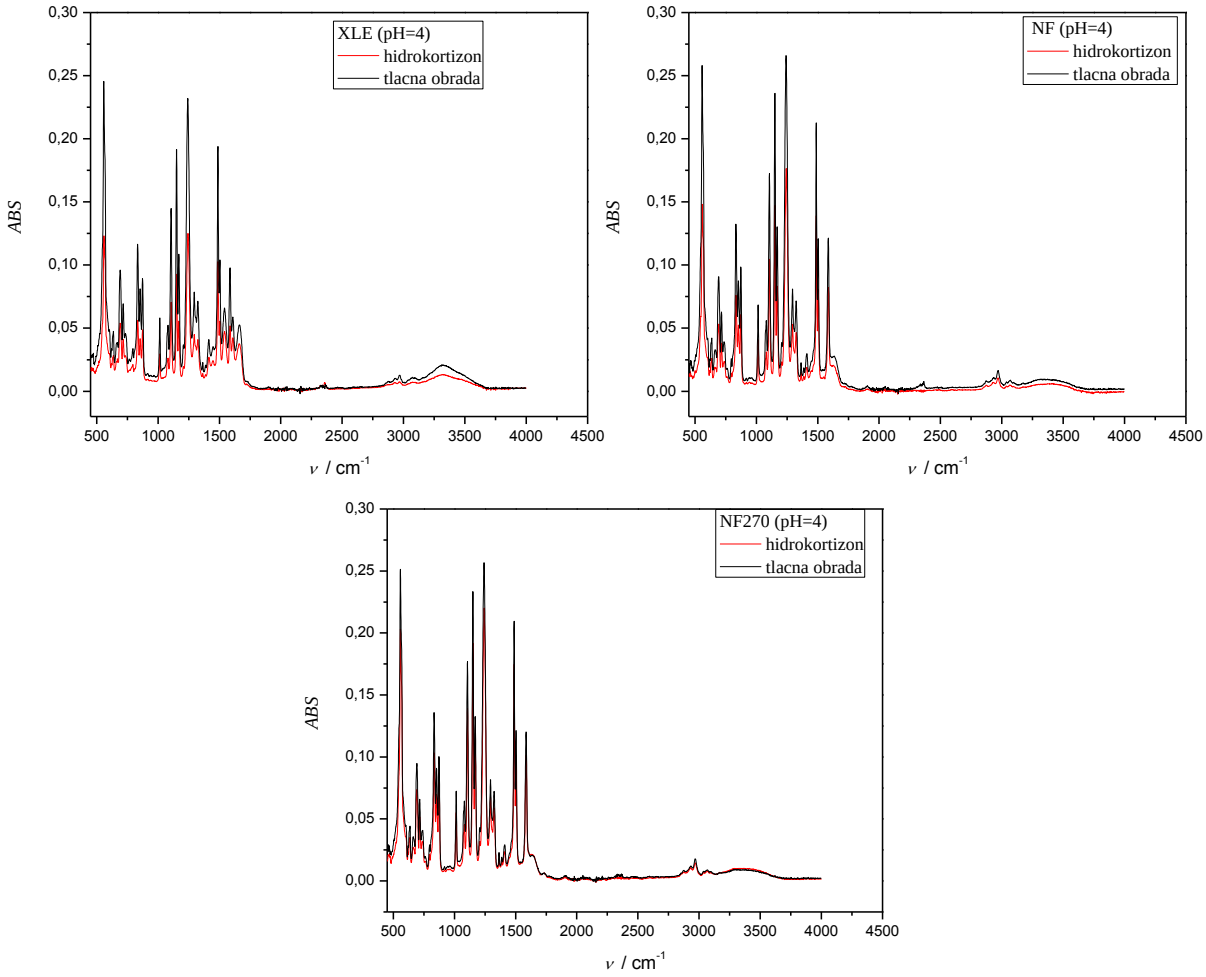
***t*, h**	**Membrana i broj ćelije**					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
0	98,58	95,24	85,55	75,14	92,31	98,14
1	98,80	95,06	85,80	75,69	93,20	98,22
2	98,44	95,44	86,17	76,00	92,63	98,31
3	98,96	95,55	86,65	77,10	91,72	98,36
4	98,96	95,71	86,54	77,44	91,73	98,64
5	98,97	95,82	86,97	77,50	91,67	98,56



Slika 4.5. Ovisnost normaliziranog fluksa permeata o vremenu.

