Utjecaj pH vrijednosti na mehanizam uklanjanja farmaceutika RO/NF membranama

Puškarić, Anita

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:656218

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

Anita Puškarić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Anita Puškarić

UTJECAJ pH VRIJEDNOSTI NA MEHANIZAM UKLANJANJA FARMACEUTIKA RO/NF MEMBRANAMA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada:
prof. dr. sc. Krešimir Košutić

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Krešimir Košutić
Doc. dr. sc. Davor Dolar
Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger

Zagreb, srpanj 2016.

Zahvaljujem svom mentoru, prof. dr. sc. Krešimiru Košutiću što je prihvatio biti moj mentor te na stručnim savjetima i stečenom znanju.

Veliku zahvalnost, dugujem doc. dr. sc. Davoru Dolaru koji mi je omogućio izradu ovog rada, na brojnim savjetima, te na iskazanom strpljenju i vremenu za moje brojne upite.

Posebnu zahvalnost iskazujem izv. prof. dr. sc. Danijeli Ašperger na susretljivosti i našem dugotrajnom druženju prilikom snimanja i iščitavanja rezultata.

Najveća hvala mojim roditeljima što su me podržali tijekom cijelog mog školovanja i vjerovali u mene kad ni sama nisam mislila da ću uspjeti, te koji su radi mene uvijek spremni sve ostalo staviti na drugo mjesto.

Jedno veliko hvala dugujem mojoj sestri i mom dečku koji su me toliko ohrabrivali i koji su mi uvijek bili potpora i oslonac kad mi je bilo najpotrebnije.

SAŽETAK

U ovom radu ispitivan je utjecaj pH otopine (pH=4, 7 i 10) na mehanizam membranskog uklanjanja odabranih farmaceutika: prazikvantela, enrofloksacina i sulfadiazina. Istraživanje je provedeno s komercijalnim reverzno osmotskim i nanofiltracijskim (RO/NF) membranama: XLE, UTC-70HA, BW30, NF, NF90 i NF270. Zadržavanje farmaceutika analizirano je na osnovu njihove veličine molekula, naboja i hidrofilnosti u odnosu na karakteristike membrana. S povećanjem pH vrijednost otopine, povećava se negativni naboj površine membrane, a pri pH vrijednostima ispod pK_a komponente se adsorbiraju i raspodjeljuju kroz membranu. Pri pH iznad pK_a, adsorpcija komponenata je minimalna zbog povećane topljivosti pa utjecaj elektrostatskog odbijanja postaje značajan. Zaključno, na učinkovitost uklanjanja farmaceutika prvenstveno utječe mehanizam isključenja po veličini, ali je potrebno uzeti u obzir i utjecaj međudjelovanja farmaceutika i membrana.

Ključne riječi: reverzna osmoza, nanofiltracija, pH otopine, farmaceutici, uklanjanje

SUMMARY

In this work the effect of pH (pH = 4, 7, 10) on the rejection mechanism of selected pharmaceuticals (praziquantel, enrofloxacin, sulfadiazine) was studied. Several commercial RO/NF (XLE, UTC-70HA, BW30, NF, NF90, NF270) membranes were studied at different pH values. Their retention and flux were explained by the size exclusion, charge and the hydrophilic/hydrophobic characteristics of selected components and membranes. Increasing pH, resulted in an increased negative surface charge, at the pH below the pK_a selected components adsorbed and partitioned through the membrane. At the pH above the pK_a, adsorption of components was minimal due to an increased solubility and the significant role of electrostatic repulsion. The effectiveness of removing pharmaceuticals from model water with RO/NF membranes was influenced by size exclusion mechanism and the interaction between pharmaceuticals and membranes. Dominant rejection mechanism of the examined pharmaceuticals was the size exclusion.

Key words: reverse osmosis, nanofiltration, pH effect, pharmaceutical, retention

SADRŽAJ

1. UVOD **1**

2. OPĆI DIO **2**

2.1. Membranski separacijski procesi 2

2.2. Reverzna osmoza i nanofiltracija 3

2.3. Membrane 4

2.3.1. Podjela membrana prema mehanizmu separacije 4

2.4. Farmaceutici 7

2.4.1. Općenito o korištenim farmaceuticima 8

2.5. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama 9

3. EXPERIMENTALNI DIO **12**

3.1. Materijali 12

3.1.1. Membrane 12

3.1.2. Farmaceutici 14

3.2. Uređaji za mjerenje 16

3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj 16

3.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) 17

3.2.3. Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transfomacijom signala 17

3.2.4. pH metar 17

3.2.5. Konduktometar 18

3.3. Postupak i uvjeti rada na laboratorijskom RO/NF uređaju 18

3.3.1.Predobrada i određivanje nazivnih svojstava membrana 18

3.3.2. Ispitivanje mehanizma zadržavanja farmaceutika ispitivanim membranama 18

4. REZULTATI I RASPRAVA **20**

4.1. Karakterizacija membrana 20

4.2. Separacija odabranih farmaceutika 23

4.2.1. Utjecaj pH na mehanizam separacije prazikvantela RO/NF membranama 24
4.2.2. Utjecaj pH na mehanizam separacije enrofloksacina RO/NF membranama 31
4.2.3. Utjecaj pH na mehanizam separacije sulfadiazina RO/NF membranama 39
5. ZAKLJUČAK **.....48**
6. POPIS SIMBOLA I KRATICA **.....49**
7. LITERATURA **.....51**
8. ŽIVOTOPIS **.....55**

1.UVOD

Potrošnja lijekova za ljudsku i veterinarsku primjenu svakim je danom sve veća, kao i njihovo otpuštanje u okoliš. Lijekovi, njihovi metaboliti i proizvodi transformacije sve se češće detektiraju u okolišu. Glavni izvori farmaceutika u okolišu su neobrađene, a vrlo često i neadekvatno obrađene otpadne vode. Reverzna osmoza (RO) i nanofiltracija (NF) pokazale su se kao veoma učinkovite metode za njihovo uklanjanje iz voda.[1,3] Membranski procesi kao metode separacije sve se intenzivnije primjenjuju u praksi, a poznavanje principa membranskog zadržavanja tvari je ključno za ovu vrstu odjeljivanja i pročišćavanja.

U postupku razdvajanja organskih molekula sličnih veličina važno ih je prilagoditi različitim uvjetima procesa. Kako bi se procijenila učinkovitost uklanjanja s membranama bitno je poznavanje faktora koji utječu na njihovo uklanjanje uz poznavanje fizikalno-kemijskih karakteristika membrana, te njihove moguće interakcije. RO/NF proces uklanjanja tvari je najčešće kombinacija efekta prosijavanja i difuzije molekule kroz selektivni sloj membrane.[4] Van der Bruggen i sur.[5] pokazali su da je molekulska masa (MW) dobar pokazatelj uklanjanja s RO/NF membranama. Općenito, što je veća molekulska masa komponente to je veće uklanjanje. Također površinski naboj NF membrana igra važnu ulogu u uklanjanju tvari. Dakle, ako su dvije membranske površine različito nabijene (kao funkcija pH), pretpostavlja se da pokazuju različito uklanjanje pri različitim pH vrijednostima.[4]

Na mehanizam zadržavanja isto tako utječu fizikalno-kemijski parametri otopljenih tvari: molekulska veličina (oblik, duljina, širina), konstanta disocijacije (pK_a), hidrofobnost/hidrofilnost ($\log K_{O/W}$), naboj, dipolni moment, topljivost.[6]

Potvrđeno je da se hidrofobne komponente veoma lako adsorbiraju na membranskoj površini te da dolazi do stvaranja kemijskih veza između navedenih, no isto nije navedeno za hidrofilne zbog visokog stupnja hidratacije u vodi.[5]

Cilj ovog rada je bio ispitati utjecaj pH otopine na mehanizam uklanjanja farmaceutika iz voda u kiselim, neutralnim i lužnatim uvjetima. U radu je ispitivana učinkovitost uklanjanja tri faramceutika sa šest različitih RO/NF membrana, od kojih su tri reverzno osmotske (XLE, UTC-70HA, BW30) i tri nanofiltracijske (NF, NF90 i NF270) membrane. Ispitivani farmaceutici su bili prazikvantel, enrofloksacin i sulfadiazin.

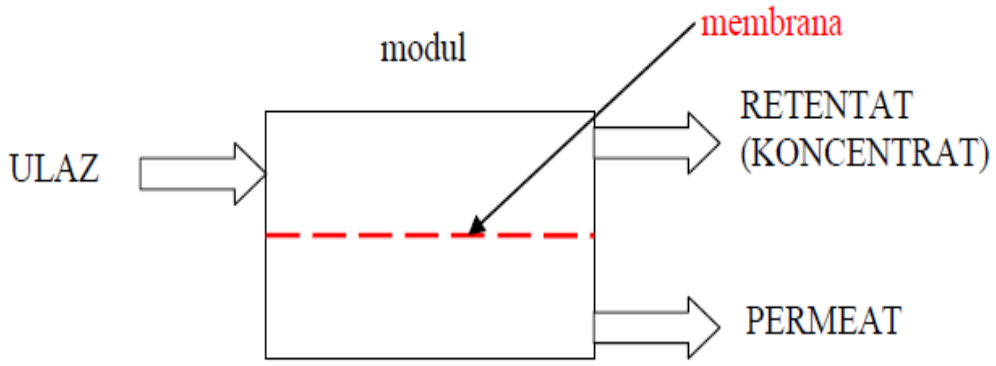
2. OPĆI DIO

2.1. Membranski separacijski procesi

Membranski separacijski procesi definiraju se kao postupci koji pomoću membrane dijele ulaznu struju na dvije struje:

- permeat, struju oslobođenu od tvari prisutnih u otopini, gotovo čistu vodu, i
- retentat (koncentrat), struju u kojoj su te iste komponente otopine zadržane i na taj način višestruko koncentrirane.

Ulazna struja (pojna kapljevina) u membranskim separacijskim procesima se djelomično ili potpuno razdvaja pomoću polupropusne membrane, kao što je prikazano na slici 1.[1,2]



Slika 1. Shematski prikaz membranskog separacijskog procesa

Membranski procesi se zasnivaju na primjeni polupropusnih membrana koje selektivno propuštaju, odnosno zadržavaju određene molekule i ione. Membrana se definira kao tanki film i osnovni je element svake membranske operacije koji dijeli dvije faze. Djeluje kao aktivna ili pasivna fizikalna pregrada koja omogućava selektivni transport tvari kroz membranu djelovanjem pogonske sile kao što su razlika u temperaturi, koncentraciji, električnom potencijalu, te električnoj struji. Osnovna pokretačka sila kod tlačnih membranskih procesa jest razlika tlaka.[1]

Prednosti membranskih separacijskih procesa su kvaliteta dobivene vode, nizak utrošak energije, jednostavnost procesa, mogućnost rada bez dodatka kemikalija, minimalna potreba za aditivima, podesivost sustava, blagi uvjeti rada, kombiniranje s drugim separacijskim postupcima i dr., a mane su relativno kratki životni vijek membrane (oko 10 godina), koncentracijska polarizacija te membransko blokiranje. Od membranskih

separacijskih postupaka najveću praktičnu primjenu imaju tlačni membranski postupci: RO, NF, ultrafiltracija (UF) i mikrofiltracija (MF). Između navedenih postupaka razlike su u korištenom tlaku, vrsti membrana i veličini separiranih čestica.[1,2] Veličina pora pada od mikrofiltracije do reverzne osmoze, a time raste radni tlak budući da je hidrodinamički otpor sve veći.[1]

2.2. Reverzna osmoza i nanofiltracija

Reverzna osmoza je tlačni membranski postupak gdje otopina prolazi kroz gustu membranu koja zadržava soli i otopljene tvari niskih molekulskih masa. Nanofiltracija je proces između reverzne osmoze i ultrafiltracije koji zadržava molekule veličine 1 – 2 nm. U oba procesa separacija se postiže primjenom tlaka većeg od osmotskog na otopinu koja se tretira. Osmotski tlak je prirodna težnja za izjednačavanjem kemijskog potencijala s jedne i druge strane membrane. Reverzna osmoza je fizikalno-kemijski separacijski proces u kojem je koncentrirana otopina s jedne strane podvrgnuta tlaku što rezultira prolaskom gotovo čiste vode kroz membranu ostavljajući na membrani koncentriranu otopinu koja sadrži većinu otopljenih minerala i drugih nečistoća. Nanofiltracija i reverzna osmoza se koriste kada se otopljene tvari malih molekulskih masa, kao što su anorganske soli ili male organske molekule, moraju odvojiti od otapala. Reverzna osmoza se uglavnom koristi za dobivanje pitke vode iz slanih i bočatih voda kao i za uklanjanje anorganskih onečišćivala i ostalih organskih tvari poput pesticida.[1,2,7] U pravilu se smatraju jednakim procesom s obzirom da je princip separacije jednak kod oba procesa, međutim razlikuju se u radnom tlaku i vrsti membrane. Nanofiltracijske membrane su kompozitne poliamidne membrane, a reverzno osmotske su kompozitne ili asimetrične membrane najčešće dobivene od poliamida, poliestera, aromatskih poliamida te celuloznih derivata.[1,2] Veličina pora kod NF membrane je nešto veća, tj. polimerna struktura im je više otvorena, a uz to je membrana i vrlo često negativno nabijena pa to utječe na zadržavanje jednovalentnih i dvovalentnih iona. NF membrane imaju 2 – 5 puta veću permeabilnost u odnosu na RO membrane tako da se upotrebljavaju pri nižim tlakovima dajući željeni fluks permeata.[1,2] Vrijednosti tlaka kod NF iznose do 20 bara, a kod RO primjenjeni tlak iznosi od 30 do čak 80 bara.[1] NF je poželjna za pročišćavanje vode s manjim udjelima soli, a većim udjelom dvovalentnih iona i organskih tvari i njome se postiže zadržavanje herbicida, insekticida, pesticida, boja i šećera dok će se reverzna osmoza koristiti za uklanjanje soli u većim koncentracijama.[1,2]

2.3. Membrane

Osnovni element svake membranske operacije je membrana. Definira se kao tanki film koji djeluje poput aktivne ili pasivne fizikalne pregrade i tako dijeli dvije faze prilikom prijenosa tvari između faza. Membrana nije definirana uvijek kao pasivni materijal, već kao i aktivni funkcionalni materijal. Najčešće se radi o tankom neporoznom ili poroznom polimernom filmu od metala ili keramike. Generalno se za tlačne membranske procese upotrebljavaju anizotropne membrane koje mogu biti asimetrične (od jedne vrste polimera) i kompozitne (sastavljene od više vrsta polimera). Membrana prenosi jednu komponentu pojne kapljevine puno lakše u odnosu na ostale pri čemu dolazi do separacije.[1,2] Ključna svojstva neke membrane su[2]:

- selektivnost, i
- protok.

Otpornost membrane ovisi o kemijskom sastavu membranskog materijala. Najveća postojanost im je u neutralnom pH području, između 5 i 7, međutim danas postoje membrane koje su stabilne u području pH 2 – 11 pa i šire. Permselektivne (neporozne, mikroporozne, makroporozne) membrane možemo razlikovati uzimajući u obzir slijedeće vrijednosti[1]:

- mehanizam separacije,
- kemijski sastav,
- morfologija, i
- geometrija.

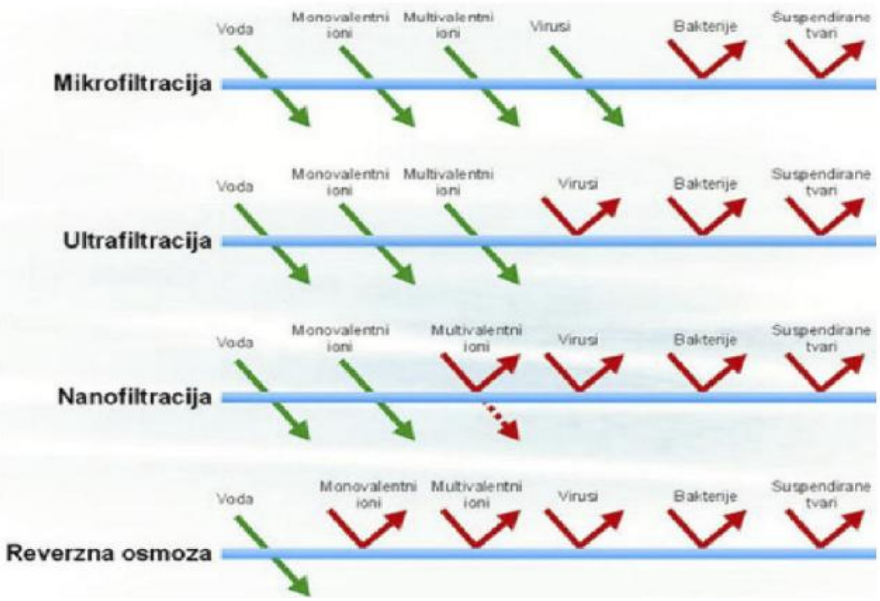
2.3.1. Podjela membrana prema mehanizmu separacije

Membrane se s obzirom na mehanizam separacije dijele na tri vrste ovisno o svojstvima tvari koje se separiraju i smjesi u kojima se te tvari nalaze:

1. razlika u veličini čestica i veličini pora membrane,
2. razlika u topljivosti i difuzivnosti materijala membrane i
3. razlika u naboju čestica koje treba separirati.

