

AOP razgradnja atazanavira i nirmatrelvira

Švegović, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:018403>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Švegović

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA DIPLOMSKE ISPITE

Kandidatkinja Lucija Švegović

Predala je izrađen diplomski rad dana: 02. srpnja 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

Doc. dr. sc. Matija Cvetnić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Izv. prof. dr. sc. Dajana Kučić Grgić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Dr. sc. Lidija Furač, v. pred., Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof. dr. sc. Šime Ukić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo diplomski rad i odobrilo obranu diplomskog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Diplomski ispit održat će se dana: 05. srpnja 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Švegović

AOP razgradnja atazanavira i nirmatrelvira

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Matija Cvetnić

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. doc. dr. sc. Matija Cvetnić
2. izv. prof. dr. sc. Dajana Kučić Grgić
3. dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

Zagreb, srpanj 2024.

Velika hvala mojem mentoru, doc. dr. sc. Matiji Cvetniću, na uloženom trudu, vremenu i strpljenju te korisnim savjetima i prenesenom znanju prilikom izvođenja i pisanja ovog diplomskog rada. Hvala Vam što ste me naučili kako se suočiti s problemom i samostalnije pristupiti rješavanju istog, boljeg mentora nisam mogla poželjeti.

Od srca se zahvaljujem i dr. sc. Lidiji Furač, v. pred., na pomoći, savjetima i podršci i ugodnoj atmosferi tijekom provedbe eksperimentalnog rada u laboratoriju. Također, željela bih se zahvaliti i svim ostalim profesorima na pruženom znanju te kolegama i kolegicama na pomoći tijekom proteklih 5 godine studiranja.

Najviše hvala mom Ninu bez kojeg ništa od ovog ne bi bilo ostvareno. Hvala Ti za svaku riječ ohrabrenja i motivacije, na vjeri i ljubavi te ustrajnosti i strpljenju tijekom svih ovih godina. Hvala što si uvijek bio uz mene i nisi dopustio da odustanem kada je bilo najteže, Ti si moj najveći oslonac i potpora u svemu.

Također, želim se posebno zahvaliti svojim roditeljima i sestrama na strpljenju, ljubavi, brižnosti, podršci, pomoći i razumijevanju kroz cijeli moj život. Hvala vam što se mi omogućili predivno djetinjstvo, školovanje i odrastanje te u konačnici, stjecanje ove važne akademske titule do koje ne bih došla da nije bilo vas.

SAŽETAK

Onečišćenje vode predstavlja globalni problem upravo zbog posljedica koje ostavlja po okoliš, ali i zdravlje ljudi i životinja. Izvori onečišćenja su različiti, a danas se veliki naglasak stavlja na nove onečišćujuće tvari u koje se ubrajaju i različiti farmaceutici.

Pandemija COVID-19 virusa, koja se pojavila tijekom 2020. godine, ostavila je neizbrisiv trag koji se proteže kroz čitavi ekosustav. Tijekom pandemije, istraživana je učinkovitost različitih vrsta antivirusa koji bi uspješno suzbili virus i na taj način spriječili njegovo širenje. Atazanavir i nirmatrelvir ubrajaju se u antivirusne korištene u liječenju bolesti uzrokovane COVID-19 virusom, te je time veća i njihova prisutnost i akumulacija u vodenom okolišu.

U ovom je radu ispitivana učinkovitost naprednih oksidacijskih procesa fotooksidacije, UV/H₂O₂ i UV/S₂O₈²⁻, za razgradnju navedenih antivirusa. Tijekom provođenja razgradnje antivirusa, mijenjala su se dva parametra, pH-vrijednost modelne otopine antivirusa i koncentracija oksidansa. Pomoću punog faktorskog plana i metode odzivnih površina razvijeni su modeli uz pomoć kojih je moguće procijeniti utjecaj spomenutih procesnih parametara na brzinu razgradnje atazanavira i nirmatrelvira. Dobiveni modeli su u svim ispitivanim slučajevima značajni, a brzina razgradnje ispitivanih antivirusa opisuje se kinetikom prvog reda. Rezultati potvrđuju veću brzinu razgradnje ispitivanih antivirusa UV/S₂O₈²⁻ fotooksidativnim procesom.

Ključne riječi: onečišćenje, vodeni okoliš, atazanavir, nirmatrelvir, fotooksidativna razgradnja, UV/H₂O₂, UV/S₂O₈²⁻, metoda odzivnih površina

ABSTRACT

Water pollution presents a global problem precisely because of the consequences it leaves for the environment, but also for human and animal health. The main sources of pollution are different, and today a great emphasis is placed on new pollutants, which include various pharmaceuticals.

The pandemic of the COVID-19 virus, which appeared during 2020, left an indelible trace that extends throughout the ecosystem. During the pandemic, the effectiveness of different types of antiviral drugs were investigated for successful suppress of the virus and prevention of its spreading. Atazanavir and nirmatrelvir are the antiviral drugs used during the treatment of diseases caused by COVID-19 virus, so they show a greater presence and bioaccumulation in the aquatic environment.

In this study, the effectiveness of advanced oxidation processes, UV/H₂O₂ and UV/S₂O₈²⁻, for the degradation of the mentioned antivirals was investigated. During the photooxidative degradation of antivirals, the pH-value of the antiviral model solution and the concentration of oxidants were two process parameters that changed. Full factorial plan and response surface methodology were used for models development, which could estimate the influence of the mentioned process parameters on the degradation rate of atazanavir and nirmatrelvir. The obtained models are significant in all tested cases, and first-order kinetics can be used to describe the degradation rate of atazanavir and nirmatrelvir. The results confirm that the higher degradation rate of tested antivirals were achieved by UV/S₂O₈²⁻ photooxidation process.

Key words: pollution, aquatic environment, atazanavir, nirmatrelvir, photooxidative degradation, UV/H₂O₂, UV/S₂O₈²⁻, response surface methodology

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. ONEČIŠĆENJE VODENOG OKOLIŠA.....	3
2.2. IZVORI ONEČIŠĆENJA VODENOG OKOLIŠA.....	5
2.2.1. INDUSTRIJSKI OTPAD.....	5
2.2.2. POLJOPRIVREDNI OTPAD.....	6
2.2.3. OTPAD IZ KUĆANSTVA.....	6
2.3. PRIJENOS I SUDBINA ONEČIŠĆIVALA VODENOG OKOLIŠA	7
2.4. NOVE ONEČIŠĆUJUĆE TVARI U VODENOM OKOLIŠU.....	8
2.4.1. REGULATIVE O ONEČIŠĆIVALIMA U EUROPSKOJ UNIJI	10
2.4.2. COVID-19.....	13
2.4.3. ANTIVIROTICI	14
2.5. METODE OBRADNE OTPADNIH VODA	20
2.6. NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCESI.....	21
2.6.1. ULTRALJUBIČASTO (UV) ZRAČENJE.....	24
2.6.2. UV/H ₂ O ₂	25
2.6.3. UV/S ₂ O ₈ ²⁻	27
2.7. STATISTIČKO PLANIRANJE EKSPERIMENTA	28
2.7.1. POTPUNI FAKTORSKI PLAN.....	30
2.7.2. METODA ODZIVNIH POVRŠINA.....	31
2.8. HPLC ANALIZA.....	33
3. EKSPERIMENTALNI DIO	35
3.1. KEMIKALIJE.....	35
3.2. INSTRUMENTI	35
3.2.1. PARAMETRI HPLC ANALIZE.....	36
3.3. PLAN I PROVEDBA EKSPERIMENTA.....	36
3.4. DIZAJN EKSPERIMENTA	39
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	40

4.1.	FOTOOKSIDATIVNA OBRADA MODELNE OTPADNE VODE ATV-a.	40
4.1.1.	ATV s UV-C/H ₂ O ₂	41
4.1.2.	ATV s UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻	48
4.2.	FOTOOKSIDATIVNA OBRADA MODELNE OTPADNE VODE NTV-a.	55
4.2.1.	NTV s UV-C/H ₂ O ₂	56
4.2.2.	NTV s UV-C/S ₂ O ₈ ²⁻	63
5.	ZAKLJUČAK	72
6.	POPIS KRATICA I SIMBOLA	74
7.	LITERATURA	78
	ŽIVOTOPIS	82

1. UVOD

Voda kao izvor života na Zemlji može se pojaviti u tri agregatna stanja, plinovitom, tekućem i krutom. U tekućem stanju, voda je bez mirisa i bez okusa. Pri normalnim uvjetima, na površini Zemlje, voda je u tekućem stanju te je tako od neprocjenjive važnosti za transport, rekreaciju i stanište mnogih biljaka i životinja, no također je izuzetno bitna i za mnoge biološke procese živih organizama. [1]

Godišnje potrebe za vodom na globalnoj razini iznose između 6000 i 7000 km³, dok su globalne rezerve podzemnih voda približno 70 000 000 km³. Ovaj višak vode se godišnje unosi u tlo padalinama ili procjeđivanjem. Posljednjih godina razine podzemnih voda se sve više spuštaju, pa je tako i pristup podzemnoj vodi ograničen, što je zapravo posljedica klimatskih promjena, nadmorske visine, sastava tla, vegetacijskog pokrova, količine oborina i procesa procjeđivanja. [2]

Ne može se preneglasiti važnost vode na svim aspektima života pa je tako namjena vode svestrana, od upotrebe vode u kućanstvima za hranu i piće, u različitim industrijskim pogonima prilikom proizvodnje i čišćenja, za uzgoj i prehranu stoke, usjeve na polju i dr. [3] Predviđa se da će do 2050. godine potražnja za vodom i hranom porasti za 50 % do 70 % uspoređujući to sa sadašnjim stanjem. Problem nedostatka zdrave pitke vode jedan je od najozbiljnijih problema današnjice. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (engl. *World Health Organization*, WHO), samo je 5 % vode u svijetu pogodno za ljudsku potrošnju, dok je oko 71 % Zemljine površine prekriveno vodom. Također, WHO svakodnevno provodi istraživanja vezana uz dostupnost pitke vode diljem svijeta čime je potvrđeno kako gotovo 748 milijuna ljudi diljem svijeta nema pristup vodi koja bi bila sigurna za upotrebu, 2.5 milijardi ljudi nema pristup sanitarnim uvjetima, dok 3900 djece svakodnevno umire zbog nezdrave vode za konzumaciju koja dovodi do pojave različitih oblika bolesti. [4]