Za sve ispitivane membrane dobiveni su najveći faktori zadržavanja hidrokortizona u usporedbi s dosadašnjim farmaceuticima. Za sve membrane dobiveni su konstanti faktori zadržavanja koji je za XLE membrane iznosio > 98%, za NF 91 – 96% i najmanje za NF270

membranu (76% i 86%). U ovom slučaju sigurno je mehanizam isključenja prema veličini bio prisutan tijekom eksperimentiranja i dominantan. FTIR spektri (slika 4.6.) nisu pokazali moguću adsorpciju odnosno interakcije između komponente i membrane. Elektrostatsko privlačenje najjače je bilo prisutno kod NF membrane (zbog najvećeg negativnog naboja), a najmanje (možda skoro nikakvog) kod NF270 membrane (ξ = -0,398 mV).



Slika 4.2. FTIR spektar za XLE, NF i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom hidrokortizona.

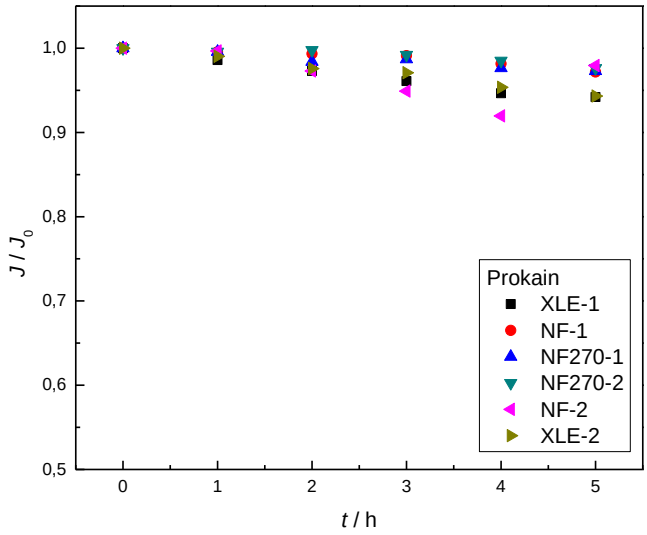
4.2.4. Uklanjanje prokain · HCl RO/NF membranama

Prokain je molekula čija vrijednost log $K_{O/W}$ iznosi 2,14 (nalazi se na samoj granici između hidrofilnog i hidrofobnog karaktera) zbog čega možemo reći da se može smatrati malo hidrofobnom. Kao i ostale komponente, prokain je pri pH = 4 u svom protoniranom stanju (pK_a = 8,5). U tablici 4.7. prikazani su faktori zadržavanja prokain · HCl za ispitivane

membrane, a na slici 4.7. je prikazan normalizirani fluks tijekom 5 sati rada. Za prokain je bitno napomenuti da su navedene fizikalno-kemijske karakteristike prikazane za prokain jer za prokain · HCl nisu dostupne.

Tablica 4.5. Faktori zadržavanja prokain · HCl u vremenu za svaku od membrana.