Razlika u veličini čestica i veličini pora membrane

Membrane mogu biti definirane prema namjeni za određeni tip membranske separacije gdje se definiraju u smislu učinkovitosti prema promjeru pora, obično izraženo u nm ili opsegom razdvajanja prema molekulskoj masi.[4] Membrana se s obzirom na veličinu čestica i veličinu pora (efekt prosijavanja) dijeli na porozne membrane s makro porama većim od 50 nm i nanopore veličine 2 - 50 nm.[2] Zbog činjenice da pore nemaju iste dimenzije, odnosno da je za svaku membranu tipična krivulja veličinske raspodjele pora (VRP krivulja), često se kao parametar za karakterizaciju membrana koristi granična molekulska masa komponente (MWCO, *eng. molecular weight cut off*). MWCO je karakteristična veličina za određenu membranu i definira se kao molekulska masa onih spojeva, koji se na datoj membrani zadržavaju u količini većoj od 90 % i izražava se u Daltonima (Da).[1,8] Molekulska masa komponente ništa ne govori o prostornoj raspodjeli atoma u toj molekuli i stoga je neophodno definirati dužinu, širinu i visinu svake molekule, tj. razmještaj atoma u prostoru.[1,3] Za komponente koje nose određen naboj, Donnanov efekt uvelike je dominantan prilikom separacijskog procesa, bez obzira na veličinu molekula i MWCO.[3] S obzirom na tu podjelu membranski procesi su NF, MF, UF, i dijaliza (DIA). Reverznom osmozom se zadržavaju molekule i ioni (0,0001 do 0,001 μm), a nanofiltracijom čestice od 0,001 do 0,01 μm. Ultrafiltracijom se izdvajaju čestice od 0,005 do 0,2 μm dok se MF odvajaju čestice veličine od 0,05 do 2 μm.[8]



Slika 2. Podjela membranskih procesa prema veličini pora

Razlika u topljivosti i difuzivnosti materijala membrane

Separacija se može temeljiti i na razlici u topljivosti i difuzivnosti materijala membrane i otopine koja dolazi u kontakt s membranom pri čemu se separacija odvija mehanizmom otapanja/difuzije. Primjer ovakvog načina separacije je reverzna osmoza. Ovdje su prisutne neporozne guste (zbijene) membrane u kojima su prisutne pore mikroskopskih dimenzija (0,00018 m). Sam proces difuzije je selektivan ali izuzetno težak. Komponenta koja difundira kroz membranu otapa se u selektivnom polimeru, prolazi kroz polimer i kroz dijelove makromolekularnih lanaca. Tipični membranski procesi su reverzna osmoza, pervaporacija i permeacija plina.[1,2,8,9]

Razlika u naboju čestica koje treba separirati

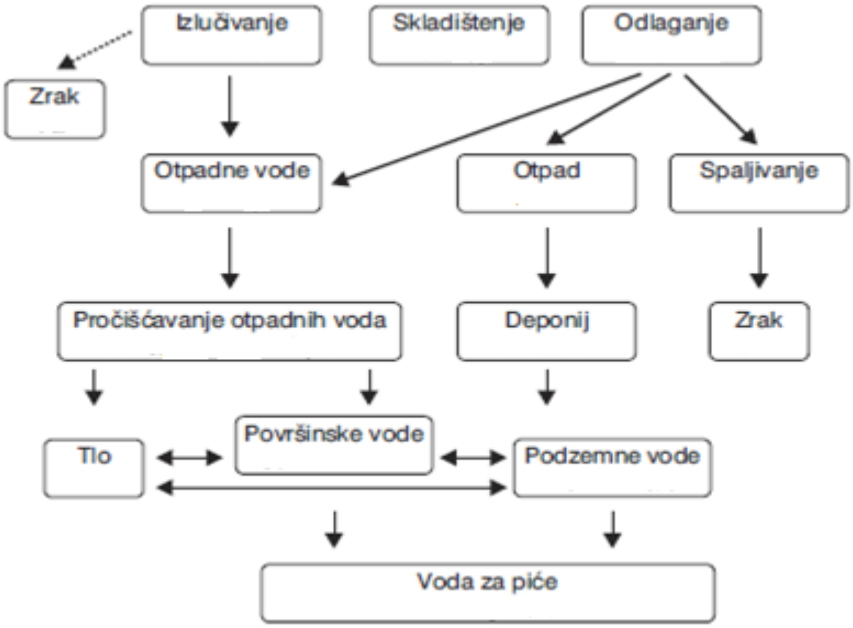
Separacija tvari iz otopine može se temeljiti na razlici u naboju čestica koje treba separirati.[9] Mehanizam separacije polazi od pretpostavke da je membrana za membransku separaciju napravljena tako da sadrži veliki broj fiksnih električnih naboja (pozitivni ili negativni naboj). Membrana zbog djelovanja elektrostatičkih sila odbija ione istog naboja, a zadržava ione suprotnog naboja. Ovisno o prirodi membrane (naboj) dobivene su veće ili niže vrijednosti zadržavanja od očekivanog na bazi molekulske mase ili ostalih parametara. Postoji važna razlika između membrana za taj efekt: utjecaj naboja je mali za membrane s malim porama, ali može biti važan kada su pore veće. Kada su pore veće efekt naboja može biti dominantan faktor u određivanju zadržavanja jako nabijenih membrana.[3]

Pripadajuće membrane su električki nabijene membrane, tzv. ionsko-izmjenjivačke (kationske ili anionske), a operacije u kojima dominira ovaj separacijski mehanizam su elektrodijaliza, (ED), Donnanova dijaliza, ali i NF. Membrane s fiksnim negativnim nabojem zovu se kationsko izmjenjivačke membrane i one su permeabilne za katione, a odbijaju anione. Membrane s fiksnim pozitivnim nabojem nazivaju se anionsko izmjenjivačke membrane i permeabilne su za anione, a nepermeabilne su za katione.[2,8,9]

2.4. Farmaceutici

Farmaceutici se mogu široko definirati kao tvari namijenjene za uporabu u medicinskoj dijagnostici, liječenju ili sprječavanju bolesti. Farmaceutici su sintetski organski spojevi koji su biološki teško razgradljivi i čija prisutnost u okolišu može biti štetna.[10] Njihova dopuštena koncentracija u okolišu još uvijek nije točno određena, ali prema Direktivi 2001/83/EC zahtjev za odobrenje novih lijekova za ljudsku primjenu mora sadržavati ocjenu rizika koju lijek može imati za okoliš (*Environmental risk assessment* – ERA).[11] Navedeni spojevi mogu se podijeliti u nekoliko skupina: lijekovi za ljudsku i veterinarsku upotrebu, površinski aktivne tvari i produkti njihove razgradnje, plastifikatori, sredstva za osobnu higijenu, industrijski aditivi, boje i novi pesticidi.[1] Veterinarski farmaceutici su fiziološki visoko aktivne tvari koje se koriste za zaštitu životinja od parazita, sprječavanje bakterijskih infekcija i poboljšanje razvoja. Farmaceutici se razlikuju obzirom na kemijska svojstva, način ili put primjene, biološki sustav na koji utječu ili prema terapijskom učinku.[10] Osnovna podjela lijekova je na prirodne, polusintetske i sintetske, većina tih spojeva igra veliku ulogu u čovječanstvu i njihova upotreba za liječenje ljudi i životinja je svakim danom sve veća. Možemo ih podijeliti na lijekove biljnog, životinjskog i mineralnog podrijetla odnosno na organske i anorganske kemijske preparate, galenske preparate te na serume i cjepiva. Razlikujemo lijekove za unutrašnju i vanjsku upotrebu. Lijekovi mogu imati i neželjene učinke na mikroorganizme i životinje u koncentracijama manjim od granične toksičnosti za ljude. Koristi se i širok spektar lijekova poput antibiotika, anelgetika, kontracepcijskih lijekova i mnogih drugih, a sve se više koriste lijekovi u veterinarstvu i poljoprivredi.[12,13] Mnogi lijekovi u ljudskom tijelu prolaze proces biotransformacije, što rezultira oslobađanjem znatnih količina različitih metabolita. Ti metaboliti mogu se dalje transformirati u postupku pročišćavanja otpadnih voda. Produkti razgradnje lijekova mogu imati sličnu ili čak veću toksičnost od izvorne tvari. Nakon primjene lijekovi dospijevaju u okoliš izlučivanjem, bilo u nepromijenjenom obliku ili u obliku metabolita. Također znatna količina lijekova u okolišu potječe od nepravilnog zbrinjavanja neupotrijebljenih lijekova. U najvećoj mjeri lijekovi nakon primjene i izlučivanja, kao i neupotrijebljeni lijekovi dospiju u okoliš putem komunalnih otpadnih voda (slika 3.).[12] Prisutnost lijekova u okolišu sve je češće predmet znanstvenog interesa i istraživanja, što rezultira većim brojem izvješća o detekciji lijekova u raznim uzorcima iz okoliša. Biološki teško razgradljive spojeve, potrebno je obraditi i ukloniti zbog njihovog nepovoljnog utjecaja na zdravlje ljudi i okoliš. Za uklanjanje takvih supstanca

koriste se napredni postupci kao što su membranski procesi, oksidacija, adsorpcija na aktivnom ugljenu, budući da konvencionalni postupci nisu dovoljno učinkoviti.[1]



Slika 3. Mogući putovi dospijevanja lijekova u okoliš

2.4.1. Općenito o korištenim farmaceuticima

Prazikvantel

Prazikvantel spada u grupu antihelmintika. Antiparazitni efekt zasniva mu se na povećanju permeabilnosti membrane parazita s kalcijem. Posljedica toga su snažne kontrakcije, nakon čega dolazi do paralize muskulature i smrti parazita.[14]

Enrofloksacin

Enrofloksacin je antibiotik koji se koristi u veterini i spada u antibiotik širokog spektra. On koči aktivnost topoizomeraze II (sin. DNA-giraza) i topoizomeraze IV u

osjetljivom mikroorganizmu, od kojih DNA-giraza u bakterijskoj jezgri katalizira početak replikacije DNA. Antimikrobni lijek enrofloksacin sintetski je derivat kinolona karboksilne kiseline, spada u skupinu fluorokinolona ili kinolona druge generacije.[15]

Sulfadiazin

Sulfadiazin je antibiotik iz skupine sulfonamida, koji se koristi u kombinaciji s pirimetaminom za liječenje toksoplazmoze. Učinak je posljedica inhibicije sinteze folne kiseline u parazita. Najčešći neželjeni učinci uključuju poremećaje kože, reakcije preosjetljivosti i poremećaja središnjeg živčanog sustava. Sulfonamidi su sintetski bakteriostatski antibiotici sa širokim spektrom protiv većine gram-pozitivnih i brojnih gram-negativnih organizama.[16,17]

2.5. Uklanjanje farmaceutika s RO/NF membranama

Lijekovi ispušteni u okoliš prolaze kroz niz procesa koji u konačnici dovode do njihove razgradnje. Na taj način osim samih lijekova štetu dodatno donose njihovi degradacijski produkti. Membranski procesi su se pokazali kao učinkovitiji procesi za uklanjanje farmaceutika u odnosu na konvencionalne metode obrade. Na mehanizam uklanjanja farmaceutika utječu svojstva membrana i farmaceutika

Dolar i sur.[18] proveli su istraživanje uklanjanja enrofloksacina (ENRO) i njegovih razgradnih produkata s NF/RO membranama. Otopina enrofloksacina (10 mg/L, pH = 8) je ozračena umjetnim svjetlom tokom 2 sata. Kao rezultat razgradnje ENRO dobivena su tri produkta s različitim molekulskim masama. RO (LFC-1, SWC4+) i NF (NF90) membrane uklonile su gotovo sve spojeve (> 99,99 %), a ostale NF membrane (DK, NF, HL) su uklonile više od 92 %. Izuzetak je bio spoj s najmanjom molekulskom masom čiji je postotak uklanjanja s HL membranom bio 36,96 %. Za HL membranu uočeno je slabije uklanjanje i to se pripisuje raspodjeli veličine pora u membrani. Uklanjanje s HL membranom je pokazalo da je veličina molekula važan faktor u određivanju uklanjanja. MWCO za RO i NF90 je 100 Da i pore su manje od 0,9 nm.

U slijedećem radu Košutić i sur.[19] su istraživali uklanjanje onečišćivala nastalih u postrojenju za proizvodnju veterinarskih farmaceutika pomoću RO/NF procesa. Korištene su

tri različite RO/NF membrane (XLE, NF90 i HL) i odabrane tri različite klase antibiotika (sulfonamidi, diaminopiridinini i fluorokinolini). Postupak detekcije antibiotika uključuje prethodnu predobradu uzoraka ekstrakcijom na krutoj fazi (SPE) i analitičko određivanje na HPLC s DAD detektorom. Rezultati su pokazali potpuno uklanjanje svih antibiotika XLE i NF90 membranama. Samo je HL membrana nepotpuno uklonile manje molekule sulfonamida. Na mehanizam uklanjanja utječu veličina pora, naboj, te fizikalno-kemijske interakcije otopine i membrane. Budući da HL membrana ima najveće pore, s tim i najmanje uklanja farmaceutike.

Ismail i sur.[20] su ispitivali uklanjanje hormona i antibiotika NF membranama (NF200) u smjesi otopina. Određivan je mehanizam uklanjanja i zadržavanja tetraciklina, sulfonamida i hormona ovisno o učincima otopine, organske tvari i saliniteta. Tetraciklini imaju visoki afinitet adsorpcije na membrani i gotovo 80 % klortetraciklina se adsorbiralo na površini membrane dok su adsorpcijske stope hormona bile niže. Uklanjanje sulfonamida je nisko u usporedbi s hormonima i tetraciklinom. Dodatkom antibiotika u otopinu hormona došlo je do povećanja uklanjanja hormona i do potpunog uklanjanja tetraciklina. Na mehanizam zadržavanja/uklanjanja može utjecati nekoliko čimbenika kao što su adsorpcija i naboj. Učinkovitost uklanjanja se povećavala s molekulskom masom i veća je od 95 % za molekule preko 300 Da, a uklanjanje tetraciklina je potpuno jer je molekulska masa veća od 450 Da. Budući da je eksperiment rađen pri pH = 7 nisko uklanjanje sulfonamida može se pripisati nedostatku hidroksilnih grupa na strukturi.

Nghiem i sur.[21] su s NF membranama (NF90 i NF270) ispitivali zadržavanje organskih komponenata koje oponašaju hormone (bisfenol A, tertbutilfenol, nonilfenol). Uklanjanje je ispitivano promjenom ionske jakosti otopine, pH vrijednosti te prisutnosti organske tvari. Ukoliko je prisutna organska tvar ionska jakost ima utjecaj na mehanizam uklanjanja jer dolazi do interakcije membrane i otopljenih tvari, pH vrijednost za razliku od ionske jakosti otopine utječe na zadržavanje onečišćivala kod korištenja NF membrane.

U radu Amisha i sur.[22] ispitivana je mogućnost uklanjanja malih količina odabranih antibiotika RO/NF membranskim procesima iz otpadnih i površinskih voda. U obzir su uzimani promjenljivi sastavi vode, kao što su pH i prisutnost prirodnih organskih tvari. Rezultati su pokazali da je adsorpcija antibiotika na površini membrane zanemariva. No na mehanizam uklanjanja uvelike utječe promjena elektrostatskog odbijanja između nabijenih antibiotika i površine membrane. Oba antibiotika su pokazali velike vrijednosti uklanjanja kada je pH bio veći od pK_a vrijednosti. Sulfametoksazol (SMX) je pokazao veću vrijednost uklanjanja u odnosu na trimetoprim (TMP) kada je pH otopine bio isti. Molekulska masa

SMX je manja od TMP, SMX je negativno nabijen, a TMP je neutralan iznad pK_a vrijednosti. Ispod pK_a SMX je neutralan, a TMP pozitivno nabijen. Uklanjanje SMX kod vrijednosti ispod pK_a (neutralan) je jednaka uklanjanju TMP kod vrijednosti iznad pK_a vrijednosti (neutralan). Na temelju toga zaključeno je da uklanjanje antibiotika ovisi o elektrostatskim interakcijama između nabijenih antibiotika i površine membrane.

U sljedećem radu Amisha i sur.[23] procjenjivali su faktore odgovorne za uklanjanje odabranih antibiotika. Uz činjenicu da antibiotici posjeduju jedinstvena svojstva naboja pod različitim uvjetima vode, poput pH. U radu su korištene tri različite NF membrane (NE90, NF90 i NF270) i dva antibiotika SMX i karbadoks (CDX). U tumačenju separacije bilo je uključeno više mehanizama (npr. adsorpcija, elektrostatski efekti, steričke smetnje) koji kontroliraju uklanjanje. Kod NE90 i NF90 membrana stupanj uklanjanja za oba farmaceutika bio je veći od 90 %, dok je uklanjanje s NF270 membranom iznosilo između 52 i 100 %. pH dosta utječe na uklanjanje antibiotika, najvjerojatnije zbog promjene u karakteristikama antibiotika i naboja membrane. Uklanjanje oba antibiotika doseglo je na ≥ 95 %, zbog odbijanja istoimenih naboja kada su spojevi postali negativno nabijeni pri pH > 5,6 i > 9,6.

Hamad i sur.[24] su u radu ispitivali uklanjanje hlapljivih organskih spojeva (eng. *Volatile organic compounud,* VOCs). Sposobnost uklanjanja ispitivano je s dvije komercijalno dostupne NF (NF90) i RO (ESPA2) membrane. Testovi su provedeni sa šestnaest prisutnih hlapljivih organskih spojeva u kontaminiranim podzemnim vodama. Rezultati ispitivanja pokazuju da je učinkovitost uklanjanja bolja reverznom osmozom nego nanofiltracijom. Ova studija je pokazala da je sposobnost uklanjanja NF/RO membranama veća za hidrofilne hlapljive organske spojeve nego za hidrofobne spojeve. Uklanjanje NF/RO membranama iznosilo je 98,4 % i 100 %. Hidrofilne molekule se učinkovito uklanjaju na osnovu mehanizma separacije po veličini. Međutim hidrofobni se spojevi adsorbiraju na NF/RO membrane, a potom difundiraju kroz gustu polimernu matricu, što rezultira smanjenim uklanjanjem.