Porastom broja stanovnika te rastom industrije dolazi i do onečišćenja pitke vode u sve većoj mjeri. Sukladno tome, pristup zdravoj pitkoj vodi smatra se jednim od najtemeljnijih ciljeva čovječanstva te time predstavlja najveći globalni izazov u 21. stoljeću. Onečišćenje vode se očitava promjenom njenih fizikalnih svojstava, kvalitete ili mirisa. Pojedina onečišćivala ne moraju uzrokovati promjenu fizikalnih svojstava, a samo onečišćenje može biti uzrokovano toksičnošću onečišćivala poput teških metala čak i u vrlo niskim koncentracijama. Najčešća toksična onečišćivala su ioni teških metala, boje, pesticidi, farmaceutici, organski

spojevi te mnogi drugi opasni spojevi koji su skloni akumulaciji u tkivima živih organizama i time dovode do stvaranja ozbiljnih bolesti. Također, uzrokuju ozbiljne probleme i dovode u opasnost zdravlje ljudi, biljaka, ali i okoliša. Na ovaj način dolazi do pojave epidemije različitih opasnih bolesti koje se prenose vodom i na taj način odnose živote mnogih ljudi, ali i životinja. [4]

Godina 2020. ući će u povijest kao jedna od najizazovnijih za čovječanstvo sa svih točaka gledišta zbog pandemije COVID-19 virusa. Upravo je COVID-19 ostavio velike posljedice na čitav svijet što je poremetilo globalnu gospodarsku aktivnost, ukupni razvoj, ali i kvalitetu života milijarde ljudi. Tijekom pandemije samo je potvrđeno kako je redovit pristup čistoj i zdravoj vodi od velike važnosti. Također, pandemija je dovela i do povećane upotrebe različitih vrsta farmaceutika čime je povećan i njihov udio u vodama, naročito otpadnim vodama farmaceutskih industrija. [5]

Danas je kontrola onečišćenja voda opća briga i izazov za godine koje dolaze pa se tako velika važnost pridodaje pročišćavanju vode u smjeru implementacije učinkovitih i isplativih metoda koje će omogućiti oporavak resursa. Tijekom godina razvijene su mnoge različite metode uklanjanja onečišćivala vode poput različitih fizikalnih, kemijskih i bioloških procesa. Budući da se danas u vodi nalazi mnogo novih onečišćivala koja se ne mogu ukloniti klasičnim metodama, razvijaju se nove i naprednije tehnologije poput naprednih oksidacijskih procesa (engl. *Advanced Oxidation Processes*, AOPs). AOP uključuju kombinaciju direktne fotolize i reakcije s hidroksilnim radikalom, HO•, ili sličnim oksidansima čime dolazi do razgradnje onečišćujuće tvari, a učinkovitost razgradnje ovisi o različitim faktorima poput početne koncentracije onečišćivala, vrsti i količini fotokatalizatora, ali i intenziteta svjetlosti. Svaka onečišćujuća tvar zahtjeva i različite optimalne uvjete za njeno uklanjanje. Na temelju određivanja kinetike razgradnje novih onečišćujućih tvari može se predvidjeti njihovo ponašanje u vodenom okolišu te je tako i kontrola onečišćivanja bolja. [4]

Svrha ovog rada bila je istražiti učinkovitost razgradnje atazanavira i nirmatrelovira fotooksidacijskim procesima UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻ uz promjenu koncentracije oksidansa i pH-vrijednosti modelne otopine antivirusa.

2. OPĆI DIO

2.1. ONEČIŠĆENJE VODENOG OKOLIŠA

U prirodi ne postoji voda koja u sebi ne sadrži barem malu količinu onečišćujućih tvari. Pod pojmom onečišćenje vode podrazumijeva se svaka neželjena promjena stanja vode u kojoj se nalaze onečišćujuće tvari. Zapravo, može se reći, kako svaka promjena fizikalnih, kemijskih ili bioloških svojstava vode, koja dovodi do pojave štetnog učinka na živim bićima, naziva se „onečišćenje vode“. Kako svijet napreduje iz dana u dan, tako su i posljedice po vodeni okoliš sve više izražene u obliku onečišćenja vode koje nastaje kao posljedica različitih ljudskih aktivnosti. Osim ljudske aktivnosti, razvitak industrije predstavlja daleko ozbiljniji aspekt onečišćenja vode. Također, postoje i različiti mikrobiološki agensi poput bakterija, virusa, protozoa i sl. koji onečišćuju vodu i time dovode do pojave i širenja različitih zaraznih bolesti koje se vrlo lako prenose vodom. [6]

Onečišćenje vode može biti uzrokovano različitim onečišćujućim tvarima koje mogu biti prirodnog ili umjetnog porijekla. Primjerice, dušik, oksidi, teški metali, ugljikovodici i radioaktivne tvari samo su neki od prirodnih onečišćivala. Kemikalije poput različitih vrsta pesticida, površinski aktivnih tvari, polimera, naftnih derivata i sl. stvorio je čovjek te se smatraju antropogenim onečišćujućim tvarima. Navedene onečišćujuće tvari prisutne u vodi uzrokuju negativne promjene u njejoj boji, mirisu ili okusu, no međutim ponekad onečišćivala neće dovesti do promjene fizikalnih svojstava vode, ali će je ipak učiniti toksičnom. [4]

Najčešće vrste onečišćujućih tvari i učinci do kojih dovode:

- Organske onečišćujuće tvari

Organski spojevi sastavljeni od ugljika, vodika, kisika, dušika i sumpora vrlo često uzrokuju anaerobne uvjete u ekosustavu zbog povećane potrošnje kisika u vodi. Umjetno stvorena organska onečišćivala poput deterdženata, aditiva, lijekova, boja, insekticida, pesticida, hlapljivih organskih tvari vrlo je teško ukloniti iz vodenog okoliša zbog toga što nisu biorazgradivi pa se time dugo zadržavaju u vodi.

- Anorganske onečišćujuće tvari

Većina zemalja u razvoju suočava se sa velikim problemom onečišćenja vode za piće štetnim kemikalijama poput nitrita, amonijeva nitrata te ionima teških metala. Najveće količine dušikovih spojeva (nitrata, nitrita i amonijaka) te mineralnih fosfata u vodi upravo su posljedica ispuštanja voda s poljoprivrednih gospodarstava i industrijskih otpadnih voda. Prisutnost navedenih spojeva u vodi može uzrokovati mnoge zdravstvene probleme, zbog svoje kancerogenosti često povećavaju rizik od pojave raka želuca, jetre i pluća te se vrlo lako akumuliraju u ljudskom organizmu.

- Nove onečišćujuće tvari

Posljednjih nekoliko godina sve je veća pojava novih onečišćujućih tvari koje uključuju steroide, hormone, lijekove, proizvode za osobnu higijenu, umjetne zaslađivače, kozmetičke preparate i mnoge druge. Njihova koncentracija u vodenom okolišu raste kao posljedica modernog načina života koji podrazumijeva sve veću upotrebu novih kemikalija koje zaostaju u vodi i vrlo teško se iz nje uklanjaju što dovodi do različitih štetnih učinaka po zdravlje ljudi, ali i biljnog svijeta.

- Radioaktivne tvari

Radioaktivni materijali prirodno se nalaze u Zemljinoj kori, talože se na površini tla i otapaju u pitkoj vodi. U vodi se najčešće mogu pronaći radioaktivne tvari nastale kao ostaci pri ekstrakciji urana, derivati nuklearne fuzije, pri ispitivanju nuklearnog oružja, medicinskim istraživanjima, slučajnim curenjem i eksplozijama u nuklearnim reaktorima te industrijskim otpadnim vodama. Njihova prisutnost u vodi za piće povećava rizik od pojave raka, radijacijske bolesti, ali i genetskih mutacija. Kontroliranje ove vrste onečišćenja moguće je putem naprednih oksidacijskih procesa obrade voda.

- Patogene onečišćujuće tvari

U ovu vrstu ubrajaju se mali mikroorganizmi poput bakterija, virusa, gljivica i nekih parazita koji uzrokuju različite vrste bolesti. U vodu dospijevaju iz različitih izvora te se na taj način njome lako prenose. Najčešći virusi prisutni u otpadnim vodama su virusni hepatitis, dok su najčešće patogene gljivice *Candida*. Od bakterija, vodom se najčešće prenose *Cryptosporidium*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*

coli. Bolesti koje se najčešće javljaju kod ljudi kao posljedica mikrobnih onečišćenja vode su kolera, tifus, dizenterija, dječja paraliza i hepatitis. [4]

2.2. IZVORI ONEČIŠĆENJA VODENOG OKOLIŠA

Uobičajeni izvori onečišćenja mogu varirati od potpuno prirodnih do umjetnih koje svakodnevno stvara čovjek poput ispuštanja kućnih i industrijskih otpadnih voda. Potpuno prirodan izvor onečišćenja predstavljaju tvari koje u vodu dopijevaju preko kišnice, prašine, oluja, podzemnih stijena, vulkana te vegetacijskog pokrova. Općenito se onečišćenje vode dijeli na izravno i neizravno. Izravnim onečišćenjem vode smatra se izravno ispuštanje tekućina u vodu, poput kontaminiranih voda koje tvornice ispuštaju u jezera, rijeke, mora itd. Na ovaj način, toksične tvari dopijevaju u vodu koju zatim konzumiraju ribe i drugi vodeni organizmi, ali i životinje te na taj način uzrokuju bolest ili u najgorem slučaju smrt organizma. Neizravnim onečišćenjem smatra se svako neizravno unošenje onečišćujućih tvari u vodu. Primjer neizravnog onečišćenja vode može se predočiti kroz pojavu gnojiva i kemijskih pesticida u podzemnim vodama kao posljedica ispiranja tla koje omogućuje štetnim tvarima da prodiru kroz tlo i uđu u vodotokove. Onečišćenje zraka također je usko povezano s onečišćenjem voda upravo zbog kiselih kiša koje padaju i na taj način dopijevaju na tlo kroz koje vrlo lako prodiru do podzemnih voda. Na ovaj način u vodu dopijevaju različite lebdeće čestice, oksidi, sumpor i dušik. [4]