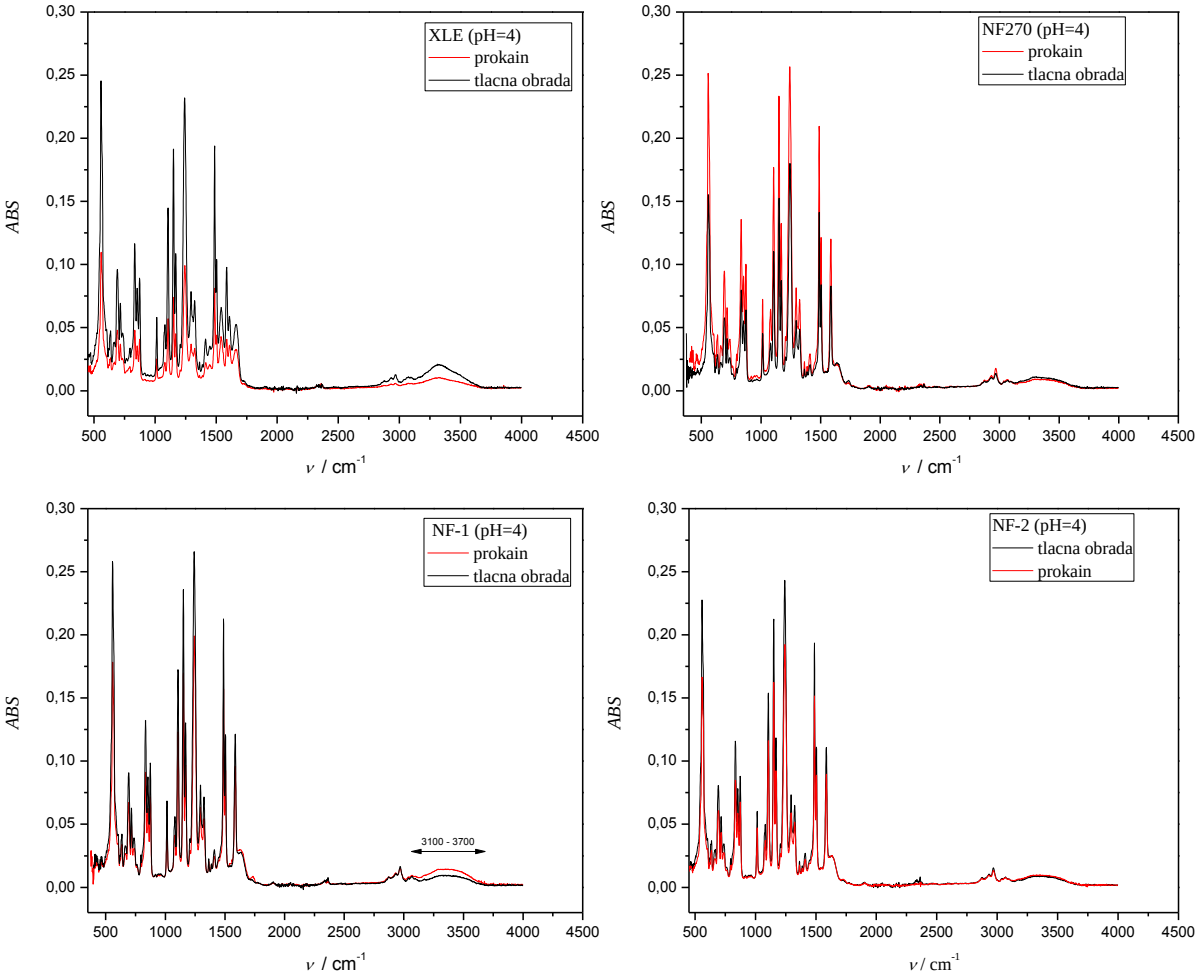
***t*, h**	**Membrana i broj ćelije**					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
0	97,19	85,45	25,34	53,40	33,01	95,96
1	96,42	84,08	25,88	52,70	30,11	94,81
2	96,53	85,29	27,78	54,05	22,78	94,68
3	96,63	85,36	25,01	54,19	14,05	94,71
4	96,74	86,26	25,84	56,45	7,11	95,19
5	96,60	84,89	25,14	53,78	37,78	94,88



Slika 4.7. Ovisnost normaliziranog fluksa permeata o vremenu.