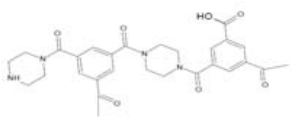
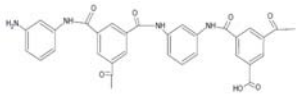
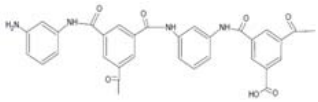
3. EXPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Membrane

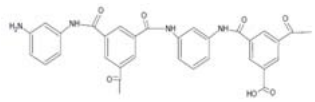
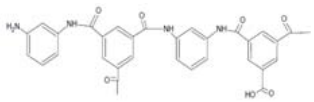
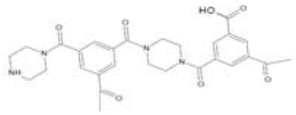
Pri izvedbi eksperimentalnog dijela ispitivan je utjecaj pH vrijednosti na mehanizam uklanjanja farmaceutika i u tu svrhu korišteno je 6 različitih komercijalnih kompozitnih RO/NF membrana dobavljenih od proizvođača Dow-Filmtec (SAD) te Toray (Japan). Od ispitivanih membrana XLE, BW30 te UTC-70HA spadaju u RO membrane, dok su NF, NF90 i NF270 nanofiltracijske membrane. Kemija selektivnog sloja NF i NF270 membrana je polipiperazinski amid, a RO membrana na bazi poliamida zajedno s NF90. Od strane proizvođača definirane su karakteristike membrana i prikazane u tablici 3.1.

Tablica 3.1. Karakteristike ispitivanih komercijalnih membrana.

SVOJSTVA	NF	XLE	UTC-70HA
Kemijska struktura poliamidnog sloja			
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 (/)	3 - 10	2 - 11	2 - 11
Faktor zadržavanja, R_f (/)	0,98[a]	0,99[b]	0,99
Protok permeata, *J*/ (L m^{-2} h^{-1})[g]	89,60 ± 0,81	101,84 ± 0,93	67,73 ± 8,55

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

Tablica 3.2. Karakteristike ispitivanih komercijalnih membrana.

SVOJSTVA	NF90	BW30	NF270
Kemijska struktura poliamidnog sloja			
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	2 - 11	2 - 11
Faktor zadržavanja, R_f (/)	➢ 0,97[d]	0,99[e]	➢ 0,97[f]
Protok permeata, *J*/ (L m^{-2} h^{-1})[g]	109,12 ± 0,80	45,32 ± 0,52	166,91 ± 2,17

[d]-*c*($MgSO_4$) = 2000 mg/L, *p* = 4,8 bar, *T* = 25 °C,
[e]-*c*(NaCl) = 2000 mg/L, *p* = 15,5 bar; *T* = 25 °C,
[f]-*c*($MgSO_4$) = 2000 mg/L, *p* = 4,8 bar, *T* = 25 °C,
[g]–dobiveno u ovom radu (N = 8).

Tablica 3.3. Zeta potencijal (mV) za RO/NF membrane pri pH = 4, 7 i 10

pH	NF[a]	XLE[a]	UTC70HA[b]	NF90[c]	BW30[b]	NF270[a]
4	-2,55	-1,43	-7,48	-	-1,50	-0,42
7	-5,52	-8,98	-14,98	-	-4,00	-2,93
10	-2,26	-9,31	-15,00	-	-3,50	-3,11

[a]-Drašinac 2014
[b]-Mustapić 2015
c- Nije dostupno

3.1.2. Farmaceutici

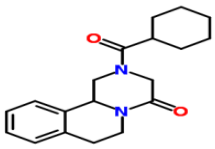
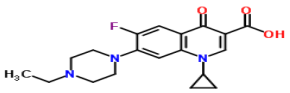
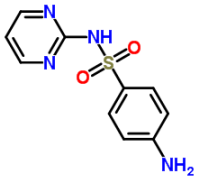
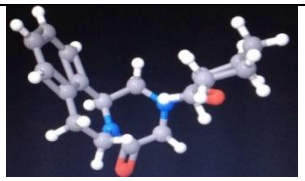
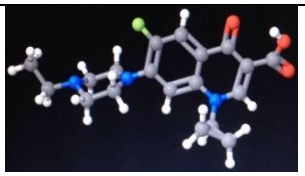
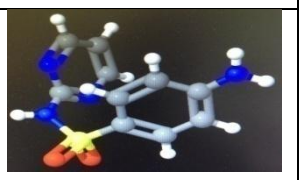
U ovom radu ispitivan je utjecaj pH vrijednosti na mehanizam uklanjanja tri veterinarska farmaceutika prazikvantel, enrofloksacin, sulfadiazin te njihova smjesa u koncentracijama od 10 mg/L. Poredani su u tablici od hidrofobnijih do hidrofilnijih prema pravilu da su komponente hidrofobne ako je log $K_{O/W} > 2,5$, ako je log $K_{O/W} < 2,5$ onda su hidrofilne.

Tablica 3.4. Lista odabranih farmaceutika.

Farmaceutik	IUPAC ime	Grupa farmaceutika	CAS No.
Prazikvantel *(eng. Praziquantel)*	(RS)-2-(Cyclohexylcarbonyl) - 1,2,3,6,7,11b hexahydro-4H-pyrazino (2,1-a)isoquinolin-4-one	anthelmintik	55268-74-1
Enrofloksacin *(eng. Enrofloxacin)*	1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid	antibiotik	93106-60-6
Sulfadiazin (*eng. Sulfadiazine*)	4-amino-N-pyrimidin-2-yl-benzenesulfonamide	antibiotik	68-35-9

U tablici 3.4. prikazana su fizikalno-kemijska svojstva pripremljenih farmaceutika koncentracije 10 mg/L. Pomoću otopine NaOH i HCl c = 0,1 mol/L pH otopina podešen je na vrijednosti od 4, 7 i 10, pri uvjetima tlaka od 10 bar i temperature T = 25,0 ± 0,5 °C.

Tablica 3.5. Fizikalno-kemijska svojstva prazikvantela, enrofloksacina i sulfadiazina

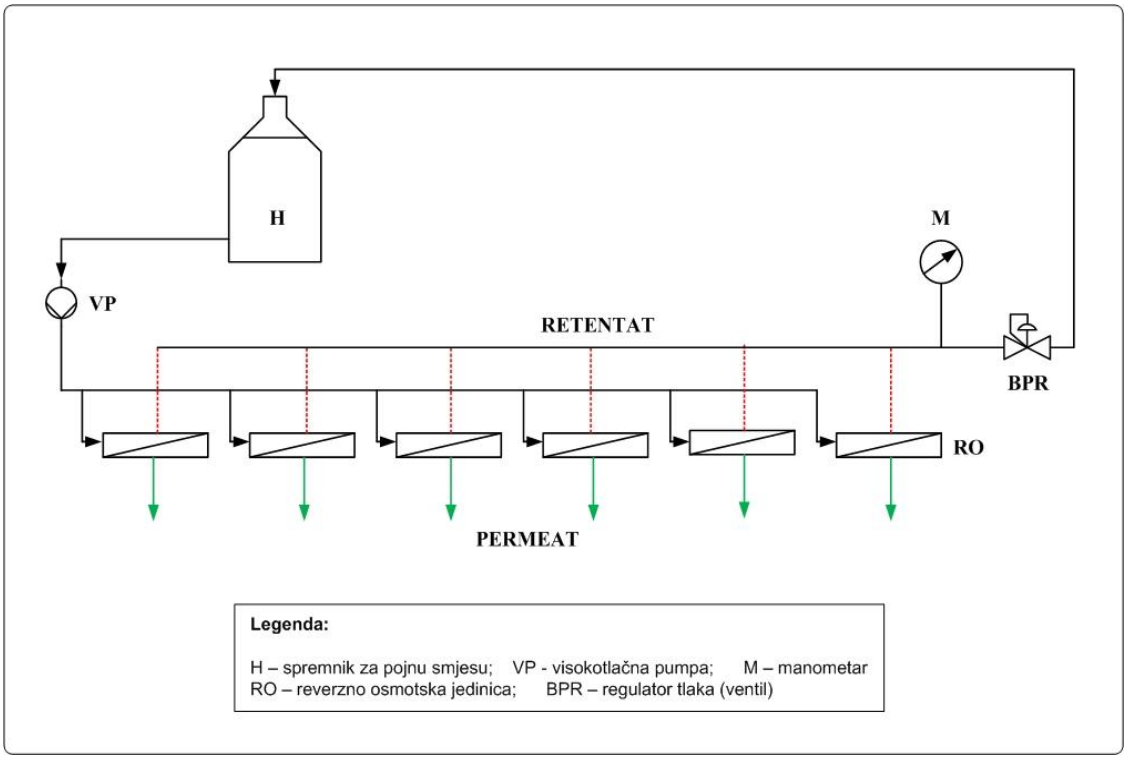
	Prazikvantel	**Enrofloksacin**	**Sulfadiazin**
MW (g/mol)[a]	312,4	359,4	250,3
Strukturna formula[a]			
3D strukturna formula[a]			
Veličina molekule (nm)[b]	X = 0,782 Y = 0,439 Z = 1,106	X = 0,724 Y = 0,398 Z = 1,428	X = 0,611 Y = 0,442 Z = 0,882
log $K_{O/W}$	2,42	0,70	-0,09
log *D* **pH=5,5** **pH=7,4**[a]	-0,09 -0,79	2,71 2,71	-1,49 -0,86
p*Ka*[a]	19,38	5,70 ; 7,97	2,69 ; 6,59
Dipolni moment, μ (D)[c]	3,25	10,48	7,40

[a]www. chemspider.com
[b]Hyperchem
[c]Gaussian

3.2. Uređaji za mjerenje

3.2.1. Laboratorijski RO/NF uređaj

Laboratorijski RO/NF uređaj upotrebljavan u izvedbi eksperimentalnog dijela rada sastoji se od šest paralelno spojenih membranskih jedinica koje su napravljene od inoks čelika, a u svakoj od njih se nalaze membrane površine 11,0 cm^2. Iz spremnika se u svaku od jedinica kontinuirano uvodi pojna smjesa modelne otopine farmaceutika potiskivanjem pomoću visokotlačne pumpe aksijalno preko površine membrane uz stalni prolaz permeata (gotovo čiste vode). Na slici 4. shematski je prikazan membranski uređaj.[25]



Slika 4. Shematski prikaz membranskog uređaja

3.2.2. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti za analizu uzoraka izvedena je na Varian ProStar 500 (Walnut Creek, California, USA) sustavu koji se sastoji od ProStar 410 uređaja za automatsko doziranje uzorka, ProStar 230 tercijarne pumpe, ProStar 330 detektora s nizom dioda (DAD), i termostatirane komore za kromatografsku kolonu, osobnog računala s Varianovim računalnim programom STAR 5,2 koji upravlja radom cijelog sustava, prikupljanjem i obradom podataka. ProStar 500 termostatiranog držača kolone i odabrane kolone InterSustain^{TM} C18 250 x 4,6 mm, 5 μm (GLSciences, Tokio, Japan) i predstavlja nepokretnu fazu dok se pokretna faza odnosila na binarnu smjesu otapala A (0,01 % mravlje kiseline u MilliQ vodi) i otapala B (0,01 % mravlje kiseline u acetonitrilu) uz gradijentno eluiranje. Odabrani protok pokretne faze bio je 0,5 mL/min. Valne duljine pri kojima su kromatogrami snimani iznosile su 210 nm za prazikvantel i sulfadiazin, a 285 nm za enrofloksacin. Uzorci su injektirani dva puta po 30 μL, pri protoku pokretne faze nakon analize kolona se prala otopinom acetonitrila (w = 65 %).

3.2.3. Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transfomacijom signala

U ovom radu koristio se infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transfomacijom signala (FTIR) Vertex 70 (Bruker Corporation, globalna kompanija) te je opremljen s MIR (eng. *Middle-InfraRed*) izvorom svjetla. MIR izvor svjetla emitira zraku svjetlosti u srednjem infracrvenom području od 370 do 7500 cm^{-1}. Kako bi se dobile željene informacije o mogućim interakcijama između membrana i farmaceutika snima se FTIR. Valna duljina na kojoj su snimani FTIR spektri iznosila je λ = 400 - 4000 cm^{-1}. Prvo se snimao pozadinski spektar (zrak) iz razloga da se izbjegnu pogreške prilikom snimanja, i zatim se snima uzorak membrane površine ≈0,5 x 0,5 cm.

3.2.4. pH metar

U radu pH metar se koristi za namještanje uzorka farmaceutika i uzoraka NaCl i $CaCl_2$ na željene vrijednosti od 4, 7 i 10. U izradi rada korišten je pH metar Schott CG 842 (Njemačka).

3.2.5. Konduktometar

Instrument je namijenjen mjerenju električne provodnosti otopina soli. U ovom radu pomoću konduktometra mjerila se vodljivost NaCl i $CaCl_2$ (ulazne otopine i permeata) pri različitim pH vrijednosti. Koristio se konduktometar Shott-Lab 960 (Njemačka).

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

Na samom početku izrezane su membrane na odgovarajuće dimenzije (A = 11,0 cm^2) i smještene u membranske jedinice. Korišteno je šest različitih reverzno osmotskih i nanofiltracijskih membrana: NF, NF90, NF270, BW30, XLE i UTC-70HA. Za svaku otopinu farmaceutika, koncentracije c = 10 mg/L, koristile su se nove membrane. Ispitivanja su rađena za svaki farmaceutik pri tri različita pH otopine (4, 7, 10) prethodno namještene pomoću otopina NaOH i HCl.

3.3.1.Predobrada i određivanje nazivnih svojstava membrana

1. Membrane nakon stavljanja u RO/NF membranske jedinice oprane su s oko 15 L vode kako bi se isprao konzervans, te su podvrgnute tlačnoj obradi (15 bar) u trajanju od 2 sata. Tijekom tlačne obrade određivan je protok svakih 30 min.
2. Slijedilo je ispitivanje na radnom tlaku (10 bar) u trajanju od 2 sata kada su se također uzimali protoci svakih 30 minuta.
3. Membrane su ispitane s anorganskim (NaCl i $CaCl_2$) solima koncentracije 500 mg/L radi kontrole nazivnih svojstava membrana. Mjerenja su rađena pri pH 4, 7 i 10 i tlaku od 10 bar. Nakon svake otopine anorganskih soli membrane su isprane s oko 20 L vode.

3.3.2. Ispitivanje mehanizma zadržavanja farmaceutika ispitivanim membranama

Nakon preliminarnih pokusa s otopinama anorganskih soli, membrane su testirane s otopinama farmaceutika prazikvantela, enrofloksacina i sulfadiazina, koncentracije c = 10 mg/L. Sva ispitivanja rađena su pri navedenim pH vrijednostima, tlaku od 10 bar i temperaturi 25,0 ± 0,5 °C.

1. Otopina farmaceutika propuštana je 4 sata i protoci su praćeni svakih 30 minuta (prva 2 sata rada), i nakon toga svakih sat vremena. Uzorci za analizu na HPLC uzeti su na početku (nulto radno vrijeme) i svakih sat vremena.
2. Nakon propuštanja farmaceutika, membrane su oprane s oko 30 L demineralizirane vode. Tijekom pranja protoci su se određivali svakih 30 minuta.
3. Zadnji korak, nakon pranja membrana, bilo je sušenje ispitivanih membrana radi određivanja strukturalne analize membranske površine pomoću FTIR-a. Membrane su se sušile u sušioniku na 35 ºC tijekom 15 sati.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu ispitan je utjecaj pH otopine (pH=4, 7 i 10) na mehanizam uklanjanja farmaceutika pomoću RO/NF membrana. Odabrana su tri farmaceutika (prazikvantel, enrofloksacin i sulfadiazin), te tri RO (XLE, BW30 i UTC-70HA) i tri NF (NF, NF90 i NF270) membrane. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi mehanizam zadržavanja farmaceutika iz voda pomoću RO/NF membrana.