2.2.1. INDUSTRIJSKI OTPAD

Smatra se glavnim izvorom onečišćenja voda, a grane industrije koje su u tomu vodeće su proizvodna industrija, proizvodnja električne energije, rudarstvo i građevinarstvo te prehrambena industrija. Najtoksičnije onečišćujuće tvari poput organskih kemikalija i teških metala nastaju u proizvodnim industrijama naročito pri proizvodnji kemikalija i preradi nafte. Također i druge grane industrija rezultiraju različitim problematičnim onečišćujućim tvarima koje dopijevaju u vodu putem otpadnih voda prerade tekstila, boja, plastike, proizvodnje farmaceutika, prerade celuloze i mnoge druge. Industrija proizvodnje električne energije izvor je toplinskog i radioaktivnog onečišćenja voda. [6] Ispuštanjem tople vode iz rashladnih motora u industriji dolazi do povećanja temperature vode čime se smanjuje brzina metabolizma organizama i time se povećava njihova potreba za kisikom. Naftna industrija je najveći

onečišćivač mora i oceana zbog izlivanja nafte iz tankera ili polomljenih naftovoda čime dolazi do pomora morske flore i faune. [3]

2.2.2. POLJOPRIVREDNI OTPAD

Poljoprivreda je vodeći izvor onečišćenja sedimenta, ali je također usko povezana i s onečišćenjem vodenog okoliša. Izvor je organskih kemikalija, u prvom redu pesticida koji se danas sve više koriste u modernoj poljoprivredi. Ispiranjem tla, pesticidi i herbicidi su danas otkriveni u tragovima u površinskim, ali i podzemnim vodama u koje dopiru prodiranjem kroz tlo. Na ovaj način, pesticidi su otkriveni u vodama, daleko od njihovog mjesta primjene. Primjenom dušičnih gnojiva javlja se problem zbog povećanja koncentracije nitrata u podzemnim vodama što dovodi do visoke razine nitrata u podzemnim izvorima pitke vode, a time je i povećan rizik od pojave methemoglobinemije, sindroma „plave bebe“ koji je opasan po život vrlo male djece. [6]

2.2.3. OTPAD IZ KUĆANSTVA

Podrazumijeva otpad koji proizvode kućanstva, a tu je najviše zastupljena kanalizacija ili curenje iz septičke jame koje može završiti u prirodnim vodama. U prošlosti su neki gradovi ispuštali neobrađenu ili jedva pročišćenu vodu izravno u jezera, rijeke i mora. Mnogi biljni nutrijenti, koje ljudi koriste za održavanje svojih travnjaka i vrtova, obiluju dušikom i fosforom koji zatim ulaze u vodotokove. Također, ljudi odbacuju kruti otpad direktno u rijeke, jezera, potoke, more i na taj način vodu čine staništem za odbačene limenke, plastične boce, ali i mnoge druge otpadne proizvode. Mnogi proizvodi za čišćenje su sintetski deterdženti koji dolaze iz petrokemijske industrije. Tekući deterdženti i prašci za pranje sadrže i fosfate i time se koriste za omekšavanje vode, a u svom sastavu sadrže i mnoge druge kemikalije koje imaju nepoželjan učinak na floru i faunu vodenog svijeta. [6]

2.3. PRIJENOS I SUDBINA ONEČIŠĆIVALA VODENOG OKOLIŠA

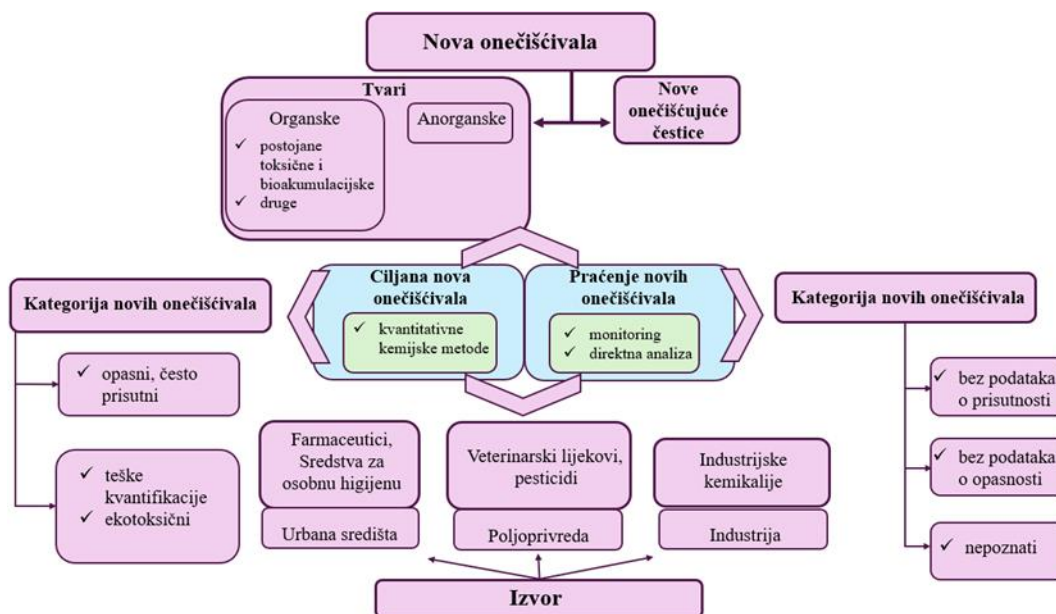
Organske onečišćujuće tvari mogu se na različite načine unijeti u vodeni okoliš, najčešće je to iz točkastih izvora, odnosno izravnim ispuštanjem otpadnih industrijskih voda ili procjednih voda s odlagališta otpada. Također, neizravni izvor onečišćenja, posljedica je taloženja onečišćujućih tvari iz zraka, primjerice pesticida kojima se prskaju poljoprivredni usjevi. Oborine i vjetar mehanički uklanjaju štetne tvari s površine kontaminiranog tla te one ulaze u površinske vode, a zatim i u podzemne vodene tokove i time se prenose na velike udaljenosti od izvornog mjesta onečišćenja. Sudbina onečišćivala je različita, a ovisi o njihovim fizičkim svojstvima, ali i strukturi. Hlapive onečišćujuće tvari mogu ishlapati natrag u atmosferu. Općenito, onečišćivala prolaze kroz niz procesa razgradnje i transformacije koji mogu biti abiotički koji podrazumijevaju procese hidrolize i fotolize (razgradnje uz pomoć sunčeve svjetlosti) ili biotički procesi bioakumulacije i biorazgradnje djelovanjem mikroorganizama. Na ovaj način, organske se onečišćujuće tvari kemijskim i biološkim procesima mogu dovesti do jednostavnijih i neškodljivih spojeva. Pojedini organski spojevi nisu podložni razgradnji ili se razgrađuju u vrlo maloj mjeri pa se tako vrlo lako akumuliraju u različitim dijelovima ekosustava, posebice u vodenom okolišu. Najčešći takvi spojevi su organoklorirani spojevi koje u najvećoj mjeri predstavljaju pesticidi, poliklorirani bifenili te poliklorirani dibenzodoksini i dibenzofurani. Njihova toksičnost dolazi do izražaja zbog dugotrajnog zadržavanja u vodenom okolišu čime značajno štete čitavoj flori i fauni. Podzemne vode podložne su utjecaju onečišćujućih tvari čija će reaktivnost doći do izražaja kroz niz fizikalnih i kemijskih procesa. Ovisno o svojstvima pojedinih onečišćivala, jedan će dio štetnih tvari biti otopljen u vodenoj fazi, dok će se drugi dio lako adsorbirati na suspendiranim česticama i sedimentu. Ovako adsorbirane onečišćujuće tvari na plutajućim česticama zaostaju u vodenom toku te se vodenim strujama prenose na velike udaljenosti, dok će tvari adsorbirane na sedimentu ponovno desorbirati u vodenu fazu i time i dalje onečišćivati podzemne vodene tokove. [7]

Postoje različiti pristupi koji se mogu usvojiti s ciljem kontrole i upravljanja onečišćenjem vodenog okoliša. Regulacija i praćenje onečišćujućih tvari učinkoviti su način upravljanja onečišćenjem. Upravo iz tog su razloga mnoge države donijele zakone o regulaciji različitih vrsta onečišćenja. Kontrolom onečišćenja zapravo se nastoje kontrolirati emisije i ispuštanje otpadnih voda u zrak, vodu, zemlju i tlo. Kada se ove mjere kontrole onečišćenja ne bi provodile, velika količina otpadnih proizvoda od potrošnje, grijanja, poljoprivrede,

rudarstva, prijevoza, proizvodnje i mnogih drugih aktivnosti završile bi u okolišu. Naglasak se stavlja na sprečavanje onečišćenja i smanjenje količine otpada što se nastoji ostvariti recikliranjem, ponovnom uporabom, kompostiranjem i drugim sličnim praksama. Danas se koriste i različiti uređaji kojima se vrlo lako može kontrolirati onečišćenje vodenog okoliša korištenjem ciklona, elektrostatičkih filtera, uređaja za obradu otpadnih voda u kojima su najzastupljeniji procesi sedimentacije (primarna obrada), biofilteri za aktivni mulj (sekundarna obrada), separatori ulja i vode i dr. [3]