Iz tablice 4.7. i slike 4.8. vidimo da je uklanjanje prokaina najbolje XLE membranom, te je ono, kao i fluks, stabilno tijekom rada. Prema dobivenim rezultatima te karakteristikama XLE membrana (tablica 3.3.) i prokaina (tablica 3.4.) može se zaključiti da je dominantan mehanizam uklanjanja mehanizam isključenja prema veličini. Pretpostavka je da je prokain · HCl pozitivno nabijen pri radnim uvjetima, dok je XLE membrana blago negativno nabijena zbog čega bi moglo doći do slabog elektrostatskog privlačenja između. Za

prokain · HCl se može očekivati adsorpcija, odnosno interakcije zato što je prokain · HCl relativno slabo hidrofoban, no analizom FTIR spektra nisu primijećene interakcije između komponente i membrane.



Slika 4.3. FTIR spektar za XLE, NF-1, NF-2 i NF270 membranu nakon tlačne obrade i tretmana otopinom prokain·HCl.

Ponovo, kao što je i očekivano, NF pokazuje slabije zadržavanje prokain · HCl s obzirom na XLE membrane. Pri tome je zadržavanje veće za NF-1 i konstantno s vremenom (85%), dok za NF-2 zadržavanje, kao i protok, pada do 5-og sata, kada se poboljšava učinkovitost na veću vrijednost nego u vremenu t = 0 h (37%). Može se zaključiti da je dominantan mehanizam isključenje po veličini, no i to da utjecaj na uklanjanje ima još nešto. S obzirom na naboj komponente i NF membrane između njih bi trebalo doći do slabog elektrostatskog privlačenja. Za prokain · HCl se također može očekivati da dođe do interakcija pošto je komponenta blago hidrofobna. Međutim, FTIR analizom (slika 4.8.) potvrđeno je da kod NF-2 ne dolazi do interakcija s membranom, dok kod NF-1 dolazi do interakcija s membranom što vjerojatno ima

utjecaj na bolje uklanjanje tom membranom. Primijećeno je da je došlo do stvaranja H-veza između membrane i komponente što se detektira na području spektra od 3000 do 3700 cm^{-1}.

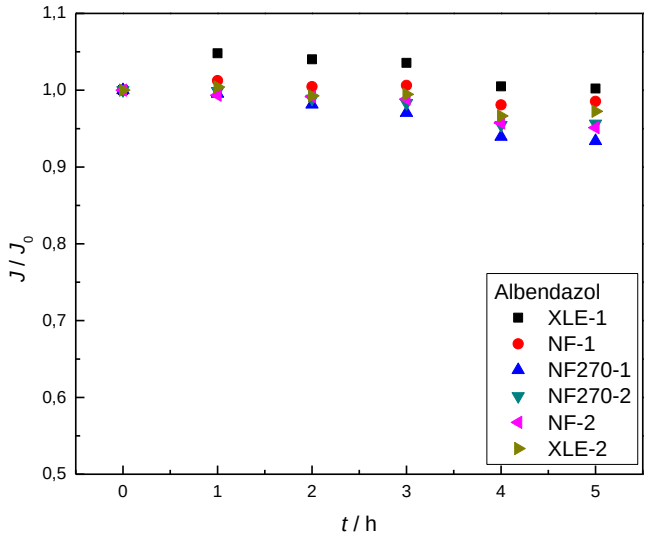
NF270 pokazuje najmanju učinkovitost uklanjanja prokain · HCl i najveći fluks, kao što je očekivano s obzirom na karakteristike. Zbog njihovog naboja, vrlo je mala vjerojatnost da dolazi do elektrostatskih interakcija. Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti da je možda prisutan samo mehanizam isključenja prema veličini. FTIR spektar (slika 4.8.) nije pokazao interakcije i, kao što je prije navedeno, membrana je slabo negativno nabijena.