4.1. Karakterizacija membrana

Na samom početku membrane su tretirane s anorganskim solima (NaCl, $CaCl_2$), da bi se provjerila nazivna svojstva odabranih RO/NF membrana. U tablici 4.1. prikazani su faktori zadržavanja natrijevog i kalcijevog klorida te njihov protok kroz membrane, u kiselim, neutralnim i lužnatim uvjetima (4, 7, 10). Prema Donnanovoj teoriji u koncentracijskoj ravnoteži slijed odbacivanja bi trebao biti R(NaCl) > R($CaCl_2$), kod negativno nabijenih membrana, i obratno za pozitivno nabijene membrane. U ovom radu sve ispitivane membrane su negativno nabijene, no kako se povećava pH, raste i njihova negativnost, s izuzetkom NF membrane. Gamze i sur.[26] uočili su da kod membrana s negativnim nabojem dolazi do smanjenog uklanjanja NaCl pri nižim vrijednostima pH, dok je za $CaCl_2$ obrnuto. Slično ponašanje uklanjanja kao funkcije pH dobili su Xu i sur.[27], za NaCl, smanjeno uklanjanje smanjivanjem pH u kiselom području i povećano uklanjanje smanjivanjem pH u bazičnom mediju. Očito je da pH efekt ima jak utjecaj na uklanjanje NaCl i $CaCl_2$. NF membrane imaju veće pore od RO membrana, time i veće protoke otopine, što rezultira smanjenim uklanjanjem malih i manje nabijenih iona poput NaCl, u odnosu na RO membrane. Zbog većih pora kod NF membrana u odnosu na RO membrane, uklanjanje soli NF membranama može ovisiti i o veličini i o Donnanovom efektu. Dakle utjecaj pH na uklanjanje soli možda je izraženiji za NF membrane, jer Donnanov efekt postaje sve važniji kako površina membrane postaje negativnija povećanjem pH. Budući da je kod RO membrana dominantan mehanizam isključenja veličinom, učinak pH kod uklanjanja je manji.[28,29]

Tablica 4.1. Faktori zadržavanja i protoci anorganskih soli pri pH = 4, 7 i 10 za RO/NF membrane (u zagradama je prikazano standardno odstupanje mjerenja pojedinih parametara)

Anorganska sol (pH= 4)	Membrana					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
NaCl						
$J/(L\ m^{-2}\ h^{-1})$	93,84 (4,89)	84,74 (4,64)	47,73 (14,27)	82,77 (4,28)	34,67 (5,32)	159,49 (8,98)
$R_f/(\%)$	22,19 (1,60)	76,50 (2,31)	91,45 (2,35)	72,11 (3,25)	73,98 (5,85)	22,86 (2,56)
$CaCl_2$						
$J/(Lm^{-2}\ h^{-1})$	85,18 (4,57)	85,93 (4,08)	50,17 (1,68)	83,21 (3,47)	34,92 (7,05)	140,48 (5,69)
$R_f/(\%)$	54,95 (1,68)	71,03 (1,76)	88,40 (3,84)	73,64 (1,57)	70,44 (3,83)	59,89 (2,59)
Anorganska sol (pH= 7)	Membrana					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
NaCl						
$J/(L\ m^{-2}\ h^{-1})$	88,38 (8,78)	89,73 (4,62)	40,70 (9,71)	88,18 (2,56)	34,46 (9,89)	146,10 (4,62)
$R_f/(\%)$	65,53 (0,80)	93,94 (0,71)	94,50 (0,53)	81,09 (0,47)	85,76 (4,84)	54,28 (3,04)
$CaCl_2$						
$J/(L\ m^{-2}\ h^{-1})$	84,22 (7,48)	94,74 (3,68)	42,25 (10,14)	90,45 (3,81)	34,05 (12,52)	144,05 (4,94)
$R_f/(\%)$	35,11 (2,40)	95,43 (0,96)	91,31 (1,74)	91,54 (3,51)	85,43 (8,02)	37,99 (2,76)
Anorganska sol (pH= 10)	Membrana					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
NaCl						
$J/(L\ m^{-2}\ h^{-1})$	103,09 (12,35)	87,87 (2,16)	36,56 (3,94)	84,40 (3,84)	35,85 (7,45)	164,87 (12,88)
$R_f/(\%)$	60,97 (2,98)	96,34 (0,65)	94,51 (2,55)	84,66 (3,02)	91,02 (1,78)	53,06 (4,60)
$CaCl_2$						
$J/(L\ m^{-2}\ h^{-1})$	84,27 (4,49)	90,63 (1,24)	37,36 (4,20)	83,14 (4,68)	36,70 (8,62)	140,23 (11,59)
$R_f/(\%)$	31,91 (1,39)	96,28 (1,15)	90,36 (4,08)	89,69 (2,22)	91,41 (1,92)	27,70 (3,04)

U tablici 4.1., vidljivo je da je faktor zadržavanja anorganskih soli pri pH = 4 najveći kod RO UTC-70HA membrane i iznosi 91,45 % za NaCl, i 88,40 % za $CaCl_2$. Također razlike između zadržavanja NaCl i $CaCl_2$ kod RO membrana puno su manje nego kod NF i NF270 membrana. Faktor zadržavanja anorganskih soli kod pH = 4 je općenito veći kod RO membrana. Razlog tome je manja veličina pora kod RO membrana nego kod NF membrana. Većina pora za XLE membrane smještena je oko 0,5 nm, tj. 0,55 nm, a ujedno je i MWCO 100 Da.[1] Sličnu veličinu pora za XLE membrane (≈0,6 nm) dobili su i Košutić i sur.[30] u svojim ispitivanjima. BW30 membrane se mogu klasificirati kao guste RO membrane no zadržavanje NaCl ovim membranama je nešto više nego NF90 membranama. Najmanje zadržavanje je postignuto s NF (NF i NF270) membranama, kao rezultat njihove rahle i otvorene strukture. Također je vidljivo da je protok otopine anorganskih soli najveći s NF270 i NF membranama zbog istih razloga. Isto tako kod radnih uvjeta od pH = 4 vidljivo je da je s tim membranama faktor zadržavanja veći kod $CaCl_2$, dok je kod svih ostalih membrana faktor zadržavanja veći za NaCl.

U neutralnim uvjetima najveći faktor zadržavanja anorganskih soli je također prisutan kod RO membrana, a najmanje zadržavanje vidljivo je kod nanofiltracijske NF i NF270 membrane. Jedina opaska koja je bitno drugačija je da se faktor zadržavanja anorganskih soli s povećanjem pH sa 4 na 7 povećao za sve reverzno osmotske i NF90 membrane. Kod nanofiltracijskih NF i NF270 membrana faktor zadržavanja $CaCl_2$ je pao na 35,11 i 37,99 %. Slične rezultate dobili su i Simon i sur.[31] u svojim istraživanjima. Za prosječnu veličinu pora NF270 membrane ≈0,84 nm zadržavanje NaCl bilo je veće nego za $CaCl_2$. Takvi faktori zadržavanja rezultat su većih pora kod NF270 membrane i veličine disociranih iona u otopini. Kloridnih iona više je na strani $CaCl_2$ te membrane nisu jako negativno nabijene (zeta potencijal pri pH 7 za NF i NF270 bio je -5,52 mV odnosno -2,93 mV pa lakše penetriraju kroz membranu i s time je zadržavanje slabije.[3]

U radnim uvjetima pri pH = 10 vidljivo je povećanje faktora zadržavanja za NaCl kod RO i nanofiltracijske NF90 membrane. Najveće zadržavanje NaCl primijećeno je kod XLE membrane R = 96,34 %, dok je najmanje prisutno kod NF270 membrane. Faktori zadržavanja $CaCl_2$ su se za većinu membrana smanjili, jedino se kod XLE i BW30 membrane vidi malo povećanje 96,28 %, odnosno 91,41 %. To se može pripisati negativnijem naboju tih membrana s povećanjem pH vrijednosti, pa dolazi do većeg zadržavanja kloridnih iona. Dobiveni rezultati se u većini slažu s dobivenim u radu Dolar i sur.[32] koji kažu da prema faktoru uklanjanja tih dviju soli postoje velike razlike između RO i NF membrana. Za RO

membrane razlike između NaCl su vrlo male, jer glavni mehanizam uklanjanja je isključenje veličinom. Za nanofiltracijske NF90 membrane razlika je manja, s obzirom da se radi o gustim nanofiltracijskim membranama koje su vrlo slične RO membranama. Kod ostalih membrana postoji razlika između te dvije soli zbog prisustva dodatnog isključenja nabojem, odbijanje NF membrana i nabijenih dvovalentnih iona. RO i gusta NF90 membrana su unimodalne dok su ostale NF membrane bimodalne.

4.2. Separacija odabranih farmaceutika

Uzorci permeata i ulazne otopine uzimani su svakih sat vremena u vremenskom razdoblju od 4 sata te je u svim pokusima izmjerena sposobnost zadržavanja membrane izražena faktorom zadržavanja otopljene tvari. Faktor zadržavanja (R_f) računa se prema jednadžbi: [1]

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

gdje su: c_u – koncentracija ulazne otopine [mg L^{-1}],

c_p – koncentracija permeata [mg L^{-1}].

Od tri moguća mehanizma separacije, mehanizma isključenja po veličini (efekt prosijavanja), mehanizma isključenja nabojem i mehanizma koji se temelji na interakcijama membrana - otopljena tvar, za separaciju antibiotika relativno velikih molekulskih masa ključan je mehanizam prosijavanja. Prema literaturnim podacima poznato je da uklanjanje otopljenih tvari RO/NF membranama zavisi o pH otopine, naboju otopljenih tvari, molekulskoj masi (MW), te naboju membrane. Povećanjem pH vrijednosti, povećava se negativni površinski naboj membrane koji rezultira povećanjem elektrostatskog odbijanja između negativno nabijene otopine i membrane.[33] Izuzetak čini nanofiltracijska NF membrana kod koje se pri pH 10 smanjila negativnost, moguće da je došlo do protonacije amino i karbonilnih skupina. Otopljeni organski spojevi se najbolje separiraju s membranama čija je MWCO (Da) vrijednosti manja.

4.2.1. Utjecaj pH na mehanizam separacije prazikvantela RO/NF membranama

Tablica 4.2. Faktori zadržavanja (%) prazikvantela pH = 4, 7 i 10 u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana

t, h pH = 4	Membrana					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	95,32	95,71	85,96	96,20	95,22	80,02
1	94,82	95,93	86,44	96,52	93,51	78,03
2	93,29	95,82	88,63	96,70	93,68	77,36
3	92,81	96,01	88,72	96,89	93,77	77,72
4	92,68	96,19	89,84	96,78	92,87	77,83
t, h pH = 7	**Membrana**					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	97,29	94,79	91,76	97,29	93,95	79,25
1	95,98	95,60	90,24	97,42	90,53	80,19
2	95,79	95,51	89,01	97,51	90,25	80,40
3	95,89	95,98	89,20	97,80	89,96	80,40
4	95,89	95,89	89,77	97,51	89,29	81,64
t, h pH = 10	**Membrana**					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	94,94	97,31	89,57	96,49	96,90	76,14
1	92,54	97,14	87,64	96,42	94,28	71,50
2	91,11	97,24	87,84	96,63	93,67	70,17
3	91,08	97,29	88,28	96,69	93,89	71,44
4	91,24	97,58	88,52	96,78	93,66	71,80

Prazikvantel je od tri ispitana farmaceutika po molekulskoj masi (MW = 312,4 g/mol) između ostala dva farmaceutika. Mogao bi se smatrati hidrofobnim, s obzirom da mu log $K_{O/W}$ vrijednost iznosi 2,42. Pri svim istraživanim pH (4, 7 i 10) vrijednostima prazikvantel se nalazi u protoniranom obliku (pK_a = 19,38). Faktori zadržavanja prazikvantela pri pH = 4, 7 i 10 na ispitanim RO/NF membranama kroz 4 sata prikazani su u tablici 4.2., protoci prazikvantela pri pH (pH=4,7 i 10) prikazani su na slikama 5., 6. i 7.

Iz tablice 4.2., pri kiselim radnim uvjetima vidi se visoka učinkovitost uklanjanja prazikvantela RO (XLE i BW30) i NF (NF90, NF) membranama, a tek djelomično slabiji rezultati su postignuti s rahlom NF270 membranom. Najveće zadržavanje prazikvantela u kiselim uvjetima (pH = 4) dobiveno je s NF90 membranom i iznosi 96,20 – 96,89 %, za njom je odmah slijedi XLE membrana s 95,71 – 96,19 %, a također dobro zadržavanje prikazuju NF i BW30 membrane. Najmanje uklanjanje prazikvantela je prisutno kod NF270 membrane i to se može pripisati njezinoj otvorenoj i rahloj strukturi. Zbog istog tog razloga nanofiltracijska NF270 membrana ima najveće vrijednosti protoka kao što je vidljivo na grafičkom prikazu protoka prazikvantela, a sukladno s tim RO membrane (XLE, BW30 i 70HA) s malim porama pokazuju niže vrijednosti protoka. Gušća porozna struktura (manje dimenzije pora) XLE i NF90 membrana rezultira visokim stupnjem separacije prazikvantela 95,71 – 97,31 %

Molekulska masa prazikvantela iznosi 312,4 g mol^{-1}, može se smatrati relativno velikom molekulom pa se iz tog razloga dobro uklanja s membranama niže MWCO vrijednosti. Kod nanofiltracijske NF270 membrane MWCO iznosi 150 – 300 Da i to je još jedan razlog smanjenom uklanjanju. Prema Bellonu i sur.[33] koncept MWCO je baziran na činjenici da je veličina molekule adekvatna vrijednosti molekulske mase pa efekt isključenja po veličini dolazi do izražaja, veća molekula biva puno bolje uklonjena od manje molekule. Otopljene tvari mogu biti odbijene s jednim ili kombinacijom tri osnovna mehanizma: na osnovu veličine, isključenjem naboja i fizikalno-kemijske interakcije između otopljene tvari, otapala i membrane. Usporedbom karakteristika membrana s dobivenim rezultatima prazikvantela može se zaključiti da je dominantan mehanizam isključenja prema veličini

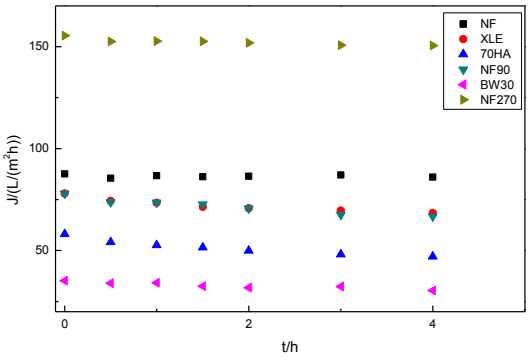
Pretpostavka je da je prazikvantel pozitivno nabijen pri pH = 4, dok su membrane blago negativno nabijene zbog čega bi moglo doći do slabog elektrostatskog privlačenja. Dipolni moment orijentiran je prema izokinolinu koji se nalazi na „glavi“ molekule, stoga je većina naboja unutar molekule koncentrirana u tom smjeru, te se zbog navedenog

prazikvantel može lagano orijentirati tom stranom prema površini membrane i ući u same pore membrane.

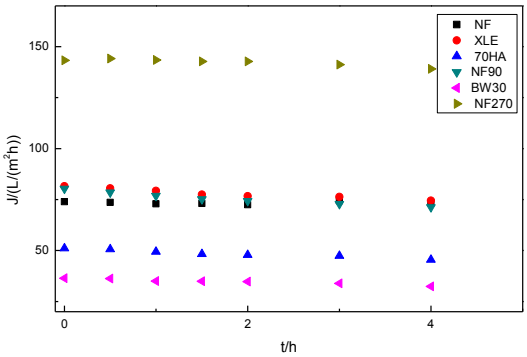
U neutralnim radnim uvjetima uklanjanje prazikvantela se ne razlikuje drastično u usporedbi s pH = 4, no učinkovitost uklanjanja za sve prisutne membrane je porasla. I dalje je prisutna visoka učinkovitost separacije s gustim nanofiltracijskim (NF90) i RO (XLE) membranama koja iznose 94,79 – 97,80 %. Prema Yangali-Quintanilla i sur.[34] čista NF90 membrana uklanja gotovo potpuno sve hidrofobne komponente (95 – 98 %), većinom zbog mehanizma isključenja veličinom. Kod NF membrane vidi se blago povećanje i to se može povezati s time što je naboj te membrane pri pH = 7 najnegativniji (-5,52) i samim time se pretpostavlja da je prisutno elektrostatsko privlačenje između farmaceutika i membrane. Najmanje uklanjanje je dobiveno s rahlom NF270 membranom. Budući da pK_a vrijednost farmaceutika iznosi 19,38, a pri pH = 7 prazikvantel se nalazi u protoniranom obliku i pozitivno je nabijen pa se pretpostavlja da su prisutne interakcije i elektrostatsko privlačenje budući da je zeta potencijal pri tlačnoj obradi membrana negativan za sve ispitivane membrana. Kod RO (XLE i UTC-70HA) membrana prisutan je najnegativniji naboj (-8,98 i -14,98) pa se pretpostavlja da će doći do najvećeg elektrostatskog privlačenja funkcionalnih grupa membrana i farmaceutika. Također je bitno napomenuti da su povećanjem pH vrijednosti s 4 na 7 membrane postale negativnije pa je stoga prisutan i mehanizam isključenja nabojem. Za većinu tankoslojnih kompozitnih membrana naboj u neutralnim vodenim otopinama je negativan i to se pripisuje disocijaciji sulfonskih i karboksilnih skupina na površini membrane.[35]

Kod koeficijenta zadržavanja prazikvantela pri pH = 10, vidljivo je da je najveće zadržavanje prisutno kod XLE membrane i iznosi 97,14 – 97,58 %. Kod nanofiltracijske NF membrane vidi se pad u odnosu na pH = 7, i mali pad pri pH = 4. Također je vidljivo da je kod većine ispitivanih RO/NF membrana koeficijent zadržavanja najveći pri pH = 7. Naboj NF membrane pri pH = 10 iznosi -2,26 i najpozitivniji je od preostala dva pH i stoga se pretpostavlja da je došlo do deprotonacije i najmanje je izraženo, ali također prisutno elektrostatsko privlačenje između membrane i farmaceutika. Prazikvantel je pozitivno nabijen pri svim pH vrijednostima, stoga su i ovdje prisutne elektrostatske interakcije. Budući da se prazikvantel smatra hidrofobnom komponentom s obzirom na log $K_{O/W}$ vrijednost, faktor zadržavanja se smanjuje s većinom membrana, a najviše je izražen kod NF, BW30 i NF270 membrana. Razlog tome je što prazikvantel s vremenom penetira kroz membranu. U radu Dolara i sur.[32] RO membrane su u potpunosti uklonile ispitivane farmaceutike. Glavni

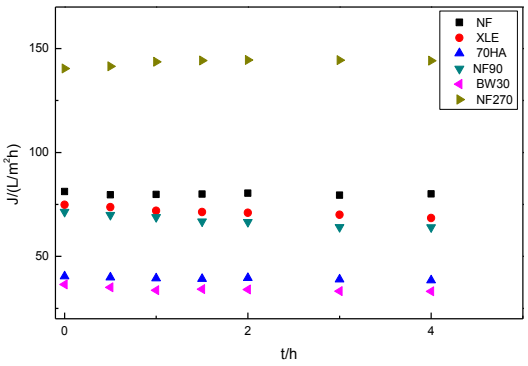
mehanizam uklanjanja predstavljao je mehanizam isključenja po veličini kao rezultat molarne mase farmaceutika i MWCO membrane.