2.4. NOVE ONEČIŠĆUJUĆE TVARI U VODENOM OKOLIŠU

Prema brojnim istraživanjima, u europskom vodenom okolišu prisutan je veliki broj novih onečišćujućih tvari zajedno s njihovim metabolitima i produktima transformacije. Nove onečišćujuće tvari (engl. *Emerging pollutants*, EP) definiraju se kao sintetske ili prirodne kemikalije koje se obično ne prate u okolišu, no imaju potencijal ući u okoliš te uzrokovati poznate ili pretpostavljene štetne učinke po okoliš i zdravlje ljudi. Razvitkom novih metoda detekcije uočeni su novi onečišćivači koji su vjerojatno u okolišu prisutni već dulje vrijeme, ali se do sad nisu mogli detektirati. Sintezom novih kemikalija ili promjenom u proizvodnji i odlaganju postojećih, stvaraju se novi izvori novih onečišćujućih tvari koje se zatim rasprostranjuju čitavim okolišem. U vodeni okoliš mogu dospjeti iz točkastih izvora onečišćenja, primjerice postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda industrije, zatim difuznih izvora putem atmosferskog taloženja ili iz biljne i životinjske proizvodnje (slika 1). Neke od najistaknutijih vrsta novih onečišćivala su farmaceutici, pesticidi, nusproizvodi dezinfekcije, industrijske kemikalije i dr. S obzirom na rizik koji nose sa sobom, potrebno je veliku pažnju posvetiti razvitku analitičkih tehnika i tehnika uzorkovanja kako bi se sa što većom preciznošću mogla pratiti njihova prisutnosti u svim sferama ekosustava, naročito u vodenom svijetu. [8]



Slika 1. Vrste novih onečišćivala s obzirom na različiti izvor uz načine na koje se tretiraju i prate. [8]

Onečišćenje farmaceutskim mikro polutantima u posljednje je vrijeme sve više zabrinjavajuće. Učinak koktela aktivnih farmaceutika na ne-ciljane organizme je za sada još uvijek nepoznat. Kokteli aktivnih farmaceutika i njihovih aktivnih metabolita ulaze u okoliš zbog nemogućnosti potpunog uklanjanja pomoću uređaja za pročišćavanje otpadnih voda nakon ljudske i veterinarske upotrebe. [9]

Rutinska upotreba široko rasprostranjenih ljudskih i veterinarskih farmakološki aktivnih proizvoda koji uglavnom sadrže antiretrovirusne lijekove, antibiotike, ne-steroidne protuupalne lijekove i analgetike, steroidne hormone, beta-blokatore, regulatore lipida, antipiretike, psihostimulanse i dr. doprinosi ovom izazovu. Rasprostranjenost novih mikroonečišćivača sve je veća u vodenim tijelima, pa tako predstavlja velik interes za znanstvena istraživanja zbog zdravstvenih rizika i utjecaja na okoliš povezanih s izloženošću ovim spojevima što zahtjeva redovito praćenje izvora vode. Navedene skupine mikro polutanata uglavnom prevladavaju u vodenom okolišu preko izlučevina ljudi i stoke, septičkih jama, nedovoljno pročišćenih otpadnih voda te otpadnih voda iz pogona farmaceutskih industrija. Naročito velik problem stvara i neadekvatno odlaganje zaliha s istekom roka trajanja u farmaceutskim industrijama pa tako procjedne vode s farmaceutskih odlagališta onečišćuju podzemne i površinske vode. [10]

Glavni točkasti izvor mikro polutanata u vodenom okolišu, među kojima su najzastupljeniji farmaceutici, uglavnom predstavljaju centralizirana postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda. Aktivni sastojci i njihovi metaboliti podvrgavaju se razrjeđivanju s velikim količinama vode i tako dospijevaju u odvod gdje se miješaju s drugim kućanskim kemikalijama i proizvodima za osobnu njegu. Otpadne vode iz kućanstava, bolnica i industrija se miješaju i usmjeravaju u centralizirana postrojenja za obradu i pročišćavanje otpadnih voda. Tamo se prisutni organski mikro polutanti razrjeđuju do vrlo niskih koncentracija, koje se ne mogu učinkovito ukloniti iz uređaja za pročišćavanje otpadnih voda, te tako postaju sveprisutni u vodenom okolišu. [9]

2.4.1. REGULATIVE O ONEČIŠĆIVALIMA U EUROPSKOJ UNIJI

U skladu sa zakonodavstvom Europske unije (EU) o vodama i u skladu sa željom nultog onečišćenja Europskog zelenog plana, Europska je komisija 26. listopada 2022. godine podnijela prijedlog za reviziju popisa onečišćujućih tvari površinskih i podzemnih voda. Na ovaj način nastoje se pratiti i kontrolirati onečišćujuće tvari u svrhu zaštite slatkovodnih tijela EU. Okvirna direktiva EU (engl. *Water Framework Directive*, WFD) o vodama, glavni je pravni instrument za zaštitu voda koja zahtjeva da sva tijela površinskih i podzemnih voda postignu „dobar“ status najkasnije do 2027. godine. Kako bi površinske i podzemne vode dobile „ukupno dobar“ status, njihovo kemijsko, ekološko i kvantitativno stanje mora biti prihvatljivo. WFD je uredila popis prioriternih onečišćujućih tvari koje predstavljaju najveću opasnost i rizik za vodeni okoliš u cijeloj EU koje sve države članice moraju pratiti u površinskim vodama. Popis (*Direktiva 2000/60/EZ*) sadrži 45 kemijskih onečišćujućih tvari kategoriziranih kao prioriterni tvari, uključujući industrijske kemikalije, pesticide i metale, dok je 21 tvar označena kao prioriterna opasna tvar zbog svoje postojanosti, bioakumulacije i toksičnosti (tablica 1). Na temelju WFD direktive, nužno je provesti mjere za smanjenje emisija, ispuštanja i gubitaka prioriternih tvari u vodu te za postupno ukidanje prioriterni opasnih tvari unutar 20 godina od njihova proglašenja. [11]

Tablica 1. Popis prioritetnih tvari iz područja vodne politike EU iz *Direktive 2000/60/EZ*.
[12]

Broj	CAS broj	EU broj	Naziv prioritetne tvari	Utvrđena kao prioritetna opasna tvar
(1)	15972-60-8	240-110-8	Alaklor	
(2)	120-12-7	204-371-1	Antracen	X
(3)	1912-24-9	217-617-8	Atrazin	
(4)	71-43-2	200-753-7	Benzen	
(5)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Bromirani difenil-eteri	X
(6)	7440-43-9	231-152-8	Kadmij i njegovi spojevi	X
(7)	85535-84-8	287-476-5	Kloroalkani, C ₁₀ -C ₁₃	X
(8)	470-90-6	207-432-0	Klorofenvinfos	
(9)	2921-88-2	220-864-4	Klorpirifos	
(10)	107-06-2	203-458-1	1,2-dikloroetan	
(11)	75-09-2	200-838-9	Diklorometan	
(12)	117-81-7	204-211-0	Di(2-etilheksil)ftalat	X
(13)	330-54-1	206-354-4	Diuron	
(14)	115-29-7	204-079-4	Endosulfan	X
(15)	206-44-0	205-912-4	Fluoranten	
(16)	118-74-1	204-273-9	Heksaklorobenzen	X
(17)	87-68-3	201-765-5	Heksaklorobutadien	X
(18)	608-73-1	210-168-9	Heksaklorocikloheksan	X
(19)	34123-59-6	251-835-4	Izoproturon	
(20)	7439-92-1	231-100-4	Olovo i njegovi spojevi	
(21)	7439-97-6	231-106-7	Živa i njezini spojevi	X
(22)	91-20-3	202-049-5	Naftalen	
(23)	7440-02-0	231-111-4	Nikal i njegovi spojevi	
(24)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Nonilfenoli	X
(25)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Oktilfenoli	
(26)	608-93-5	210-172-0	Pentaklorobenzen	X
(27)	87-86-5	201-778-6	Pentaklorofenol	
(28)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Poliaromatski ugljikovodici	X
(29)	122-34-9	204-535-2	Simazin	
(30)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Tributilkositreni spojevi	X
(31)	12002-48-1	234-413-4	Triklorobenzeni	

(32)	67-66-3	200-663-8	Triklorometan	
(33)	1582-09-8	216-428-8	Trifluralin	X
(34)	115-32-2	204-082-0	Dikofol	X
(35)	1763-23-1	217-179-8	Perfluorooktan sulfonička kiselina i njezini derivati	X
(36)	124495-18-7	Ne primjenjuje se	Kinoksifen	X
(37)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Dioksini i spojevi poput dioksina	X
(38)	74070-46-5	277-704-1	Aklonifen	
(39)	42576-02-3	255-894-7	Bifenoks	
(40)	28159-98-0	248-872-3	Cibutrin	
(41)	52315-07-8	257-842-9	Cipermetrin	
(42)	62-73-7	200-547-7	Diklorvos	
(43)	Ne primjenjuje se	Ne primjenjuje se	Heksabromociklododekan	X
(44)	76-44-8/ 1024-57-3	200-962-3/ 213-831-0	Heptaklor i heptaklor epoksid	X
(45)	886-50-0	212-950-5	Terbutrin	

Dobro kemijsko stanje površinskih voda znači da koncentracije svih prioriternih tvari ne prelaze standarde kvalitete okoliša. Podzemne vode izložene su najviše nitratima i aktivnim tvarima u pesticidima uključujući i njihove metabolite, produkte razgradnje i reakcije. Kako bi se podzemna voda okarakterizirala dobrim kemijskim stanjem, koncentracija prioriterno opasnih onečišćujućih tvari ne smije prelaziti postavljene standarde jer se na taj način također sprječava onečišćenje površinskih voda povezanih s podzemnim izvorima. [11]

Standardi kvalitete i popis prioriternih onečišćivala redovito se preispituju na temelju procjene rizika koji predstavljaju za ljude i vodeni okoliš. Procjena rizika zasniva se na praćenju koncentracije tvari u okolišu, njihovu (eko)toksikologiju, postojanost, bioakumulaciju, kancerogenost, mutagenost, reproduktivnu toksičnost te potencijal endokrinih poremećaja. U cilju podržavanja identifikacije prioriternih onečišćivala za regulaciju, 2013. godine uspostavljen je popis svih nadziranih površinskih voda kako bi se dobili visokokvalitetni podaci za čitavo područje EU o novonastalim onečišćivalima i tvarima koje predstavljaju značajan rizik po čitav okoliš. Dužnost država članica EU je redovito praćenje prioriternih tvari s popisa najmanje jednom godišnje, a popis se revidira svake dvije godine. [11]