4.2.5. Uklanjanje albendazola RO/NF membranama

Albendazol ima najveću vrijednost log $K_{O/W}$ zbog čega njega smatramo najhidrofobnijom molekulom od ispitivanih. Obzirom na vrijednost pK_a i albendazol bi pri pH = 4 trebao biti u protoniranom obliku. Gledajući ispitivane farmaceutike, molekula albendazola je druga molekula po molekulskoj masi s najvećom hidrofobnošću i dipolnim karakterom te vrlo malom topljivosti. Ona bi zbog svoje hidrofobnosti trebala lako stupiti u interakcije s membranskom površinom. Dipolni moment molekule albendazola orijentiran je prema karbonilnoj skupini koja se nalazi na „repu“ molekule (tablica 3.4.), tj. većina naboja unutar molekule koncentrirana je u tom smjeru, zbog čega se albendazol može lagano orijentirati tom stranom prema površini membrane i ući u pore membrane. U tablici 4.6. prikazani su faktori zadržavanja albendazola za sve ispitivane membrane tijekom rada kroz 5 sati. Na slici 4.9. prikazan je normalizirani fluks tih membrana u ovisnosti o vremenu.

Tablica 4.6. Faktori zadržavanja albendazola u vremenu za svaku od membrana.

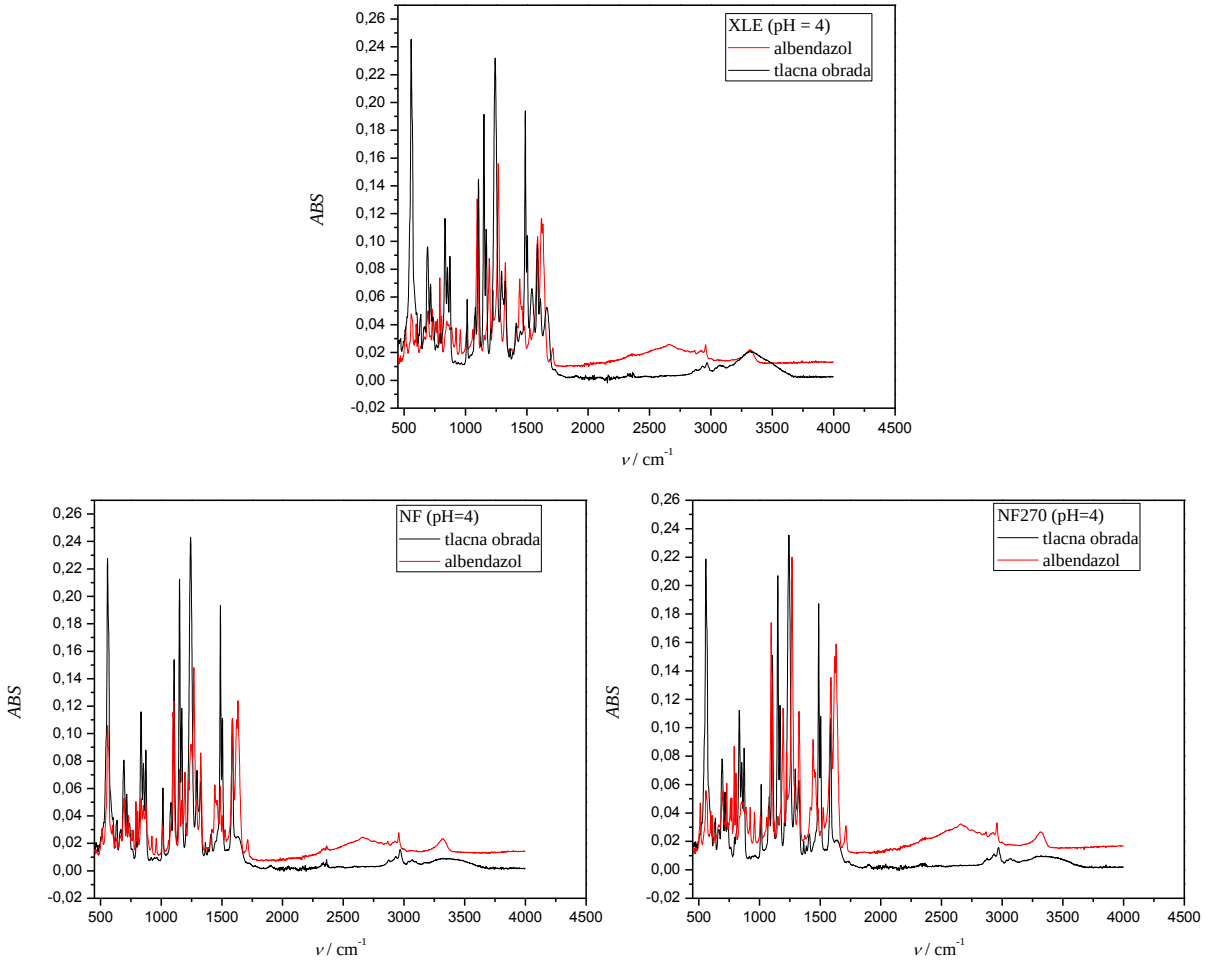
***t*, h**	**Membrana i broj ćelije**					
	XLE-1	**NF-1**	**NF270-1**	**NF270-2**	**NF-2**	**XLE-2**
0	94,80	70,38	58,19	60,36	62,24	92,62
1	95,03	71,79	64,94	65,22	65,92	94,86
2	87,76	44,26	25,49	26,89	26,33	87,62
3	88,63	37,50	19,82	24,09	22,56	86,34
4	84,46	32,28	11,76	11,76	12,80	82,94
5	85,38	25,09	12,19	13,26	12,90	80,39