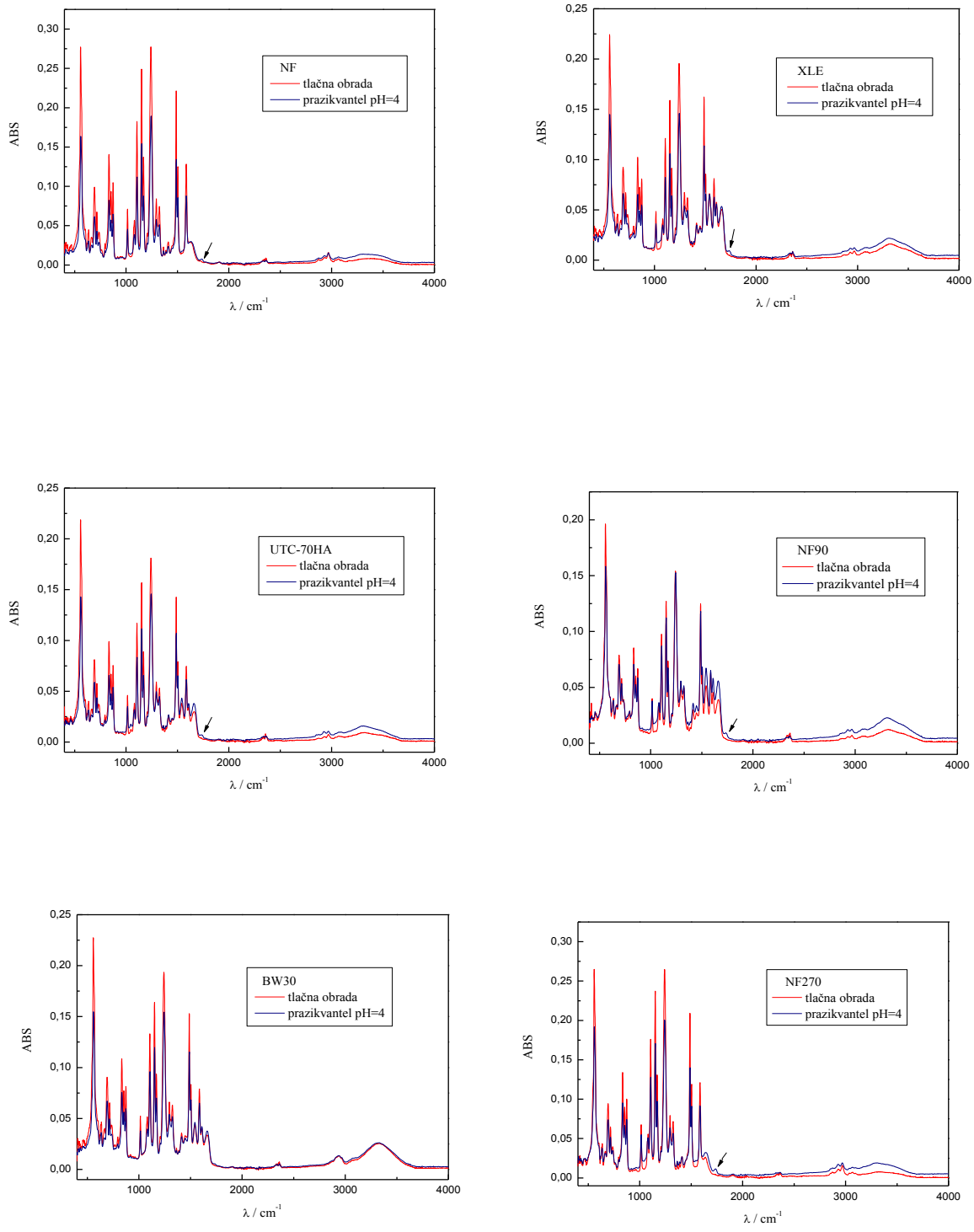
Slika 5. Protok prazikvantela pH = 4



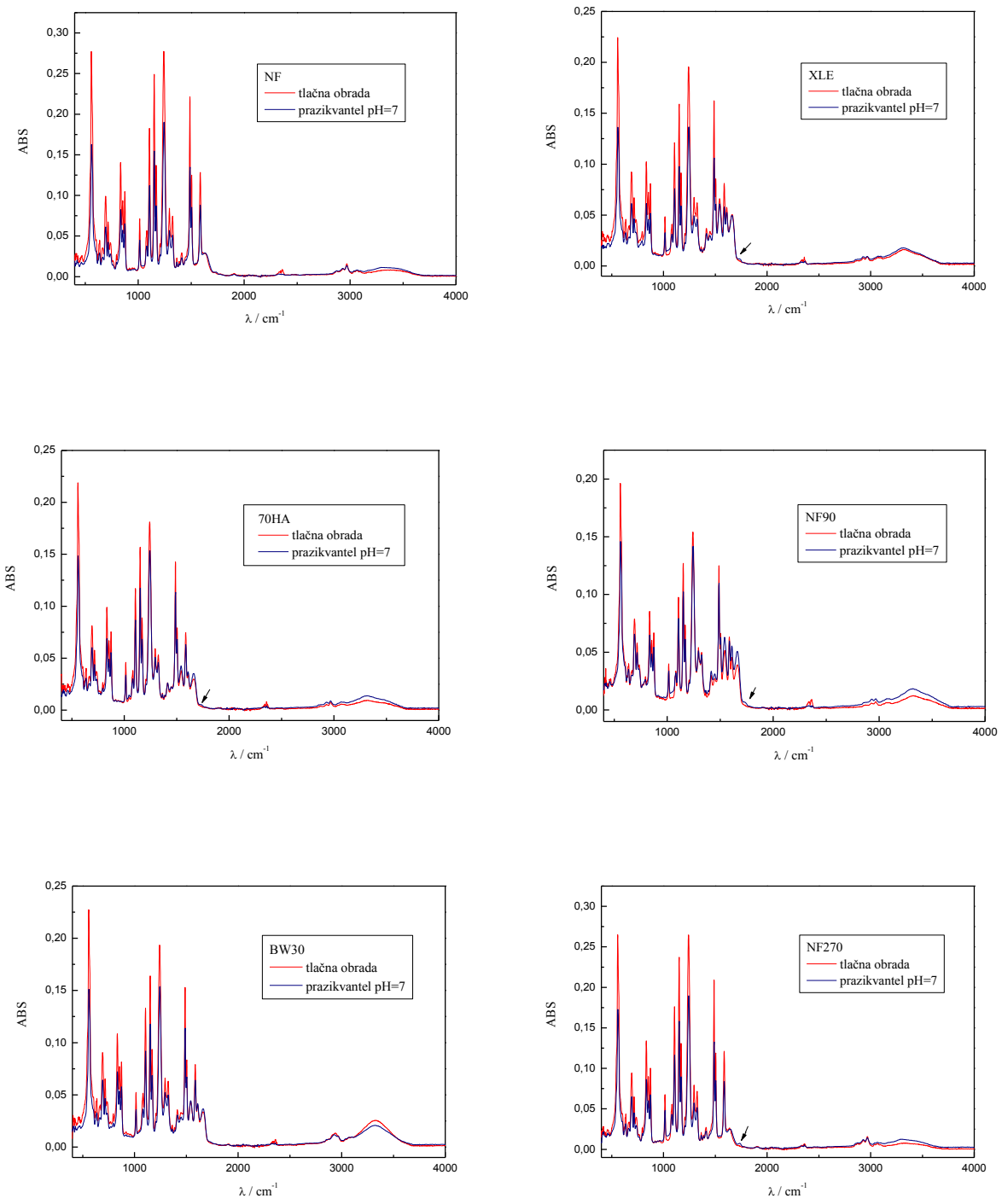
Slika 6. Protok prazikvatela pH = 7



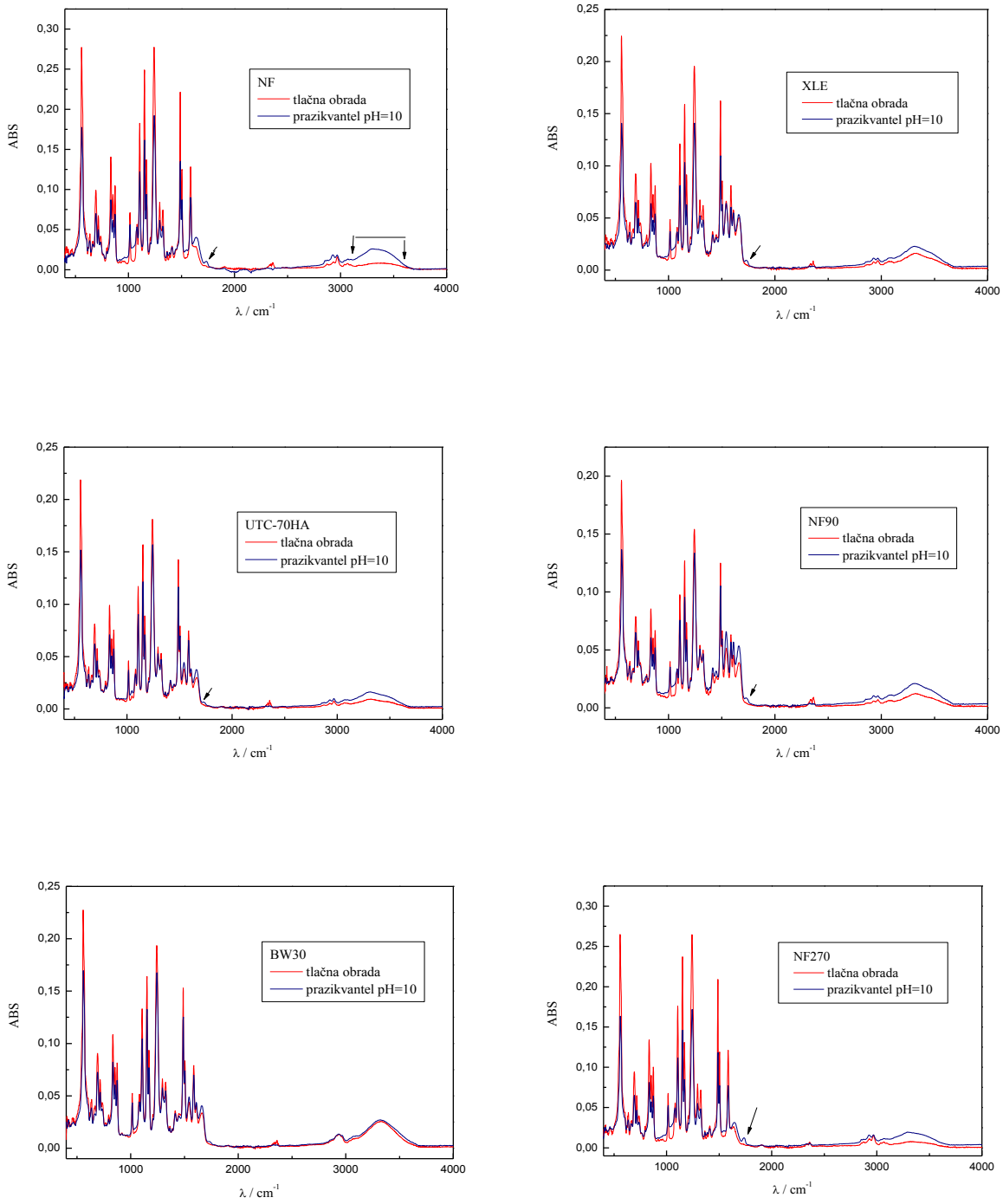
Slika 7. Protok prazikvantela pH = 10



Slika 8. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom prazikvantela pH = 4



Slika 9. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom prazikvantela pH = 7



Slika 10. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom prazikvantela pH = 10

Analizom FTIR spektra prazikvantela pri pH = 4 vidljivo je da su kod nanofiltracijskih (NF, NF90, NF270) membrana na području 1734 cm^{-1} prisutne vibracije karbonilnih skupina. Kod RO (XLE, UTC-70HA) membrana su također na 1734 cm^{-1} prisutne vibracije karbonilnih skupina, dok kod BW30 membrane nisu vidljive interakcije.

FTIR spektar prazikvantela kod pH = 7 također pokazuje da kod BW30 membrane nisu prisutne interakcije. Kod XLE membrane su prisutne vibracije karbonilnih skupina na 1734 cm^{-1}, koje su prisutne i kod UTC-70HA membrane u istom području. Vibracija karbonilnih skupina je također prisutna kod NF270 i NF90 membrane na istom području (1734 cm^{-1}).

Pri pH = 10 FTIR spektar je pokazao da su prisutne interakcije prazikvantela i većine NF/RO membrana, osim u slučaju BW30 i NF membrane. Kod nanofiltracijskih (NF90 i NF270) te kod XLE i UTC-70HA membrana prisutne su vibracije karbonilnih skupina na području od 1734 cm^{-1}. Kod ispitivane NF membrane također je prisutno i postojanje H-veza u području od 3132 – 3603 cm^{-1}.

Budući da je s NF270 membranom dobiven relativno niski faktor zadržavanja prazikvantela, FTIR spektar pokazuje interakcije s farmaceutikom tako da osim mehanizma isključenja po veličini treba u obzir uzeti i interakcije između membrane i farmaceutika.

4.2.2. Utjecaj pH na mehanizam separacije enrofloksacina RO/NF membranama

Enrofloksacin spada u skupinu fluorokinolona u čijoj strukturi postoji nekoliko ionizirajućih funkcionalnih skupina. To su piperazinilna skupina i karboksilna skupina koje su odgovorne za postojanje dviju pK_a vrijednosti koje iznose 5,70 i 7,97. Prva konstanta ionizacije povezuje se s protonizacijom piperazinske grupe, a druga konstanta je odgovorna za disocijaciju karboksilne skupine. Elektroforetska pokretljivost je pozitivna do približno pH = 7. U pH području od 7 - 11 elektroforetska mobilnost ima negativnu vrijednost, jer se deprotonacijom karboksilnih grupa pojavljuju negativno nabijene čestice.[36] Budući da log $K_{O/W}$ vrijednost enrofloksacina iznosi 0,70, ova se molekula smatra hidrofilnom pa se može pretpostaviti da neće doći do interakcija s membranama. Enrofloksacin je najveća od ispitivanih molekula (MW = 359,40 g/mol) i pretpostavka je da će doći do najvećeg zadržavanja s obzirom na ostale ispitivane komponente. U tablici 4.3., prikazani su koeficijenti zadržavanja enrofloxacina kroz 4 sata pri pH (4, 7 i 10) na prisutnim RO/NF membranama.

Tablica 4.3. Faktori zadržavanja (%) enrofloksacina pH = 4, 7 i 10 u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana

t, h pH = 4	Membrana					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	96,86	98,81	98,22	98,81	96,86	97,29
1	99,75	99,12	96,63	97,66	95,75	97,95
2	96,57	99,36	97,76	97,36	92,25	98,24
3	96,24	98,99	95,59	96,69	92,93	98,62
4	97,15	98,52	95,18	96,65	83,76	98,43
t, h pH = 7	**Membrana**					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	98,65	>99,99	99,89	99,10	98,65	98,99
1	98,34	99,89	99,11	98,78	96,89	99,00
2	98,05	99,13	99,24	99,13	96,63	97,50
3	98,56	99,28	98,97	98,56	94,45	98,87
4	98,29	99,10	98,80	99,10	94,68	97,79
t, h pH = 10	**Membrana**					
	NF	**XLE**	**UTC-70HA**	**NF90**	**BW30**	**NF270**
0	98,12	>99,99	99,40	98,80	94,81	97,82
1	96,68	99,31	97,17	98,55	88,37	96,26
2	95,21	99,25	97,88	97,81	87,27	96,85
3	95,36	99,09	98,03	98,31	74,38	96,76
4	95,83	98,61	97,48	97,65	60,70	96,78

U tablici 4.3., vidljivo je da enrofloksacin pri pH = 4 ima veći faktor zadržavanja dobiven na svim ispitivanim membranama u odnosu na prazikvantel pri istim radnim uvjetima. Pretpostavlja se da je tome razlog njegova veća molekulska masa, a mehanizam separacije bio bi temeljen na isključenju po veličini. Kod enrofloksacina prisutna je visoka učinkovitost uklanjanja antibiotika sa svim reverzno osmotskim i gustim nanofiltracijskim membranama, čak je i kod rahle NF270 membrane postignut visok stupanj uklanjanja 97,29 – 98,62 %. Prema Braeken i sur.[37] što je veća molekula, to je manji utjecaj hidrofobnosti na zadržavanje. Najveći koeficijent zadržavanja nalazi se kod XLE membrane i iznosi R = 98,52 – 99,36 % i to se pripisuje njezinim porama manjih dimenzija. Košutić i sur.[19] su u svom radu pokazali da se separacija kreće od 97,0 – 99,4 % s RO/NF membranama (XLE, NF90 i HL), a rezultati ovog ispitivanja ovdje to potvrđuju. Dolar i sur.[38] su također u svom radu dobili visoke vrijednosti uklanjanja enrofloksacina i njegovih razgradnih produkata reverzno osmotskim i gustim NF membranama. Uklanjanje enrofloksacina i njegovih razgradnih produkata bilo je gotovo potpuno i iznosilo je > 99,9 %. Na temelju rezultata zaključili su da je dominantan mehanizam uklanjanja bio isključenje veličinom. Također su bile prisutne fizikalno-kemijske interakcije i elektrostatsko privlačenje/odbijanje kod uklanjanja manjih razgradnih produkata rahlom NF membranom.

Najvjerojatnije su prisutne i elektrostatske interakcije budući da se enrofloxacin pri pH = 4 nalazi u protoniranom obliku, dok je zeta potencijal ispitanih membrana u tim uvjetima negativno nabijen. U slučaju ENRO može se pretpostaviti da adsorpcija nije utjecala na uklanjanje, jer log $K_{O/W}$ vrijednost iznosi 0,70. Prema Dolaru i sur. [38] poznato je da hidrofilni organski spojevi ne adsorbiraju na polimernoj matrici, a većina testiranih membrana ima relativno hidrofoban karakter.