Procjena stanja svih voda provodi se svakih šest godina, prema podacima iz 2015. godine 38 % tijela površinskih voda bilo je u dobrom kemijskom stanju, dok 46 % nije postiglo dobro stanje, a 16 % je bilo deklarirano nepoznatim statusom. U većini zemalja EU loš kemijski status postignut je zbog prisutnosti žive i bromiranih usporivača gorenja. Podaci o statusu podzemnih voda, također iz 2015. godine, ukazuju kako je 75 % tijela podzemnih voda okarakterizirano dobrim kemijskim statusom, 24 % nije postiglo dobar status, dok je svega 1 % ostalo nepoznatog statusa. Podaci iz 2021. godine još nisu poznati, ali preliminarne analize Europske agencije za okoliš na temelju dostupnih podataka zaprimljenih od 11 država članica ukazuju na uglavnom stabilnu situaciju u odnosu na istraživanje iz 2015. godine. [11]

2.4.2. COVID-19

Koronavirusna bolest (COVID-19) je visoko zarazna bolest uzrokovana koronavirusom povezanom s teškim akutnim respiratornim sindromom (SARS-CoV-2). 11. ožujka 2020. godine WHO je proglasila pandemiju koronavirusa sa 101-im milijunom potvrđenih slučajeva i 2,2 milijuna smrtnih slučajeva diljem svijeta. Kako ne postoje specifični terapijski lijekovi priznati za ciljano liječenje SARS-CoV-2 virusa, mnogi su postojeći lijekovi testirani kao mogući terapijski agensi za liječenje pacijenata oboljelih od COVID-19. Tijekom pandemije provedena su mnoga istraživanja s ciljem pronalaska potencijalnog rješenja za sprečavanje i ublažavanje tegoba uzrokovanih navedenim virusom. Tako je tijekom istraživanja otkrivena mogućnost korištenja, a ubrzo nakon toga odobrena i uporaba u bolnicama, remdesivira, antivirusa protiv ebole, u skraćivanju vremena oporavka odraslih pacijenata oboljelih od COVID-19. Također, jedno od mogućih rješenja kako bi se smanjila smrtnost oboljelih pacijenata na respiratoru bile su niske doze deksametazona, sintetskog kortikosteroida što se ujedno smatra i velikim napretkom u liječenju COVID-19. [13]

Budući da je virus jako brzo napredovao, najviše je pažnje usmjereno upravo na razvijanje lijekova kojima bi se efikasno suzbila zaraza. Tako je pandemija rezultirala velikom potrošnjom antivirusa, antibiotika, antiparazitika, antiprotozoa, antiepileptika, analgetika, antidijabetika, glukokortikoida, antialergika, antidepresiva, lijekova protiv raka i dr. Nakon konzumacije, ljudsko tijelo metabolizira samo 60-70 % aktivnih lijekova, a zaostali metaboliti i nemetabolizirani lijekovi se izlučuju urinom 55-80 %, a zatim slijedi feces 4-30 %. Kao posljedica izlučivanja, oni su otkriveni u okolišu, posebice u otpadnim vodama što može

dovesti do negativnih učinaka poput genotoksičnosti, ekotoksičnosti i razvoju bakterijske rezistencije. Ovi spojevi ne mogu se učinkovito i u potpunosti ukloniti iz otpadnih voda konvencionalnim metodama zbog svojih kemijskih svojstava i stabilnosti. [14]

2.4.3. ANTIVIROTICI

Antiviroci, odnosno antivirusna sredstva, su lijekovi koje je odobrila Uprava za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) za liječenje ili kontrolu virusnih infekcija. Djeluju ciljano na faze u životnom ciklusu virusa. Idealnim antivirusom smatra se lijek koji je učinkovit protiv virusa koji se aktivno repliciraju te protiv latentnih virusa. Međutim, dostupni antivirusi učinkoviti su većinom samo protiv replicirajućih virusa. Razvoj antivirusa nije trivijalan, budući da je virusna replikacija povezana sa stanicom domaćinom, pa svaki antivirusni agens koji čak i u vrlo maloj mjeri ulazi u interferenciju sa stanicom domaćina može biti toksičan za domaćina, ovisno o trajanju i korištenoj dozi. Faze koje antivirusi ciljaju u životnom ciklusu virusa su: pričvršćivanje virusa na stanicu domaćina, uklanjanje omotača, sinteza virusne mRNA, translacija mRNA, replikacija virusne RNA i DNA, sazrijevanje novih virusnih proteina, pupanje, otpuštanje novosintetiziranog virusa i slobodni virus u tjelesnim tekućinama. Polovica dostupnih antivirusa uglavnom se koristi za liječenje infekcija uzrokovanih virusom humane imunodeficijencije (HIV), dok se ostatak koristi za liječenje virusa *herpes simplex* (HSV), virusa *varicella zoster* (VZV), citomegalovirusa (CMV), virusa hepatitisa B (HBV), virusa hepatitisa C (HCV), respiratornog sincicijskog virusa (RSV), humani papiloma virus (HPV) i bolesti povezanih s virusom gripe. Ciljevi liječenja akutnih virusnih infekcija kod imunokompetentnih pacijenata su smanjiti ozbiljnost bolesti i njezinih komplikacija te smanjiti stopu prijenosa virusa. Terapijski indeks antivirusnog agensa, odnosno omjer učinkovitosti i toksičnosti, mora biti iznimno visok kako bi terapija bila prihvatljiva. Budući da je za kronične virusne infekcije cilj spriječiti virusno oštećenje visceralnih organa, učinkovitost antivirusa postaje najvažnija. Antivirusi se mogu koristiti za profilaksu, supresiju, preventivnu terapiju ili liječenje otvorene bolesti. Učinkovitost antivirusnog agensa ograničena je toksičnošću i razvojem otpornosti virusa na antivirusičko sredstvo, dok je kod pojedinca učinkovitost ograničena fenotipskim ponašanjem domaćina prema antivirusičkom sredstvu kao posljedica genomskih ili epigenetskih čimbenika. [15]

Postoje dvije glavne skupine u koje se mogu svrstati antivirusni lijekovi:

1. Antiretrovirusni lijekovi

Polovica dostupnih antivirusnih lijekova su antiretrovirolici, a koriste se u najvećoj mjeri za liječenje infekcija uzrokovanih HIV-om. FDA je do sada odobrila 20 antiretrovirusnih lijekova, dok je mnogo veći broj njih još uvijek u fazama kliničkih ispitivanja. [16]

2. Opći antivirusni lijekovi (ne-antiretrovirusni lijekovi)

Ne-antiretrovirusni lijekovi uključuju analoge nukleozida kao što su aciklovir, famciklovir, valaciklovir, ganciklovir, penciklovir, valganciklovir i ribavirin. Navedeni antivirolici su najznačajniji u liječenju infekcija uzrokovanih virusom herpesa. [16]

Antivirusni lijekovi korišteni su kao terapijski agensi u liječenju COVID-19 zbog njihove sposobnosti da smanje virusno opterećenje različitih bolesti.

Pojava antivirusnih lijekova u okolišu predstavlja sve veću zabrinutost diljem svijeta. Njihova je prisutnost istražena u različitim vodenim sustavima poput sirove otpadne vode, otpadne vode iz postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda, površinske vode, podzemne vode pa čak i pitke vode. Antivirusni lijekovi mogu dospjeti u okoliš na različite načine, a među njima su najvažniji:

- a) Kućni otpad i kanalizacijske otpadne vode uključujući septičke jame, curenje podzemnih kanalizacijskih vodova, površinsko otjecanje vode ili neizravno izlučivanje nemetaboliziranih matičnih spojeva kroz fekalije i urin. Razina do koje se spoj metabolizira u tijelu ovisi o njegovom mehanizmu djelovanja i strukturi, dok se ostatak može hidroksilirati ili konjugirati, a zatim izlučiti fecesom.
- b) Odlaganje neželjenih lijekova i lijekova s istekom roka trajanja u umivaonik i toalet ili se zajedno s kućnim otpadom odvoze na odlagališta s kojih procjedne vode istječu u podzemne vode.

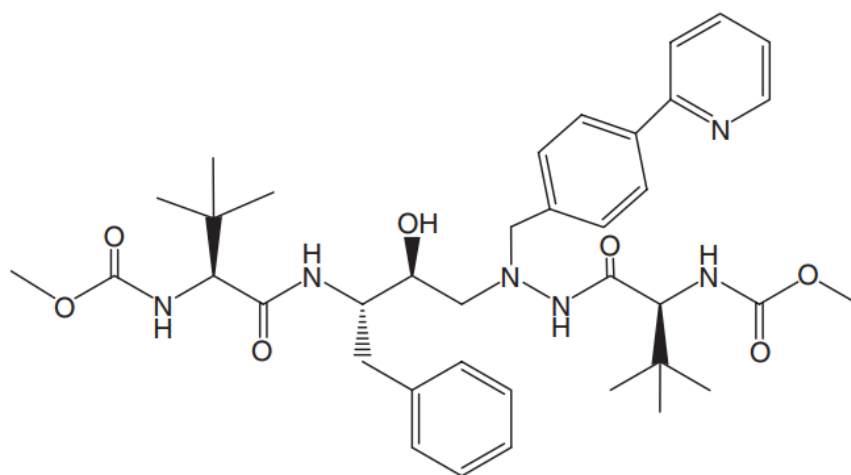
Nemetabolizirani antivirusni lijekovi izlučuju se putem urina i fecesa i tako dopijevaju u otpadne vode. Postrojenja za pročišćavanje voda ne mogu u potpunosti i učinkovito ukloniti sveprisutne lijekove u otpadnim vodama pa tako većina njih pronalazi put do površinskih i podzemnih izvora vode. Obično, prisutnost malih koncentracija antivirusnih lijekova u vodi za

piće dovodi do pojave rezistencije prema tim lijekovima što u konačnici šteti i ljudima i životinjama. [16]

Budući da je interes za otkrivanjem i praćenjem koncentracije antivirotika u vodenom okolišu velik, razvijaju se učinkovite metode koje će u tome biti učinkovite. Danas se većina antivirusnih lijekova može odrediti tekućinskom kromatografijom s tandemskom masenom spektrometrijom (engl. *Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry*, LC/MS/MS), UV spektrometrijom i tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti s tandemskom masenom spektrometrijom (engl. *High Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry*, HPLC/MS/MS). Većina spektrofotometrijskih metoda bazira se na niskoj osjetljivosti, visokim granicama detekcije, zamornih eksperimentalnih uvjeta te složenih postupaka pripreme uzoraka ili standardnih otopina. Tehnike koje su temeljene na HPLC i LC/MS/MS su izrazito skupe, ali prednost su brze analize i visok stupanj rezolucije što ih čini prihvatljivim većini istraživača. [16]