Slika 4.9. Ovisnost normaliziranog fluksa permeata o vremenu.

Iz tablice 4.8. vidimo da je najbolje zadržavanje albendazola XLE membranom te ono opada s vremenom, a najlošije zadržavanje primijećeno je kod NF270 membrana. Osim toga, vidi se da se kod svih membrana u drugom satu ispitivanja zadržavanje albendazola smanjuje za veći postotak (kod XLE 7%, kod NF za 28 - 40%, a kod NF270 za 38 - 40%). Iz slike 4.9. vidimo da su protoci za sve membrane relativno stabilni.

Prema karakteristikama membrana i albendazola (tablica 3.4.) možemo zaključiti da su prisutni mehanizmi uklanjanja prema veličini te da će vjerojatno doći do adsorpcije. Također je bilo prisutno elektrostatsko privlačenje koje je najjače između albendazola i NF membrane, a najmanje između albendazola i NF270 membrane. Kod albendazola prisutne su interakcije, tj. adsorpcija na sve ispitivane membrane što je potvrđeno i FTIR analizom. Na slici 4.10. prikazani su FTIR spektri za sve tri membrane prije i nakon obrade s otopinom albendazola te uočavamo da je došlo do većih promjena u kemijskoj strukturi membrane. Kod svih membrana u području između 2170 – 2940 cm^{-1} vidljivo je da dolazi do pomaka cijele bazne linije spektra.



Slika 4.10. FTIR spektar za XLE, NF, i NF270 membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom albendazola.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitivala se učinkovitost i mehanizam uklanjanja odabranih farmaceutika (sulfagvanidin, trimetoprim, hidrokortizon, prokain · HCl i albendazol) iz voda u kiselim uvjetima RO/NF membranama (XLE, NF, NF270). Učinkovitost uklanjanja farmaceutika iz voda u kiselim uvjetima ovisilo je o veličini pora membrane i veličini farmaceutika, te o interakcijama između farmaceutika i membrane.