Enrofloksacin je komponenta sa najvećom vrijednosti dipolnog momenta od preostala dva farmaceutika (10,48). Veća vrijednost dipolnog momenta ukazuje na veće razlike u rapodjeli pozitivnog i negativnog naboja u molekuli. Dipolni moment enrofloksacina je orijentiran prema piperazinskoj skupini, stoga je većina naboja unutar molekule koncentrirana u tom smjeru, te se zbog navedenog enrofloksacin orijentira tom stranom prema površini membrane, i na koncu ulazi u same pore membrane.

U tablici 4.3., prikazani su koeficijenti zadržavanja enrofloksacina pri pH = 7 te se vidi visoka učinkovitost uklanjanja antibiotika reverzno osmotskim i gustim nanofiltracijskim membranama. U usporedbi s rezultatima dobivenim pri pH = 4 vidljivo je da se zadržavanje komponente povećalo pri svim ispitivanim RO/NF membranama. Prema Bellonu i sur.[33] povećanjem pH otopine dovodi do povećanja negativnog naboja površine membrane što

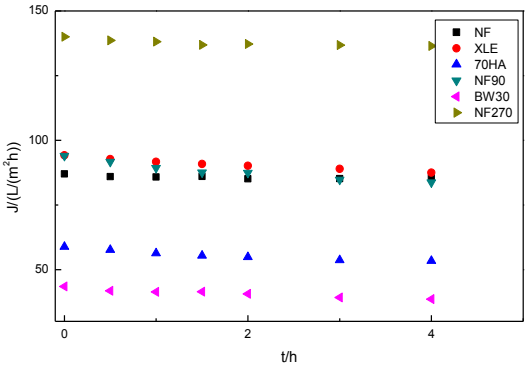
dovodi do povećanja postotka otopljene tvari u deprotoniranom stanju, a pritom se povećava uklanjanje kroz elektrostatsko odbijanje.

Kod reverzno osmotske XLE membrane dobiveno je gotovo potpuno uklanjanje enrofloksacina (> 99,99 %) budući da MWCO membrane iznosi 100 Da. Visoki koeficijent zadržavanja prisutan je i kod reverzno osmotske UTC-70HA membrane i iznosi R = 98,80 - 99,89 %. Najmanji koeficijent zadržavanja prisutan je kod RO (BW30) i NF (NF270) membrane i to se može pripisati naboju površina membrane (-4,00 i -2,93), koji ih čini najmanje negativnim pri tim uvjetima. Pretpostavlja se da je glavni mehanizam uklanjanja mehanizam isključenja po veličini.

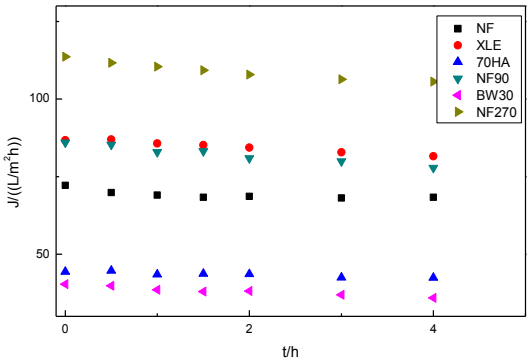
U neutralnim uvjetima ENRO se ponaša kao dipolarni ion.[39] S obzirom da se pri uvjetima od pH = 7 enrofloksacin nalazi kao zwitter ion te se može nalaziti u protoniranom i deprotoniranom stanju (pK_a = 5,70, 7,97), pretpostavlja se da postoje elektrostatske interakcije privlačenja/odbijanja jer su membrane pri pH = 7 najnegativnije nabijene.

Vidljivo je da koeficijenti zadržavanja enrofloksacina pri pH = 10 znatno padaju uspoređujući ih sa zadržavanjem pri pH = 4 i 7. To se može pripisati odbijanju negativno nabijenih membrana i farmaceutika koji se pri tim radnim uvjetima nalaze u deprotoniranom stanju (pK_a = 5,70, 7,97). Za enrofloksacin se ne očekuje adsorpcija, odnosno interakcije s membranama zbog hidrofilnog karaktera komponente. Interakcije (adsorpcija) nije vidljiva u ovom slučaju jer se negativno nabijena komponenta približava negativno nabijenoj površini membrane s jakim elektrostatičkim odbojnim silama i na taj način je spriječena adsorpcija ili difuzija kroz membranu.

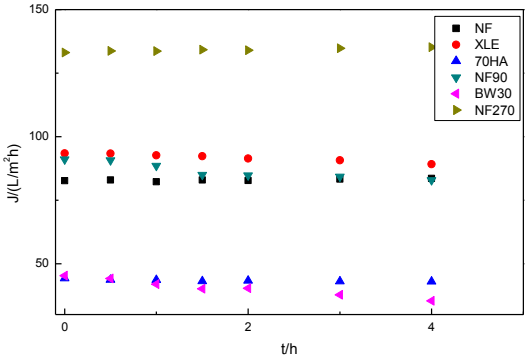
Najveći koeficijent zadržavanja dobiven je s XLE membranom i iznosi > 99,99 %. Može se zaključiti da je dominantni mehanizam uklanjanja enrofloksacina mehanizam isključenja prema veličini s obzirom na veliku razliku između vrijednosti MWCO XLE membrane i MW enrofloksacina. Visok faktor zadržavanja je također dobiven s UTC-70HA i NF i NF90 membranama, što se može također pripisati njihovim malim MWCO vrijednostima u usporedbi s molekuskom masom enrofloksacina. Dakle riječ je o mehanizmu isključenja prema veličini. Uklanjanje prazikvantela pri istim radnim uvjetima pokazuje manje vrijednosti uklanjanja, iz razloga što je molekulska masa prazikvantela manja od enrofloksacina.



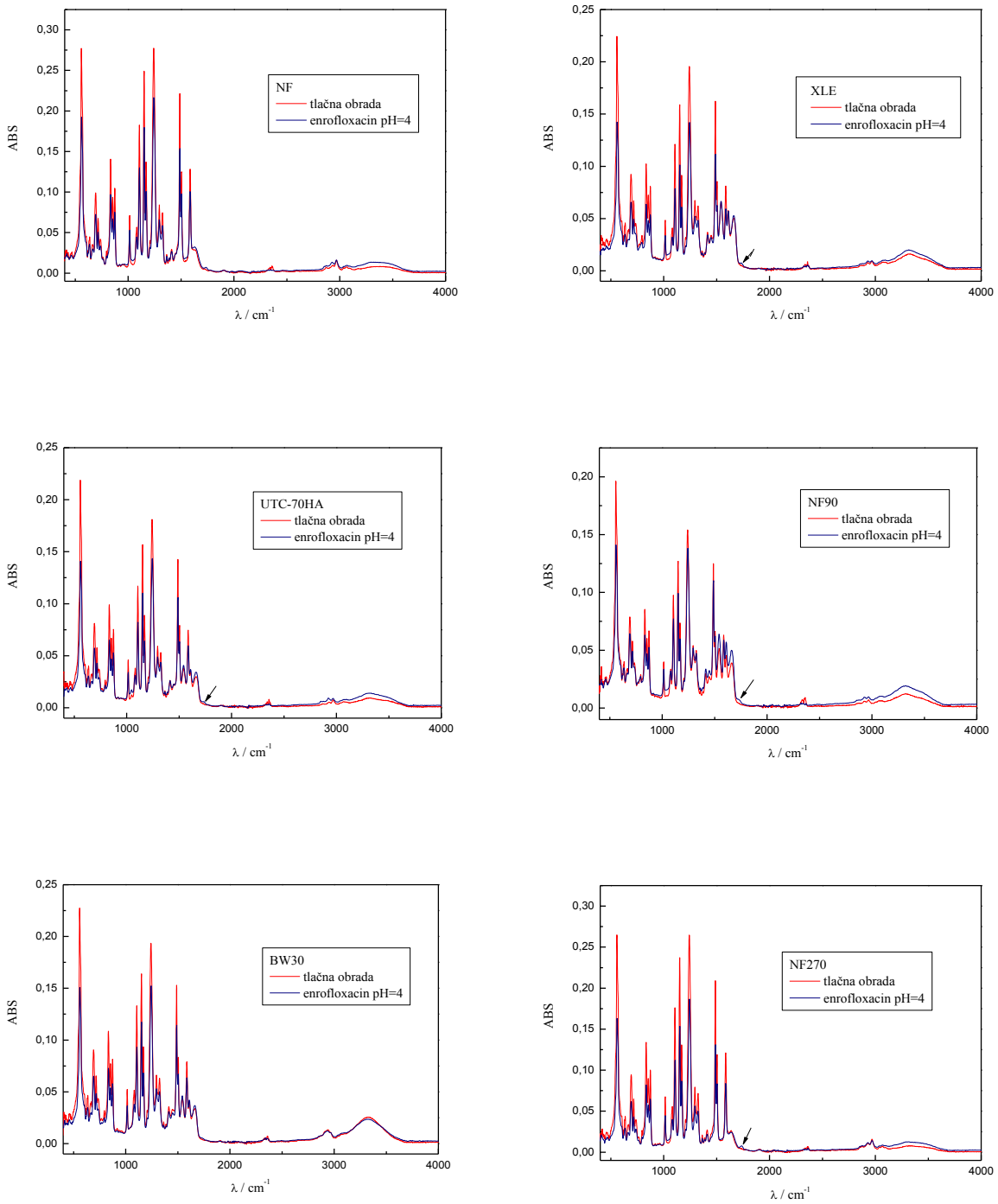
Slika 11. Protok enrofloksacina pH = 4



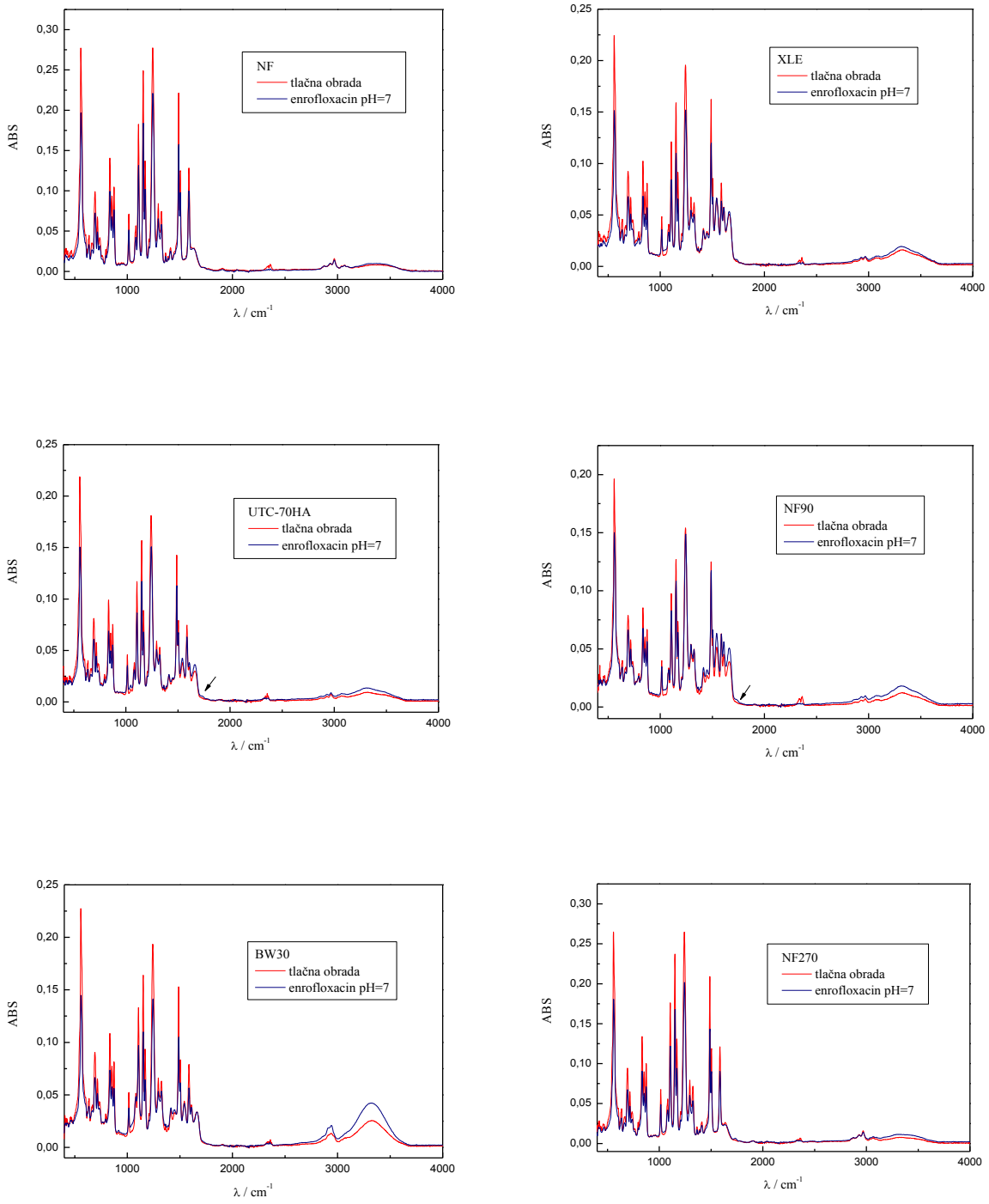
Slika 12. Protok enrofloksacina pH = 7



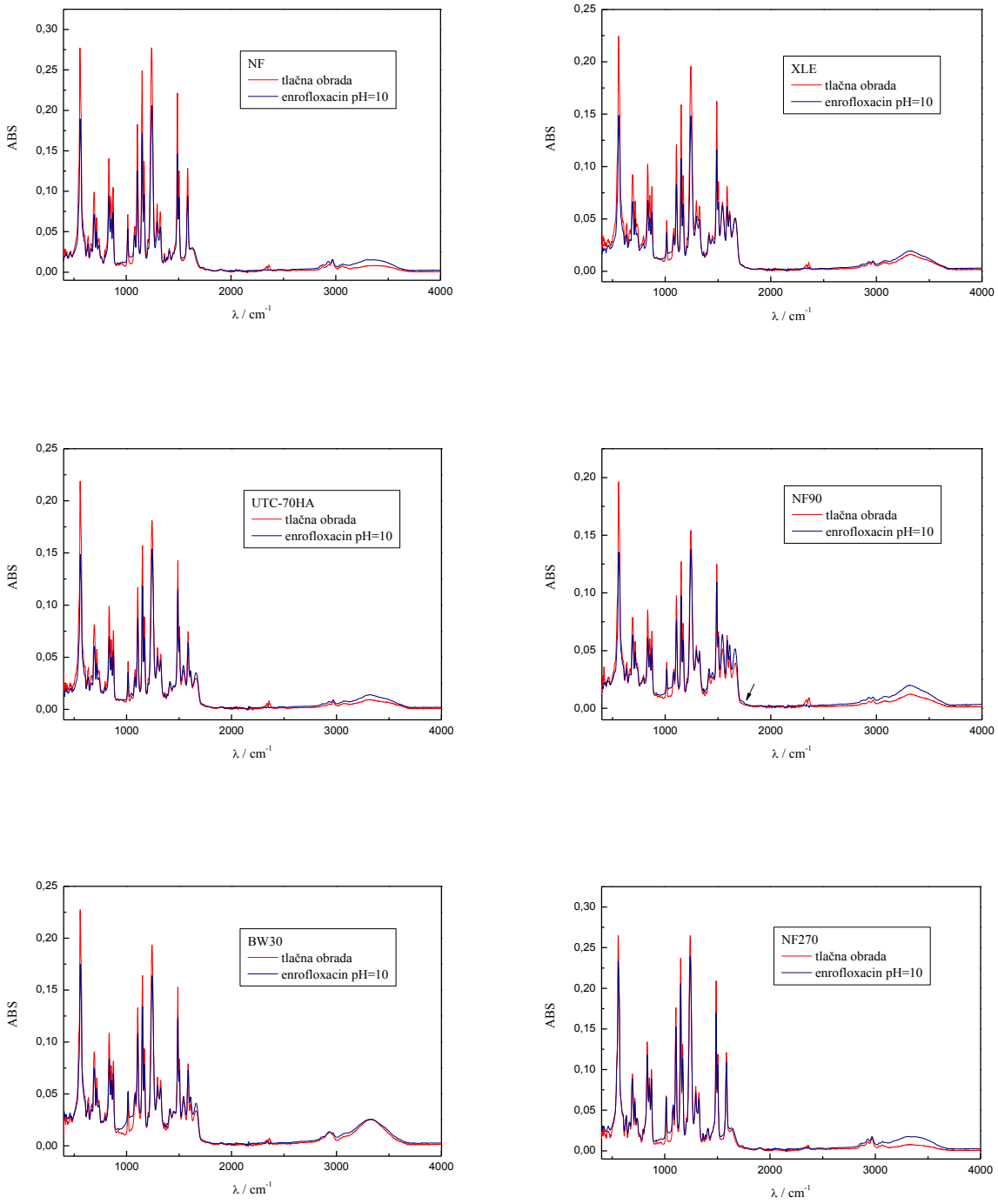
Slika 13. Protok enrofloksacina pH = 10



Slika 14. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom enrofloksacina pH = 4



Slika 15. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom enrofloksacina pH = 7



Slika 16. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom enrofloksacina pH = 10

FTIR spektri pokazuju da enrofloksacin ne stupa u interakciju s većinom ispitivanih RO/NF membrana. Razlog može biti hidrofilnost ispitivane komponente. Analizom FTIR spektra vidljiva je vibracija karbonilnih skupina pri pH = 4 kod RO (XLE i UTC-70HA) membrane pri 1734 cm^{-1}. Vibracija karbonilnih skupina pri pH = 4 je također vidljiva i kod NF (NF90 i NF270) membrana na 1734 cm^{-1}. Pri pH = 7 na 1734 cm^{-1} kod UTC-70HA i NF90 membrane vidljiva je jako mala prisutnost vibracije karbonilnih skupina. Kod NF90 membrane vibracija karbonilnih skupina na istoj vrijednosti vidljiva je i pri pH = 10. S obzirom na dobivene rezultate vidljivo je da s povećanjem pH vrijednosti membrane praktički ne stupaju u interakciju s farmaceutikom. Budući da enrofloksacin ima dvije pK_a vrijednosti, a elektroforetska pokretljivost mu je pozitivna do približno pH = 7, a od 7 – 11 negativna, pretpostavlja se da je to razlog smanjenju interakcija kako se povećava pH vrijednost. Dolazi do elektrostatskog odbijanja između funkcionalnih skupina membrana i farmaceutika.