2.4.3.1. ATAZANAVIR

Atazanavir (ATV) ili prema IUPAC-u, metilN-[(2S)-1-[2-[(2S,3S)-2-hidroksi-3-[[[(2S)-2-(metoksikarbonilamino)-3,3-dimetilbutanoil]amino]-4-fenilbutil]-2-[(4-piridin-2-ilfenil)metil]hidrazinil]-3,3-dimetil-1-oksobutan-2-il]karbamat antiretrovirusni je lijek koji se koristi za liječenje infekcija uzrokovanih HIV-om te liječenje sindroma stečene imunodeficijencije (AIDS). Molekulska formula ATV-a je $C_{38}H_{52}N_6O_7$, molekulska masa 704,9 g/mol, a njegova kemijska struktura prikazana je na slici 2. Jedinstveni identifikacijski broj (engl. *Chemical Abstracts Service Register Number*, *CAS number*) pod kojim se ATV pronalazi je 198904-31-3. Njegova topljivost u vodenom mediju iznosi 0,00327 mg/mL pri 25°C. [17]



Slika 2. Kemijska struktura ATV-a. [15]

ATV je odobren 20. lipnja 2003. godine od FDA kao antiretrovirusni lijek iz klase azopeptidnih inhibitora proteaze (engl. *Protease inhibitor*, PI) za liječenje infekcija uzrokovanih HIV-om. Razlika između ATV-a i drugih PI je to što se ATV uzima samo jednom dnevno te ima manji učinak na pacijentov lipidni profil, odnosno količinu kolesterola i drugih masnih tvari u krvi. Koristi se samo u kombinaciji s drugim lijekovima za liječenje HIV-a, a dolazi u obliku kapsula i oralnog praha. [17] Nuspojave povezane s uzimanjem ATV-a najčešće su mučnina, proljev te ukupni povišeni bilirubin. [18]

ATV je 86 % vezan za ljudske serumske proteine, a vezanje za proteine nije neovisno o koncentraciji, također je vezan i za alfa-1-kiseli glikoprotein (AAG) i za albumin u sličnoj mjeri (89 % odnosno 86 %). Distribucija ATV-a u tjelesnim tekućinama je niska i vrlo varijabilna, a to je potvrđeno na temelju mnogih istraživanja s višestrukim dozama primijenjenim na pacijentima zaraženim HIV-om. [19]

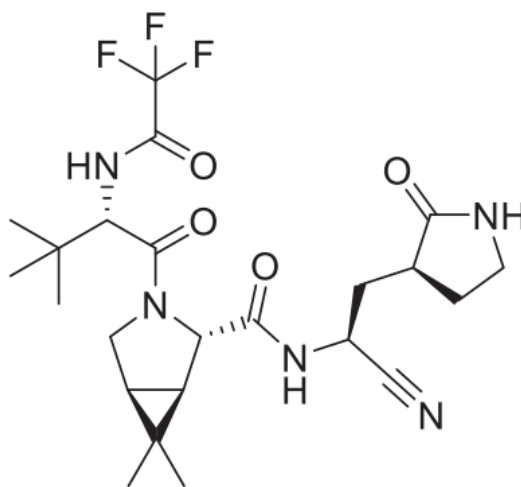
Kao i mnogi drugi PI, ATV se metabolizira uz pomoć jetrenih izoenzima, pri čemu samo tri manja metabolita ne pokazuju anti-HIV aktivnost. Eliminacija ATV-a i njegovih metabolita provodi se putem žuči i urina za 79 %, odnosno 13 % primijenjene doze. Nepromijenjeni oblik lijeka iznosi otprilike 20 %, što je zapravo 7 % od ukupno primijenjene doze u fecesu i urinu. [19]

Mnogi antiretrovirusni lijekovi za liječenje HIV-a, poput ATV-a, testirani su i za liječenje ili smanjenje simptoma COVID-19, pa je tako tijekom pandemije povećana i njihova prisutnost

u vodenom okolišu. [20] Analitičko određivanje ATV-a kao i drugih antivirusnih lijekova u prirodnim i otpadnim vodama težak je proces zbog vrlo niskih koncentracija prisutnih lijekova. Tijekom mnogih znanstvenih istraživanja, nastojalo se ispitati uklanjanje ATV-a konvencionalnim postupcima s primarnim i sekundarnim tretmanom bez kloriranja. Singer i suradnici [18], proučavali su prisutnost ATV-a na području Švicarske, pri čemu je ATV otkriven u efluentu postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda s koncentracijama uglavnom u rasponu od 150 do 770 ngL⁻¹. Abafe i suradnici [18] pratili su postupke uklanjanja ATV-a iz otpadnih voda na području Južne Afrike tijekom primarne sedimentacije, obrade aktivnog mulja, biološke nitrifikacije te uklanjanja fosfora, sekundarne sedimentacije koja je pokazala učinkovitost uklanjanja ATV -a u rasponu od 25 do 50 % s utjecajnim koncentracijama u rasponu 20-1400 ngL⁻¹. Na temelju ovih zapažanja može se zaključiti kako se ATV neučinkovito uklanja konvencionalnim postupcima obrade vode. [18]

2.4.3.2. NIRMATRELVIR

Nirmatrelvir (NTV) ili prema IUPAC-u (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-cijano-2-[(3S)-2-oksopirolidin-3-il]etil]-3-[(2S)-3,3-dimetil-2-[(2,2,2-trifluoroacetyl)amino]butanoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]heksan-2-karboksamid ubraja se u skupinu antivirusnih sredstava kao oralni PI s odobrenjem za hitnu upotrebu za liječenje blage do umjerene bolesti COVID-19. Molekulska formula NTV-a je C₂₃H₃₂F₃N₅O₄, molarna masa 499,5 g/mol, dok je kemijska formula NTV-a prikazana slikom 3. CAS broj pod kojim se NTV pronalazi je 2628280-40-8. [21]



Slika 3. Kemijska struktura NTV-a. [22]

Pojava novog virusa tijekom prosinca 2019. godine, poznatog kao SARS-CoV-2, uzrokovala je brzo širenje zaraze diljem svijeta pri čemu je zaraza obuhvatila više od 537 milijuna ljudi te uzrokovala više od 6,3 milijuna smrti do 20. lipnja 2022. godine. U to je vrijeme porasla potražnja za prilagodljivim dijagnostičkim metodama, cjepivima i antivirusnim lijekovima. Za razliku od virusa SARS-CoV-a, veliki postotak osoba zaraženih virusom SARS-CoV-2 je bez simptoma čime je znatno otežano praćenje kontakata zaraženih, a zaraza se brzo širila čak i u zemljama s visokom stopom procijepljenosti. Upravo iz tih je razloga, porastao je interes, ali i potražnja za oralno bioraspoloživim antiviroticima. [22]

NTV je oralno bioraspoloživi peptidomimetički inhibitor glavne proteaze koji je razvio Pfizer. Veže se izravno na glavno aktivno mjesto proteaze SARS-CoV-2, inhibira glavnu proteazu i time je čini nesposobnom za obradu poliproteinskih prekursora čime posljedično sprječava replikaciju virusa. Prilikom razvijanja novog PI SARS-CoV-2, testiranje je provedeno na pacijentima visoko-rizične skupine. Testiranje je obuhvatilo 2246 pacijenata pri čemu je za gotovo 89 % smanjen broj hospitalizacija zbog COVID-19 bolesti te nije zamijećen smrtni ishod, dok je kod pacijenata u placebo skupini zabilježeno 7 smrtnih ishoda. FDA je 22. prosinca 2021. godine izdala odobrenje za hitnu upotrebu Paxlovida, kombiniranog proizvoda koji sadrži NTV i ritonavir (RTV) za liječenje pacijenata s blagim do umjerenim simptomima COVID-19. U potpunosti je Paxlovid odobren od strane FDA tek 25. svibnja 2023. U Kanadi, Paxlovid je odobren u siječnju 2022. godine, dok je Europska komisija dodijelila uvjetno odobrenje za stavljanje u promet 27. siječnja 2022. [23]

RTV je snažni inhibitor enzima CYP3A (engl. *Cytochrome P450, family 3, subfamily A*) koji se koristi kako bi inhibirao metabolizam NTV-a i tako povećao njegovu koncentraciju u plazmi pri čemu je tada NTV za 69 % vezan za proteine u plazmi. Osim što povećava sistemska koncentraciju NTV-a, RTV povećava poluvrijeme eliminacije NTV-a koje u tom slučaju iznosi 6 sati. Međutim, njegova primjena predstavlja značajan rizik od interakcije lijekova zbog njegovog snažnog profila inhibicije pa se zbog toga pacijenti obavezno moraju konzultirati s liječnicima prije uzimanja Paxlovida. Nuspojave do kojih dovodi uzimanje Paxlovida su najčešće disgeuzija, proljev, hipertenzija te mialgija.[23]

Nakon primjene NTV-a, njegov glavni put eliminacije je putem bubrega, što je jednim dijelom posljedica njegovog uzimanja s RTV-om koji inhibira njegov metabolizam. Nakon oralne primjene NTV-a u kombinaciji s RTV-om, 49 % ostatka lijeka pronađeno je u fecesu,

dok je oko 35,3 % pronađeno u urinu. Na ovaj način, NTV postaje sastavnica otpadnih kanalizacijskih voda kućanstava i bolnica koje se pročišćavaju u konvencionalnim postrojenjima za obradu otpadnih voda. Također, sastavnica je i otpadnih voda farmaceutskih industrija koje također prolaze kroz sustav za pročišćavanje otpadnih voda. No, međutim, konvencionalni pristup obradi voda nije dovoljno učinkovit za efikasno uklanjanje prisutnog NTV-a, ali i ostalih farmaceutika. [23]

2.5. METODE OBRADNE OTPADNIH VODA

Otpadne se vode mogu definirati kao kombinacija tekućeg ili vodom nošenog otpada uklonjenog iz kućanstava, institucija, komercijalnih i industrijskih objekata, zajedno s podzemnom vodom, površinskom vodom i oborinskom vodom. Sadrži veliku količinu otpada koji troši kisik, patogene tvari ili uzročnike bolesti, organske tvari, hranjive tvari koje stimuliraju rast biljaka, anorganske kemikalije, minerale i sedimente. U otpadnim se vodama često nalaze i mnoge toksične tvari.