S obzirom na ostale ispitivane membrane, XLE membrana pokazala je očekivano najbolje zadržavanje svih ispitivanih farmaceutika, pri čemu je dominantan mehanizam isključenja veličinom. Pregledom ukupnih rezultata uklanjanja farmaceutika vidimo da se hidrokortizon, kao molekula s najvećom molekulskom masom, uklanja najbolje od svih farmaceutika svim RO/NF membranama. Sulfagvanidin je najmanja molekula i lošije se uklanja s rahlim NF membranama, no puno bolje se uklanja XLE membranama od albendazola ili prokaina, pa čak i trimetoprima. To je vjerojatno zato što je sulfagvanidin prema svojoj log $K_{O/W}$ vrijednosti najhidrofilnija komponenta, a takve komponente, prvenstveno s niskom (negativnom) log $K_{O/W}$ vrijednosti, imaju više OH ili O grupa koje mogu tvoriti vodikove veze s molekulama vode pri čemu je otežan njihov prolaz kroz XLE membrane.

Dokazana je adsorpcija najhidrofobnije ispitivane komponente, albendazola na sve RO/NF membrane te možemo reći da je za albendazol adsorpcija jako važan mehanizam uklanjanja.

Kod uklanjanja farmaceutika RO/NF membranama, za hidrofilnije molekule dominantan mehanizam je isključenje prema veličini, no osim toga za sve farmaceutike osim hidrokrotizona dokazano je da na uklanjanje utječu i interakcije između hidrofilnih farmaceutika i membrana.

6. POPIS SIMBOLA

Δ – delta (razlika)

c – molarna ili množinska koncentracija (mol/L)

γ – masena koncentracija (mg/L)

p – tlak (bar)

T – temperatura (°C)

π – osmotski tlak (bar)

pH-vrijednost – negativni logaritam koncentracije vodikovih iona

K_a – konstanta disocijacije kiseline

pK_a – logaritamska vrijednost konstante disocijacije kiseline (log K_a)

R_f – koeficijent zadržavanja (%)

J – protok permeata (L/(m^2 h))

$K_{O/W}$ – koeficijent raspodjele između oktanola i vode

log $K_{O/W}$ - logaritamska vrijednost koeficijenta raspodjele između oktanola i vode

M_w – molekulska masa, eng. *molecular weight* (g/mol)

log D – koeficijent distribucije

μ – dipolni moment (D)

v – valni broj (cm^{-1})

A – površina (cm^2)

R_a – prosjek hrapavosti eng. *roughness average*

R_q – kvadrat hrapavosti eng. *root mean squared*

ξ – zeta potencijal (mV)

J_w – protok demineralizirane vode (L/(m^2 h))

N – broj pora (m^{-2})

c_f – koncentracija tvari u pojnoj smjesi (g/mol)

c_p – koncentracija tvari u permeatu (g/mol)

t – vrijeme (h)

Kratice

MF – mikrofiltracija

UF – ultrafiltracija

NF – nanofiltracija

RO – reverzna osmoza

TFC – tankoslojna kompozitna membrana, engl. *thin film composite*

MWCO – granične molekulske mase komponente eng. *Molecular Weight Cut-Off*

FTIR – Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala

H – spremnik za pojnu smjesu

VP – visokotlačna pumpa

M – manometar

BPR – regulator tlaka

EKA – elektrokinetički analizator, eng. *Electro Kinetic Analyzer*

DAD – detektor s nizom dioda, eng. *Diode Array Detector*

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

7. LITERATURA

[1] Dolar, D., Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda, Disertacija, 2009, str. 3-38

[2] Boxall, Alistair B.A., The environmental side effects of medication, EMBO Reports, 2004. str. 1110-1116.

[3] Kools, A.E., Moltmann J. F., Knacker T., Estimating the use of veterinary medicines in the European union. Stefan, Regul. Toxicol. Pharm., **50** (2008) 59-65.

[4] Judd, S., Membrane technology, u: Judd, S., Jefferson, B., Membranes for Industrial Wastewater Recovery and Re-use. Oxford, Elsevier I.t.d., (2003) 14-70.