4.2.3. Utjecaj pH na mehanizam separacije sulfadiazina RO/NF membranama

Sulfadiazin ima dvije vrijednosti konstante disocijacije pK_{a1} = 2,69 i pK_{a2} = 6,59. U strukturi sulfonamida prisutna je jedna bazična amino grupa (-NH_2) i jedna kisela amidna grupa (-NH-) i to rezultira s dvije konstante disocijacije. Amino grupa se može protonirati i stoga se kod pozitivno nabijene ionske strukture javlja pozitivna elektroforetska migracija. Kada amidna grupa otpušta proton formiraju se negativno nabijene čestice i njegova elektroforetska mobilnost postaje negativna.[36] Prema tome sulfadiazin se pri pH = 4 može nalaziti u protoniranom i deprotoniranom stanju, dok je u neutralnom i lužnatom mediju u formi deprotonirane molekule. Sulfadiazin hidrofilnija komponenta u odnosu na ostale dvije budući da mu log $K_{O/W}$ vrijednost iznosi -0,09.

Prema molekulskoj masi (MW = 250,30 g mol^{-1}) on je najmanja od ispitivanih molekula iz čega se može pretpostaviti da će se najslabije zadržavati. Dipolni moment molekule sulfadiazina orijentiran je prema amino grupi pa je većina naboja unutar molekule koncentrirana u tom smjeru, zbog čega se sulfadiazin može lagano orijentirati tom stranom prema površini membrane i ući u pore membrane. U tablici 4.4., prikazani su faktori zadržavanja sulfadiazina za sve ispitivane membrane tijekom četiri sati rada.

Tablica 4.4. Faktori zadržavanja (%) sulfadiazina pH = 4, 7 i 10 u ovisnosti o vremenu za svaku od membrana

t, h pH = 4	Membrana					
	NF	XLE	UTC-70HA	NF90	BW30	NF270
0	58,93	80,46	75,00	92,23	92,65	43,59
1	50,73	80,52	67,19	72,79	73,01	40,65
2	54,32	75,79	83,47	75,37	73,16	42,32
3	48,99	78,82	74,20	72,43	73,02	45,68
4	59,03	85,79	71,70	77,64	76,32	44,82
t, h pH = 7	**Membrana**					
	NF	XLE	UTC-70HA	NF90	BW30	NF270
0	86,93	72,91	91,05	81,15	78,33	69,85
1	76,69	77,50	75,32	75,32	76,46	74,74
2	77,81	84,06	72,91	74,14	71,91	88,18
3	59,72	83,50	72,10	81,00	79,04	81,22
4	87,01	96,84	92,66	85,88	85,42	73,45
t, h pH = 10	**Membrana**					
	NF	XLE	UTC-70HA	NF90	BW30	NF270
0	89,80	98,15	95,26	86,61	92,69	94,03
1	90,37	95,29	91,91	87,09	88,63	92,52
2	89,46	96,13	92,75	83,95	86,56	89,94
3	86,42	91,58	89,10	90,19	89,30	89,89
4	88,51	93,09	85,32	91,38	89,47	94,26

U tablici 4.4., vidljivo je da je faktor zadržavanja sulfadiazina znatno manji u usporedbi s druga dva farmaceutika pri istim radnim uvjetima što se pripisuje njegovoj molekulskoj masi. Također se treba uzeti u obzir činjenica da je sulfadiazin najhidrofilnija molekula. Najmanje zadržavanje dobiveno je s NF i NF270 membranama i iznosi 48,99 – 59,03 % i 40,65 – 45,68 %, zbog rahle i otvorenije strukture membrane. Najveće zadržavanje postignuto je s RO XLE, UTC-70HA, BW30 i NF90 membranama, pri čemu su faktori zadržavanja jako slični. Dolar i sur.[19] su dobili puno već rezultate uklanjanje sulfadiazina u svom radu i ono je iznosilo s rahlom HL membranom 88,27 %, dok je uklanjanje s NF90 i XLE membranama bilo gotovo potpuno (> 99,99 %). Ti rezultati su potvrdili prijašnja istraživanja i zaključak o dominantnom mehanizmu zadržavanja isključenja po veličini. Adams i sur.[39] su dobili uklanjanje sulfonamida oko 90 % pomoću RO membrana u riječnim vodama koje sadrže prirodne organske tvari, rezultati u ovom radu su približni, no s vremenom se znatno smanjuju kod 70HA, BW30 i NF90 membrane.

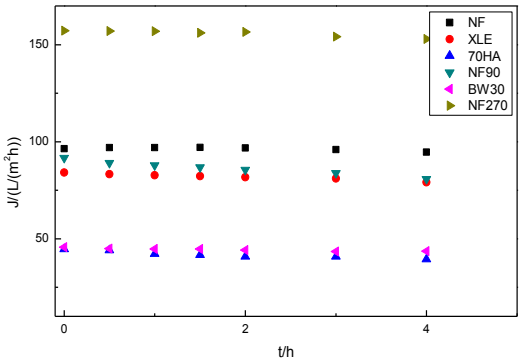
Pri kiselim radnim uvjetima sulfadiazin može biti i pozitivno i negativno nabijen zbog prisutstva dvostruke pK_a vrijednosti, pa se pretpostavlja da postoje slabe elektrostatske interakcije odbijanja/privlačenja. Pretpostavlja se da je dominantan mehanizam uklanjanja po veličini.

Faktor zadržavanja sulfadiazina pri pH = 7 se povećao u usporedbi s pH = 4 i to je vidljivo u tablici 4.4. Usporedbom s druga dva farmaceutika pri istim radnim uvjetima koeficijent zadržavanja je i dalje manji. Pri neutralnim radnim uvjetima sulfadiazin je negativno nabijen tako da se pretpostavlja da će doći do odbijanja farmaceutika i ispitanih NF/RO membrana. Prema Ismailu i sur.[20] sulfonamidi su obično manje uklonjeni od ostalih skupina i to može biti dijelom zbog manjih molekulskih masa sulfonamida. Međutim niske vrijednosti uklanjanja sulfonamida također mogu biti povezane s odsutnošću hidroksilne skupine u strukturi i činjenice da su pokusi provedeni pri pH = 7, gdje je sulfonamid u velikoj mjeri bez naboja.

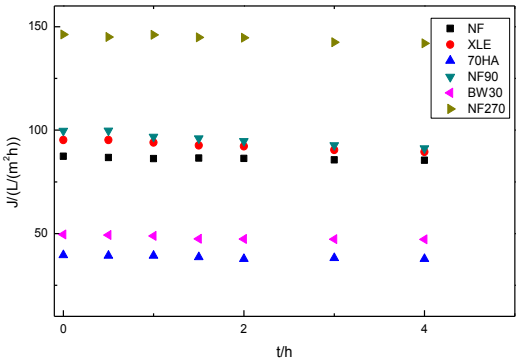
Iz tablice 4.4., vidljivo je da se faktor zadržavanja povećao kod NF270 membrane s 69,85 na 88,18 %, no i dalje je najmanji. Razlog može biti MWCO (150 – 300 Da) koji je veći od MW sulfadiazina. Koeficijent zadržavanja je i dalje najveći kod XLE membrane, 72,91 – 96,84 %. Također se i kod ostalih reverzno osmotskih membrana koeficijent zadržavanja povećao obzirom na neutralne radne uvjete. To se može pripisati MWCO vrijednosti reverzno osmotskih membrana koji iznosi 100 Da i manji je od molekulske mase sulfadiazina (250,30 g/mol). Kod nanofiltracijske NF membrane R_f se znatno povećao pri pH = 7 i iznosi 59,72 – 87,01 %. Iz nekih neobjašnjivih razloga koeficijent zadržavanja ne pada linearno, već pri

svakom sljedećem satu raste ili pada. Osim molekulske mase, slabije zadržavanje bi se također moglo pripisati znatno manjoj log $K_{O/W}$ vrijednosti sulfadiazina, no pojedini autori tvrde da log $K_{O/W}$ vrijednost nije bitan parametar za procjenu zadržavanja i interakcija.[53,34,40] Obzirom na dobivene rezultate te karakteristike membrana i farmaceutika možemo zaključiti da je također i prisutan mehanizam uklanjanja sulfadiazina prema veličini i elektrostatsko odbijanje.

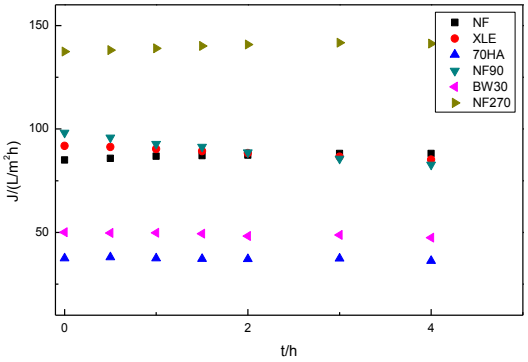
Usporedbom faktora zadržavanja sulfadiazina pri pH = 10 (tablica 4.4.) s faktorima zadržavanja u kiselim i neutralnim uvjetima, vidljivo je da je došlo do porasta za sve ispitivane RO/NF membrane. Pri bazičnim uvjetim (pH = 10) sulfadiazin se sa svojim pK_a (2,69 i 6,59) vrijednostima nalazi u deprotoniranom stanju, površine membrana su negativno nabijene i prisutno je elektrostatsko odbijanje. Pretpostavlja se da dolazi do povećanja negativnog naboja površine membrane što dovodi do povećanja postotka otopljene tvari u deprotoniranom stanju, a pritom se povećava uklanjanje kroz elektrostatsko odbijanje. Iz nekog razloga koeficijent zadržavanja također ne pada linearno, već pri svakom sljedećem satu raste ili pada. Najveće zadržavanje je prisutno kod reverzno osmotske XLE membrane, R = 91,58 – 98,15 %, pretpostavlja se da je razlog njihova selektivna (male dimenzije pora) svojstva. Vidljivo je da kod RO (UTC-70HA i BW30) vrijednosti rezultati ne odskaču previše i iznose 85,32 – 95,26 % odnosno 86,56 – 92,69 %. Kod NF270 membrane prisutno je najveće zadržavanje u odnosu na ostale nanofiltracijske membrane 89,89 – 95,52 %, a i najveći protok. Fluks blago linearno pada kod svih ispitivanih RO/NF membrana što se može pripisati povećanju osmotskog tlaka ulazne otopine zbog malog smanjenja količine ulazne otopine. Također se pretpostavlja da je prisutan i mehanizam isključenja po veličini.