Tijekom godina, glavni cilj pročišćavanja otpadnih voda bio je smanjiti njihov sadržaj suspendiranih krutih tvari, tvari koje troše kisik, otopljenih anorganskih spojeva i štetnih bakterija. Danas se veći naglasak stavlja na poboljšanje načina odlaganja krutih ostataka nakon konvencionalne obrade otpadnih voda. Osnovna podjela metoda pročišćavanja otpadnih voda je u tri stupnja: primarno, sekundarno i tercijarno pročišćavanje.

Konvencionalne metode obrade otpadnih voda podrazumijevaju kombinaciju fizikalnih, kemijskih i bioloških procesa i operacija za uklanjanje krutih tvari, organskih tvari i ponekad hranjivih tvari iz otpadne vode. Stupnjevi koji se općenito koriste prilikom obrade otpadnih voda su preliminarni, primarno, sekundarno i tercijarno, odnosno napredno pročišćavanje.

Preliminarnim tretmanom nastoje se ukloniti grube krute tvari iz sirove otpadne vode. Uglavnom su to komadići drva, tkanine, papira, plastike, ostalog otpada zajedno sa nešto fekalija, teške anorganske krutine poput pijeska, šljunka, metala i stakla. [24]

Primarnom obradom uklanjaju se organske i anorganske krute tvari fizikalnim procesima sedimentacije i flotacije. Na ovaj se način ukloni 50-70 % ukupno suspendiranih krutih tvari te 65 % masti i ulja. Tijekom primarne sedimentacije se uklanjaju organski dušik i organski fosfor

te neki teški metali povezani s krutim tvarima, dok otopljene tvari ne podliježu primarnoj obradi. Ovim se načinom obrade voda dobiva primarni efluent. [24]

Najnoviji standardi otpadnih voda i standardi kvalitete vode zahtijevaju veći stupanj uklanjanja organskih tvari iz otpadnih voda što nije moguće samo preliminarnim tretmanom. Sekundarnim stupnjem obrade nastoji se pročistiti primarni efluent od zaostalih organskih tvari i suspendiranih krutih tvari. Proces sekundarne obrade podrazumijeva biološku obradu otpadnih voda korištenjem različitih vrsta mikroorganizama u kontroliranim uvjetima. Aerobni biološki procesi koji se koriste kod sekundarne obrade, prvenstveno se razlikuju u načinu na koji mikroorganizmi troše kisik i stupnju do kojeg razgrade organske tvari. [24]

Primarnim i sekundarnim procesima obrade ukloni se većina krutih suspendiranih tvari i organskih tvari koje se nalaze u otpadnim vodama, ali još uvijek tako pročišćena voda ne zadovoljava kriterije kvalitete kako bi se mogla ponovno koristiti. Zbog toga se voda nakon sekundarne obrade podvrgava daljnjoj obradi kako bi se povećala učinkovitost uklanjanja organske tvari, hranjivih tvari i toksičnih materijala. Tercijarna obrada vode se još naziva i napredna obrada te podrazumijeva bilo koji proces osmišljen za dobivanje vode bolje kvalitete u odnosu na kvalitetu vode koja se dobiva nakon sekundarnog pročišćavanja ili proces proveden u jedinicama koje se ne nalaze u postrojenju za sekundarnu obradu. Napredno se pročišćavanje voda dijeli na tri kategorije, a to su tercijarni tretman, fizikalno-kemijska obrada te kombinirani biološko-fizikalni tretman. Kombinacije fizikalno-kemijski-bioloških metoda koriste se kako bi se dobio efluent zadovoljavajuće kakvoće, a razlikuju se od tercijarne obrade po tome što se u tercijarnoj obradi svaki jedinični proces dodaje nakon konvencionalne sekundarne obrade, dok su procesi obrade kod kombiniranih metoda mješoviti. [24]

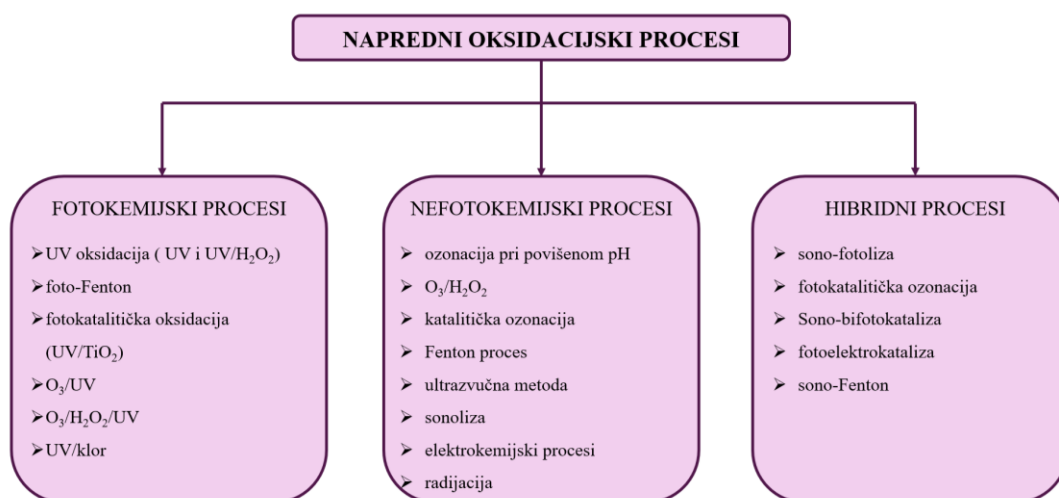
2.6. NAPREDNI OKSIDACIJSKI PROCESI

Organske tvari iz otpadnih voda predstavljaju veliku opasnost za vodeni ekosustav i zdravlje ljudi. Posebice danas, veliku prijetnju po okoliš predstavljaju lijekovi koji u svom sastavu sadrže različite aktivne supstance koje ostavljaju negativan učinak na okoliš. Njihova otpornost prema biorazgradnji čini konvencionalne biološke i kemijske metode neučinkovitima, čime dolazi do povećanja koncentracije aktivnih supstanci i njihovih metabolita u vodenom okolišu. Zbog toga su farmaceutici proglašeni novim opasnim onečišćivalima koja zahtijevaju nove tehnologije kako bi se uklonili iz okoliša. Uz postojeće

tehnologije obrade voda, veliki potencijal za uklanjanje onečišćivala označenih kao nove opasne tvari predstavlja napredni oksidacijski procesi (NOP). [25]

NOP su prvi put predloženi za obradu pitke vode tijekom 1980-ih godina prošlog stoljeća. Tada su definirani kao oksidacijski procesi koji uključuju generiranje hidroksilnih radikala ($\text{HO}\cdot$) u dovoljnim količinama za pročišćavanje vode. Nekoliko godina kasnije koncept NOP-a proširen je na oksidativne procese koji generiraju sulfatne radikale ($\text{SO}_4\cdot^-$). U usporedbi s uobičajenim oksidansima, poput klora i ozona, koji imaju dvostruku ulogu dezinfekcije i dekontaminacije, NOP se primarno koriste za degradaciju organskih i anorganskih onečišćivala u vodi i otpadnim vodama. [26]

NOP se najčešće svrstavaju u 2 glavne skupine s obzirom na način aktivacije pri čemu razlikujemo fotokemijske i termalne (ne-fotokemijske) metode. Danas se provode mnoga znanstvena istraživanja s ciljem razvijanja novih NOP-a, pa se time često koriste hibridni procesi koji uključuju kombinaciju NOP-a i konvencionalnih metoda obrade voda. (slika 4) [25]



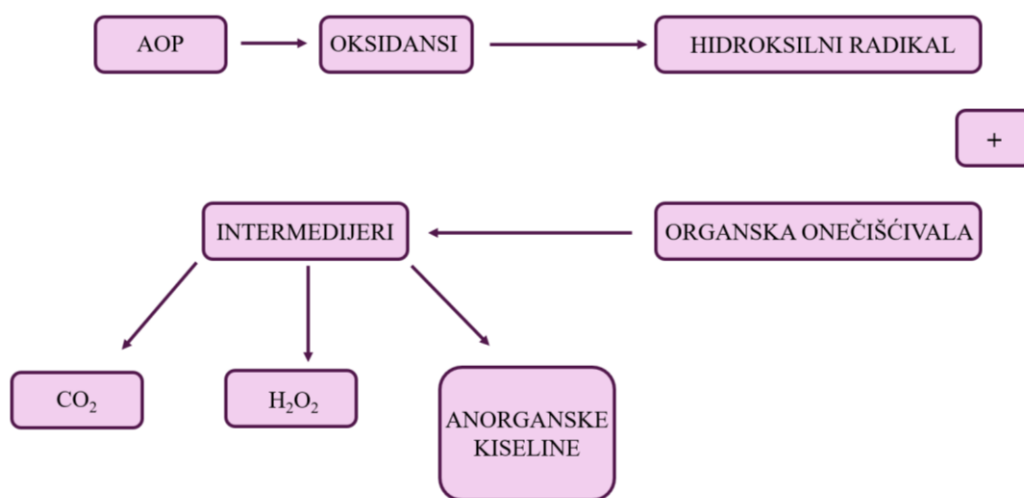
Slika 4. Tipovi NOP-a. [24]

Glavni mehanizam NOP-a je generacija visoko reaktivnih slobodnih radikala. Hidroksilni radikal, $\text{HO}\cdot$, je najreaktivnije oksidacijsko sredstvo pri obradi voda s oksidacijskim potencijalom između 2,8 V (pH = 0) i 1,95 V (pH = 14) mjenjenim u odnosu na standardnu kalomel elektrodu. Prednosti $\text{HO}\cdot$ su njegovo neselektivno ponašanje i brze reakcije

s različitim vrstama onečišćujućih tvari. Reakcija HO· i organske onečišćujuće tvari može se odigrati na 4 različita načina: radikalskom adicijom (1), apstrakcijom vodika (2), prijenosom elektrona (3) ili kombinacijom radikala. U navedenim jednadžbama reakcija, R predstavlja organsku komponentu. [26]