[5] Madsen, Tækker , H.. Chapter 6 – Membrane Filtration in Water Treatment – Removal of Micropollutants. u: Chemistry of Advanced Environmental Purification Processes of Water, Oxford, Elsevier, 2014, str. 199–248.

[6] Lau, W.J., Ismail, A.F., Misdan, N., Kassim, M.A., A recent progress in thin film composite membrane: A review. Skudai, Johor, Malaysia, Desalination, **287**, (2012) 190–199.

[7] Schäfer, A.I., Akanyeti I., Andrea, Semião, J.C., Removal of adsorbing estrogenic micropollutants by nanofiltration membranes. Part A—Experimental evidence, J. Membr. Sci., **431** (2013) 244-256.

[8] Bellona, C., Drewes, J.E., Xu, P., Amy, G., Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment—a literature review, Water Res., **38** (2004) 2795–2809.

[9] Radjenović, J., Petrović, M., Venturac, F., Barcelo, D., Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment, Water Res., **42** (2008) 3601-3610.

[10] Košutić, K., Dolar, D., Ašperger, D., Kunst, B., Removal of antibiotics from a model wastewater by RO/NF membranes, Sep. Purif. Technol., **53** (2007) 244–249.

[11] Nghiem, L.D., Schäfer, A.I., Elimelech, M., Nanofiltration of Hormone Mimicking Trace Organic Contaminants, Separ. Sci. Technol., **40** (2005) 2633–2649.

[12] Nghiem, L.D., Schäfer, A.I., Elimelech, M., Role fo elecrtostatic interactions in the retention of pharmaceutically active contaminants by loose nanofiltration membrane, J. Membr. Sci., **286** (2006) 52-59.

[13] Dolar, D., Vuković, A., Ašperger, D., Košutić, K., Mutavdžić Pavlović, D., Efficiency of RO/NF Membranes at Removal of Veterinary Antibiotics, Water Sci. Technol., **65(2)** (2012) 17-23.

[14] Frisch, M.J. et. al. ,G., Revision A.02., Gaussian, Inc Wallingford CT, (2009).

[15] Drašinac, N., Ispitivanje interakcija poliamidnih RO/NF membrana s organskim tvarima, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2014., str. 21-32

[16] Ferenčak, M., Ekstrakcija farmaceutika iz sedimenta mućkanjem, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2012, str. 29-31.

[17] Kosutić, K., Dolar, D., Kunst, B., On experimental parameters characterizing the reverse osmosis and nanofiltration membranes' active layer, J. Membr. Sci., **282** (2006) 109–114.

[18] Atkin, O., Temelli, F., Probing the hydrophobicity of commercial reverse osmosis membranes produced by interfacial polymerization using contact angle, XPS, FTIR, FE-SEM and AFM, Desalination, **278** (2011) 387-396.

[19] Munoz, L., Sottoa, M.J., Arsuagaa, A., Bruggenb, J.M., Influence of membrane, solute and solution properties on the retention of phenolic compounds in aqueous solution by nanofiltration membranes, Sep. Purif. Technol., **66** (2009) 194-201.

8. ŽIVOTOPIS

Kristina Vertuš rođena 14. ožujka 1990. godine u Koprivnici. U Koprivnici pohađa osnovnu školu „Đuro Ester“, nakon koje srednjoškolsko obrazovanje stiče u općoj gimnaziji „Fran Galović“.

Na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu upisuje preddiplomski studij Ekoinženjerstvo 2009. godine. Stručnu praksu odrađuje na drugoj godini fakulteta u Koprivničkoj tvornici lijekova Belupo u sektoru Kontrola kvalitete i validacija. Završni rad izrađuje na Zavodu za tehnologiju nafte i petrokemiju pod naslovom „*Plastični materijali iz obnovljivih izvora*“ pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Elvire Vidović.

2014. godine upisuje diplomski sveučilišni studij Ekoinženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme trajanja diplomskog studija bila je demonstrator na Zavodu za industrijsku ekologiju na kolegiju Bioremedijacija.