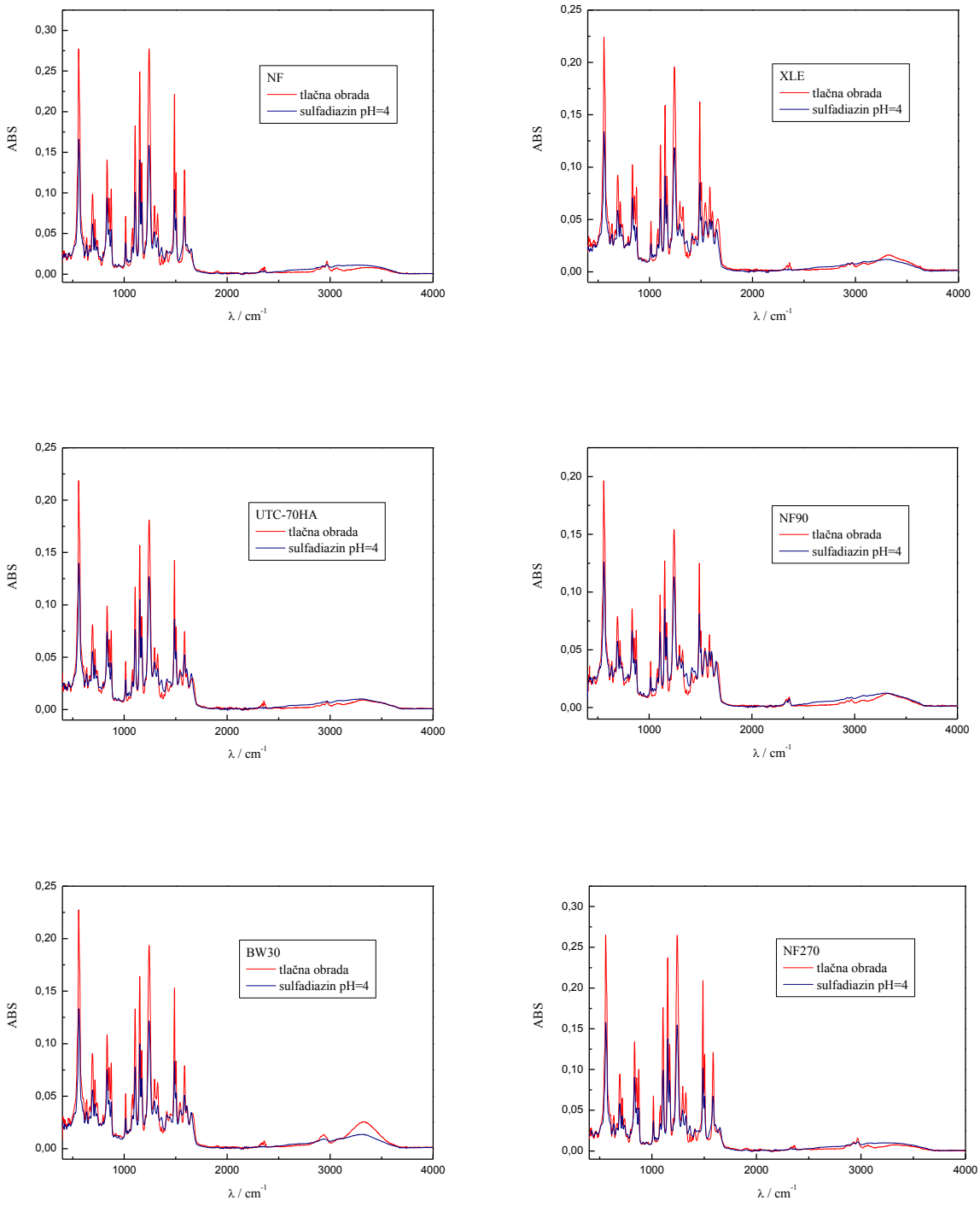
Slika 17. Protok sulfadiazina pH = 4



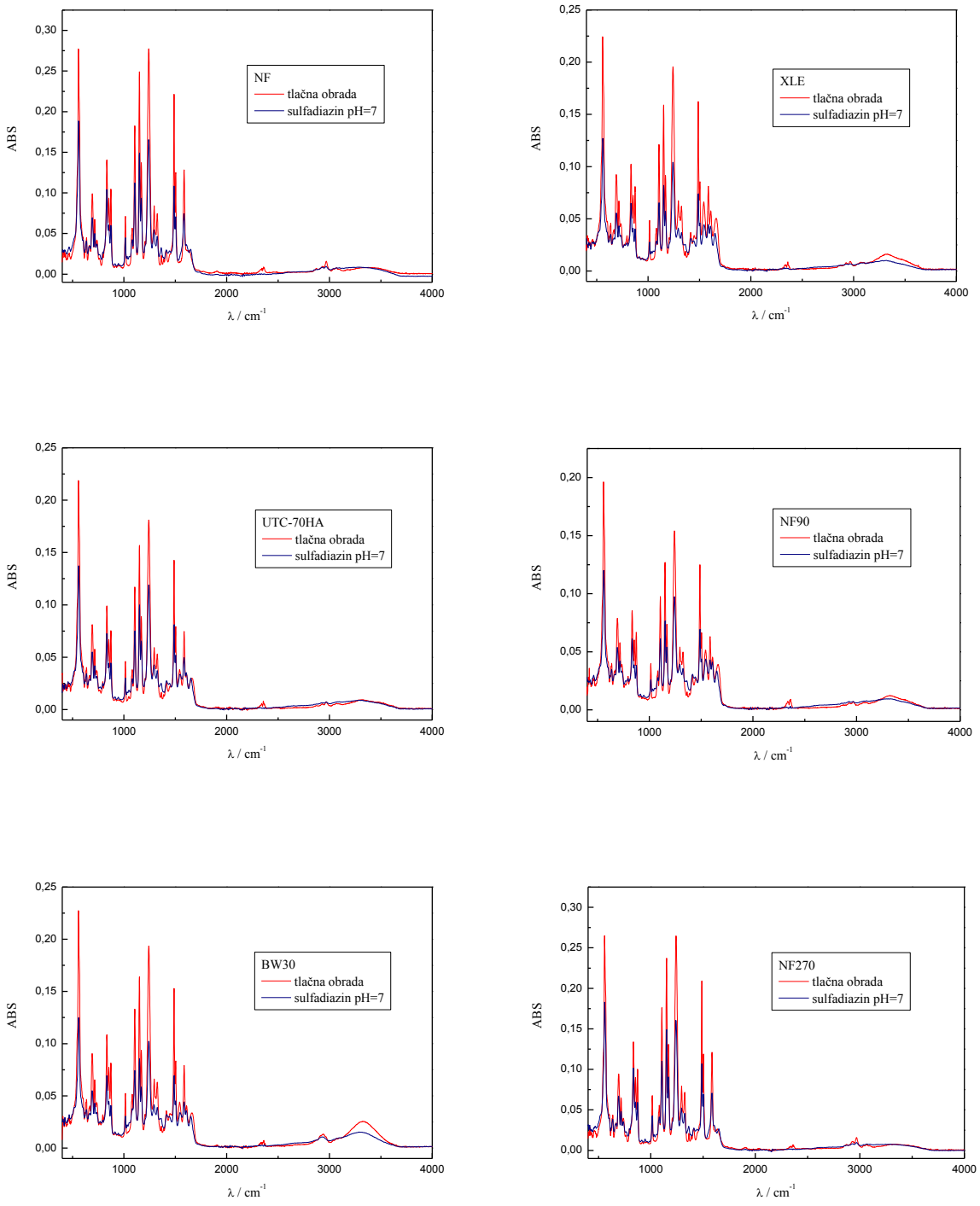
Slika 18. Protok sulfadiazina pH = 7



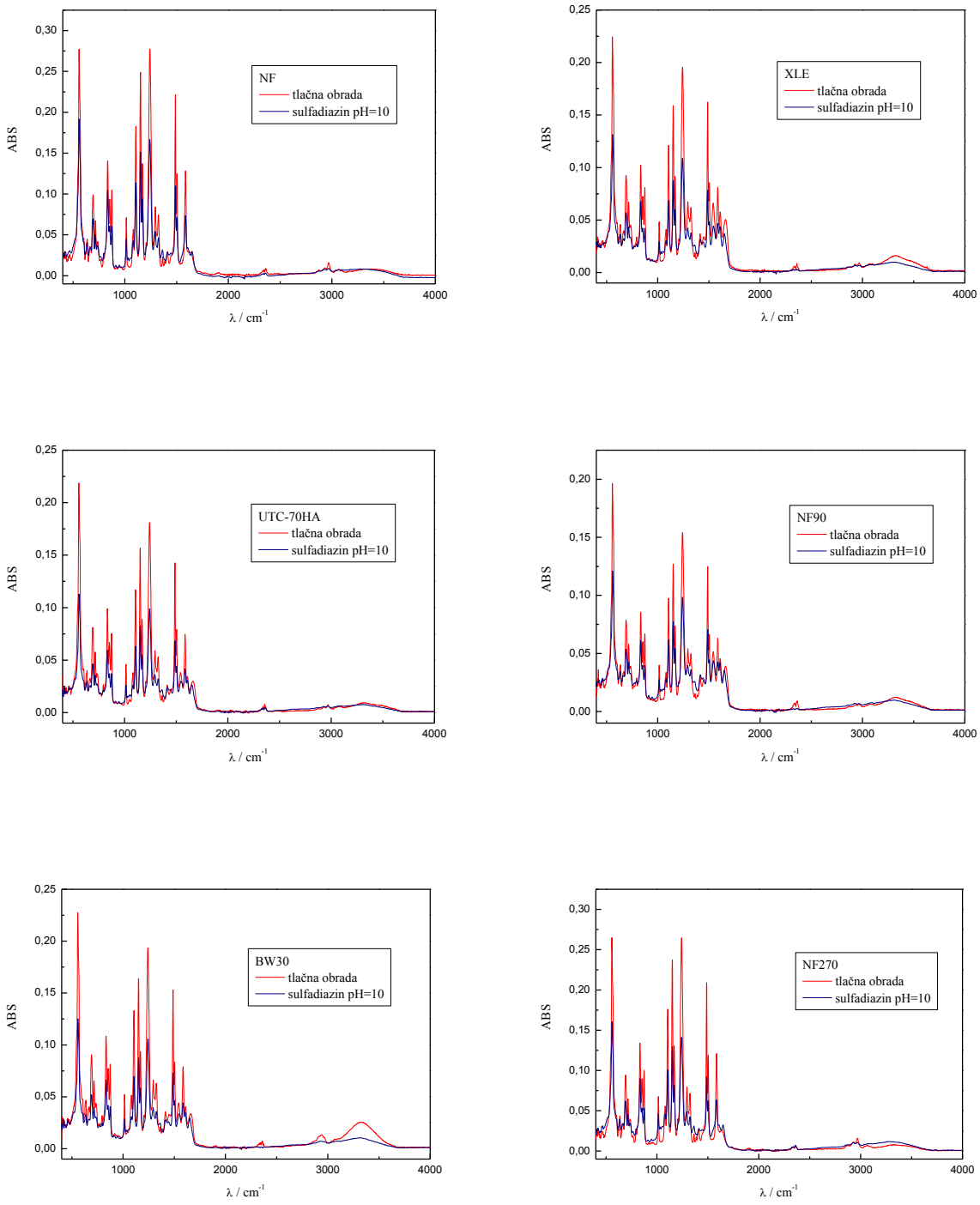
Slika 19. Protok sulfadiazina pH = 10



Slika 20. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom sulfadiazina pH = 4



Slika 21. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom sulfadiazina pH = 7



Slika 22. FTIR spektri za RO/NF membrane nakon tlačne obrade i tretmana otopinom sulfadiazina pH = 10

Analizom FTIR spektra sulfadiazina, vidljivo je da pri svim pH vrijednostima nije došlo do adsorpcije. Pretpostavlja se da je razlog tome negativna vrijednost log $K_{O/W}$ vrijednosi (-0,09) što ju čini najhidrofilnijom komponentom.

5. ZAKLJUČAK

U radu je ispitan utjecaj pH vrijednosti (pH=4, 7 i 10) otopina prazikvantela, enrofloksacina i sulfadiazina na njihov mehanizam uklanjanja pomoću RO/NF membrana: XLE, BW30, UTC-70HA, NF, NF90, NF270. Utvrđeno je da na učinkovitost uklanjanja farmaceutika iz modelnih voda RO/NF membranama prvenstveno utječe mehanizam isključenja po veličini, ali i interakcije između farmaceutika i membranske površine.

Enrofloksacin se kao najveća od tri ispitane komponente najbolje uklanja iz otopina sa svim RO/NF membranama i to pri neutralnim uvjetima, budući da je pri tim uvjetima u formi zwitter iona, čime na uklanjanje dodatno utječu elektrostatske interakcije privlačenja/odbijanja. Na FTIR spektrima vidljivo je da enrofloksacin ne stupa u interakciju s većinom ispitivanih RO/NF membrana. Prisutne su tek vibracije karbonilnih skupina koje su povećanjem pH vrijednosti sve manje prisutne, budući da je elektroforetska pokretljivost pozitivna do približno pH = 7, a od pH = 7 – 11 negativna.

Uklanjanje prazikvantela sa ispitanim membranama je nešto manje u odnosu na enrofloksacin što se može pripisati manjoj molekulskoj masi. Pri kiselim i neutralnim uvjetima najveće zadržavanje dobiveno je s NF90 i XLE membranom, većinom zbog mehanizma isključenja veličinom. Najmanje uklanjanje je prisutno kod rahle NF270 membrane. Budući da je prazikvantel hidrofoban to također utječe na manji faktor zadržavanja. Analizom FTIR spektra površine membrana utvrđena je prisutnost karbonilnih skupina, a kod NF membrane također je prisutno i postojanje H-veza. Pretpostavka je da je prazikvantel pozitivno nabijen pri svim pH vrijednostima, a membrane blago negativno nabijene zbog čega bi moglo doći do elektrostatskog privlačenja.

Sulfadiazin se kao najmanja molekula najslabije uklanja sa svim ispitivanim membranama, a posebno rahlim NF i NF270 membranama. Najveće zadržavanje dobiveno je s XLE, UTC-70HA, BW30 membranama i NF90 membranom. Uklanjanje sulfadiazina pri radnim uvjetima od pH = 10 se povećalo, a razlog može biti povećanje negativnog naboja površine membrana kao i veći udio otopljene tvari u deprotoniranom obliku pri čemu se povećava uklanjanje kroz elektrostatsko odbijanje.

Kod uklanjanja farmaceutika RO/NF membranama dominantan je mehanizam isključenje prema veličini, no osim toga za sve farmaceutike dokazano je da na uklanjanje utječu i elektrostatsko odbijanje/privlačenje.

6. POPIS SIMBOLA I KRATICA

Popis simbola i oznaka

A – površina (cm^2)

c – molarna ili množinska koncentracija (mol/L)

c_u – koncentracija ulazne otopine (mg/L)

c_p – koncentracija permeata (mg/L)

Δ – delta (razlika)

J - protok permeata ($L/(m^2h)$)

K_a – konstanta disocijacije kiseline

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

log D – koeficijent distribucije

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

p – tlak (bar)

pH-vrijednost – negativni logaritam koncentracije vodikovih iona

pK_a – logaritamska vrijednost konstante disocijacije kiseline (log Ka)

R_f – koeficijent zadržavanja (%)

T – temperatura (°C)

t – vrijeme (h)

V - volumen (m^3)

λ - valna duljina (cm^{-1})

π – osmotski tlak (bar)

μ – dipolni moment (D)

ξ - zeta potencijal (mV)

BPR – regulator tlaka

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

ERA - procjena rizika za okoliš, (eng. *Environmental risk assessment*)

FTIR – Infracrveni spektrofotometar s Fourierovom transformacijom signala

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

H – spremnik za pojnu smjesu

M – manometar

MF – mikrofiltracija

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

NF – nanofiltracija

RO – reverzna osmoza

TFC – tankoslojna kompozitna membrana, (eng. *thin film composite*)

UF – ultrafiltracija

VOCs – lako hlapljive komponente, (eng. *Volatile organic compounds*)

VP – visokotlačna pumpa

VRP – veličinska raspodjela pora

7. LITERATURA

1. Dolar, D., Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda, Doktorski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2009
2. Košutić, K., Membranske tehnologije obrade vode, zbirka nastavnih tekstova, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, str. 19-43
3. Drašinac, N., Ispitivanje interakcija poliamidnih RO/NF membrana s organskim tvarima, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu , 2014
4. Manttari, M., Pihlajamaki, A., Nystrom, M., Effect of pH on hydrophilicity and charge and their effect on the filtration efficiency of NF membranes at different pH, J. Membr. Sci., **280** (2006) 311-320
5. Van der Bruggen, B., Schaep, J., Wilms, D., Vandecasteele, C., Influence of molecular size, polarity and charge on the retention of organic molecules by nanofiltration, J. Membr. Sci., **156** (1999) 29-41
6. Bellona, C., Drewes, E., J., The role of membrane surface charge and solute physico-chemical properties in the rejection of organic acids by NF membranes, J. Membr. Sci., **249** (2005) 227-234
7. American Membrane Technology Association (ATMA), Improving America's Waters Through Membrane Treatment and Desalting, Nanofiltration and Reverse Osmosis (NF/RO), Florida 34996, 2007, str. 1-2
8. Amra, S., Razvoj i primjena MBR tehnologija u procesu pročišćavanja otpadnih voda, Vodoprivreda, **46** (2014) 77-87
9. Mulder, M., Basic Principles of Membrane Technology, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, 1996, str. 297-303
10. Tolls, J., Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Solis: A Review, Environ. Sci. Technol., **17** (2001) 3397-3406
11. Directiva 2001/83/EC of the European parliament and the Council of 6 Novembar 2001 on the Community code relatingto medicinal products for human use.
12. Čogelja Čajo, G., Osrečki, V., Tomić, S., Utjecaj lijekova na okoliš, Agencija za lijekove i medicinske proizvode, Kem. Ind., **59** (2010) 351-354
13. Boxall, Alistair B.A., The environmental side effects of medication, EMBO Reports, 2004, 1110-1116

14. http://www.genera.hr/pro/hr/1620/#.VyI5yTSsWz7 (pristup 25.04.2016)
15. http://www.diamondbackdrugs.com/enrofloxacin-for-cats-and-dogs/(pristup 25.04.20)
16. http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Sulfadiazin (pristup 15.05.2016)
17. http://www.drugbank.ca/drugs/DB00359 (pristup 15.05.2016)
18. Dolar, D., Periša, M., Košutić, K., Babić, S., NF/RO removal of enrofloxacin and its photodegradation products from water, Desalination, **51** (2013) 469-475
19. Dolar, D., Košutić, K., Pavlović, Mutavdžić, D., Kunst, B., Removal of emerging contaminants of industrial origin by NF/RO - A pilot scale study, Desalination, **6** (2009) 197-203
20. Ismail, K., Osman, A., A., Mark, R., W., Clifford, R., Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes, J. Membr. Sci., **309** (2008) 94-101
21. Nghiem, L.D., Schäfer, A.I., Elimelech, M., Nanofiltration of Hormone Mimicking Trace Organic Contaminants, Separ. Sci. Technol., **40 (**2005) 2633-2649
22. Amisha, S., Eddie, M., Annie, P., Ching-Hua, H., Jae-Hong, K., Effect of Water Quality on Rejection of Selected Human and Veterinary Antibiotics by Nanofiltration and Reverse Osmosis Membranes, School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, 2005, str. 1-7
23. Amisha, D., S., Ching-Hua, H., Jae-Hong, K., Mechanisms of antibiotic removal by nanofiltration membranes: Model development and application, J. Membr. Sci., **389** (2012) 234-244
24. Hamad, A., A., Brian, J., John, B., Long, D., Nghiem, Yasir, M., A., Removal of volatile organic compounds (VOCs) from groundwater by reverse osmosis and nanofiltration, J. Water Process Eng., **9** (2016) 9-21
25. Košutić, K., Dolar, D., Ašperger, D., Đukić, J., Mutavdžić Pavlović, D., Izbor RO/NF membrana za obradu otpadnih voda u proizvodnji veterinarskih preparata, Hrvatske vode, **17** (2009) 197-206
26. Gamze, A., Roosmasari, I., Richau, K., Hapke, J., A Comprehensive Characterization of Commercial Nanofiltration Membranes, Separ. Sci. Technol., **42** (2007) 2947-2986
27. Xu, Y., Lebrun, R., E., Investigation of the solute separation by charged nanofiltration membrane: effect of pH, ionic strenght and solute type, J. Membr. Sci., **158** (1999) 93-104

28. Doederer, K., Farre, J., M., Pidou, M., Weinberg, H., Gernjak, W., Rejection of disinfection by-products by RO and NF membranes: Influence of solute properties and operational parameters, J. Membr. Sci., **467** (2014) 195-205
29. Peeters, J., M., M., Boom, J., P., Mulder, M., H., V., Strathmann, H., Retention measurements of nanofiltration membranes with electrolyte solutions, J. Membr. Sci., **145** (1998) 199-209
30. 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
31. Simon, A., Nghiem, L.D., Le-Clech, P., Khan, S.J., Drewes, J.E., Effects of membrane degradation on the removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) by NF/RO filtration processes, J. Membr. Sci., **340** (2009) 16-25
32. Dolar, D., Pelko, S., Košutić, K., Horvat, J., M., A., Removal of anthelmintic drugs and their photodegradation products from water with RO/NF membranes, Process Saf. Environ., **90** (2012) 147-152
33. Bellona, C., Drewes, E., J., Xu, P., Amy, G., Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment- a literature review, Water Res., **38** (2004) 2795-2809
34. Yangali-Quintanilla, V., Sadmani, A., McConville, M., Kennedy, M., Amy, G., Rejection of pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting compounds and by clean and fouled nanofiltration membranes, Water Res., **43** (2009) 2349-2362
35. Kunst, B., Košutić. K., Removal of Emerging Contaminants in Water Treatment by Nanofiltration and Reverse Osmosis, Hdb Env. Chem. Vol., **5** (2008) 103-125
36. Zrnčić, M., Babić, S., Mutavdžić-Pavlović, D., Determination of thermodynamic pK_a values of pharmaceuticals from five different groups using capillary electrophoresis, J. Sep. Sci., **38** (2015) 1232-1239
37. Braeken, L., Ramaekers, R., Zhang, Y., Maes, G., Bruggen, B.V.d., Vandecasteele, C., Influence of hydrophobicity on retention in nanofiltration of aqueous solutions containing organic compounds, J. Membr. Sci., **252** (2005) 195-203.
38. Dolar, D., Košutić, K., Periša, M., Babić, S., Photolysis of enrofloxacin and removal of its photodegradation products from water by reverse osmosis and nanofiltration membranes, Separ. Purif. Technol., **115** (2013) 1-8
39. Adams, C., Wang, Y., Loftin, K., Meyer, M., Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes, J. Environ. Eng. ASCE, **128** (2002) 253-260

40. Verliefde, A.R.D., Cornelissen, E.R., Heijman, S.G.J., Verberk, J.Q.J.C., Amy, G.L., Van der Bruggen, B., van Dijk, J.C., The role of electrostatic interactions on the rejection of organicsolutes in aqueous solutions with nanofiltration, J. Membr. Sci., **322** (2008) 52-66

8. ŽIVOTOPIS

Životopis

Rođena sam 27. siječnja, 1990. u Karlovcu, Karlovačka županija, gdje sam započela osnovnoškolsko obrazovanje u OŠ „Banija“, a završila sam ga u OŠ „Turanj“. Srednjoškolsko obrazovanje završila sam 2008. godine u „Prirodoslovnoj školi Karlovac“, za prehrambenog tehničara. Od 2008. godine pohađam Veleučilište u Karlovcu (smjer Prehrambene tehnologije) gdje sam stekla titulu stručne prvostupnice inženjerke prehrambene tehnologije obranom rada pod nazivom „*Fizikalno – kemijska promjena sojinog ulja uslijed zagrijavanja* “ pod mentorstvom dr. sc. Marijane Blažić. 2013. godine upisujem nultu godinu s razlikom od dvanaest predmeta, a zatim 2014. godine diplomski sveučilišni studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.