Reakcijom između organske tvari i HO· nastaju novi radikali s centralnim atomom ugljika (R· ili R·-OH). U reakciji nastalih radikala s kisikom, nastaju peroksilni radikali, ROO· (4). Na ovaj način stvoreni radikali, nastavljaju reagirati s drugim reaktivnim vrstama poput H₂O₂ i super oksida (O₂^{·-}) što zapravo predstavlja kemijsku degradaciju koja u konačnici dovodi do mineralizacije organske tvari sve do CO₂, H₂O i anorganskih kiselina (slika 5). [25]



Slika 5. Mehanizam NOP-a. [27]

2.6.1. ULTRALJUBIČASTO (UV) ZRAČENJE

Ultraljubičasti dio elektromagnetskog spektra obuhvaća valne duljine u rasponu 10 – 400 nm, a nalazi se između vidljive svjetlosti i X-zraka. U prošlosti, UV zračenje se prvenstveno koristilo za dezinfekciju, dok danas najveću svrhu ima u procesima fotolize. Procesom fotolize, onečišćujuće tvari izložene su svjetlu, dio fotona pri tome apsorbiraju, pri čemu elektroni vanjske ljuske poprimaju pobuđeno stanje i vrlo su reaktivni, a posljedica toga je razgradnja tvari. Fotoliza se može odvijati direktnim i indirektnim mehanizmom. Sunce je jedan od prirodnih izvora UV zračenja pri čemu sunčev spektar sadrži samo 3-5 % UV zračenja, no danas, zbog jednostavnosti primjene, koriste se UV lampe. Prilikom korištenja UV lampi, potreba za zamjenom i održavanjem je česta te su također i energetske zahtjevi puno veći u odnosu na druge procese, a sve to uzrokuje i veće troškove. Apsorbancija UV zračenja se smanjuje što je veći broj različitih spojeva u uzorku, primjerice nitrata i željeza. [28]

UV spektar elektromagnetskog zračenja uobičajeno se dijeli na četiri vrste, a to su UV-A (dugovalno zračenje), UV-B (srednjevalno zračenje), UV-C (kratkovalno zračenje) i V-UV (vakuum) (tablica 2). [29]

Tablica 2. Vrste UV zračenja uz navedene valne duljine, energiju i primjenu. [29]

Vrsta	Valna duljina , λ [nm]	Energija [kJ mol ⁻¹]	Upotreba
UV-A	315-400	299-380	Gotovo svi AOP
UV-B	280-315	380-427	Samo neki AOP
UV-C	190-280	427-629	Dezinfekcija i sterilizacija, H ₂ O ₂
V-UV	< 190	> 629	Različite primjene

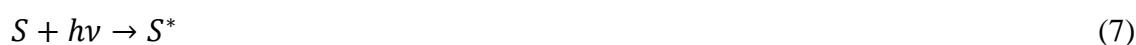
Direktni mehanizam fotolize može se koristiti u procesima obrade voda i otpadnih voda bez dodatka kemijskih reagensa. Molekula onečišćujuće tvari apsorbira energiju UV zračenja te prelazi iz osnovnog u pobuđeno stanje. Ta razlika u energiji između osnovnog i pobuđenog stanja zapravo ovisi o apsorbiranoj količini energije ($h\nu$) koja se izražava kao umnožak Planckove konstante, h i frekvencije apsorbiranog zračenja, ν . U ovako pobuđenom stanju molekula će se zadržavati kratko vrijeme, a zatim će se ili vratiti u osnovno stanje ili razgraditi stvarajući vrlo reaktivne slobodne radikale (5). [29]



Ovako stvoreni radikali iniciraju lančane reakcije do konačnih produkata niske molekulske mase. Ukoliko postoji prisutan kisik, doći će do stvaranja superoksidnog radikala (6), čija moć oksidacije nije previsoka te je sposoban razgraditi supstituirane arome uz veliku apsorpciju UV zračenja. [29]



Kod indirektnog mehanizma fotolize, podrazumijeva se postojanje fotosenzibilnih (fotoosjetljivih) spojeva i bojila koji će apsorbirati UV zračenje. Apsorpcijom UV zračenja, prelaze iz osnovnog u pobuđeno stanje, pobuđeni se elektron dalje prenosi na druge molekule koje su prisutne u sustavu, a fotosenzibilni spoj ostaje pozitivno nabijen (7) i (8). [29]



Indirektan mehanizam fotolize nije još komercijaliziran, a glavni razlog tome je potreba za uklanjanjem boja, dodanih prilikom provođenja procesa, po završetku procesa.

Korištenjem Sunca kao izvora zračenja mogu se ostvariti velike uštede električne energije uz korištenje sigurnijih industrijskih instalacija. Proces fotolize ima svoje prednosti u odnosu na ostale procese, a to su korištenje manjih spremnika, fleksibilnost radnih uvjeta te promjene pH otpadnih voda ne moraju biti drastične kao što je to slučaj kod alkalne ozonizacije. [29]

2.6.2. UV/H₂O₂

H₂O₂ je slaba kiselina, snažan oksidans i nestabilan spoj koji disproporcionalno djeluje maksimalnom brzinom pri vrijednosti pK_a=11,6. Naširoko se koristi za uklanjanje niskih koncentracija onečišćivala u otpadnim vodama poput klora, nitrita, sulfita, hipoklorita, itd., ali i kao dezinfekcijsko sredstvo. Niske brzine reakcija s razumnim koncentracijama peroksida uglavnom su neučinkovite u slučaju visokokloriranih aromata i nekih anorganskih tvari poput cijanida. [29]

UV/H₂O₂ proces temelji se na dodatku H₂O₂ u otopinu koja se nalazi u reaktoru koji je opremljen s izvorom UV zračenja. Proces se temelji na mehanizmu direktne fotolize, što

podrazumijeva cijepanje O – O veze u molekuli vodikovog peroksida čime nastaju dva HO· radikala (9).



Navedena reakcija je limitirajuća, odnosno odvija se kao najsporiji stupanj u odnosu na ostatak kemijskih reakcija u ovom procesu. Što je veća početna koncentracija oksidansa, H₂O₂, to će se generirati i veća koncentracija HO· radikala čime će stupanj razgradnje ciljanog spoja biti veći. Međutim, potrebno je optimizirati koncentraciju vodikova peroksida jer u slučaju previsoke koncentracije dolazi do neželjene reakcije sa HO· radikalima i stvaranja perhidroksilnih radikala (HO₂·) (10) do (14). [30]



Reakcije 10-14 su izrazito nepovoljne. Prilikom reakcija 10 i 14 troše se HO· radikali nastali reakcijom 9, njihova koncentracija se smanjuje pa je tako smanjena i učinkovitost razgradnje ciljanog spoja. Tijekom povratne reakcije 12, HO· radikali međusobno reagiraju i time se rekombinira vodikov peroksid čija je učinkovitost razgradnje manja u odnosu na HO·. Perhidroksilni radikali stvoreni reakcijom 10 imaju slabiju reaktivnost u odnosu na HO·. [30]

Na proces fotolize uz H₂O₂ utječu mnogobrojni parametri kao što su početna koncentracija ciljanog onečišćivala, količina korištenog H₂O₂, pH otpadne vode, prisutnost bikarbonata te reakcijsko vrijeme. S gledišta kinetike, najsporiji stupanj je reakcija 4 koja opisuje brzinu razgradnje, dok su početna koncentracija ciljane onečišćujuće tvari i konstanta brzine reakcije u obrnuto proporcionalnim odnosima pa se uzorak vode mora razrijediti do optimalnih razina. Proces uglavnom zahtjeva niže vrijednosti pH (2,5 do 3,5), no međutim pH ovisi o pK_a vrijednosti ciljanih onečišćujućih tvari. [30]

Izraz za ukupnu brzinu procesa razgradnje organske tvari R, kombinacijom oksidacije s H₂O₂ i UV zračenjem može se napisati kao omjer promjene koncentracije s vremenom (15).

$$r_T = -\frac{dc_R}{dt} = r_{UV} + r_{H_2O_2} + r_R \quad (15)$$

pri čemu je:

- r_R ukupna brzina razgradnje organske tvari potaknuta UV/H₂O₂ procesom, a ona se može izraziti:

$$r_R = k_1 \cdot c_R \cdot c_{OH} \quad (16)$$

- r_{UV} je brzina reakcije razgradnje organske tvari UV zračenjem
- $r_{H_2O_2}$ je brzina razgradnje vodikovog peroksida

Obrada otpadnih voda UV/H₂O₂ procesom ima svoje prednosti i nedostatke. Neke od najvažnijih prednosti su korištenje komercijaliziranog, termički stabilnog oksidansa koji se može čuvati tijekom duljeg vremena ako se ispravno skladišti. Vrlo se lako otapa u vodi i služi kao izvor HO· radikala koji su vrlo učinkoviti u procesu razgradnje ciljanih tvari. Ne javljaju se problemi prijenosa mase koji su povezani s plinovima, ne zahtjeva velika početna ulaganja u proces i jednostavan je za primjenu. Glavni nedostatak ovog procesa je nemogućnost korištenja sunčeve svjetlosti kao izvor UV zračenja zbog potražnje za velikim količinama UV energije potrebne za fotolizu oksidansa. Također, H₂O₂ je karakteriziran niskim afinitetom prema apsorpciji UV zračenja. Na taj način vodena matrica apsorbira puno više UV zraka nego H₂O₂ i time posljedično dovodi do niskog iskorištenja procesa. [29]

Učinkovitost procesa razgradnje organske tvari može se povećati kombinacijom ovog procesa s ultrazvukom ili predobradbom tretirane vode ozonom. UV/H₂O₂ proces smatra se jednim od najstarijih NOP-a koji su vrlo učinkoviti za uklanjanje onečišćujućih tvari iz industrijskih otpadnih voda koje većinom sadrže organoklorirane alifate, arome, fenole, pesticide, farmaceutike i mnoge dr. Često se i učinkovito koristi za pročišćivanje otpadnih voda industrije boja. [29]

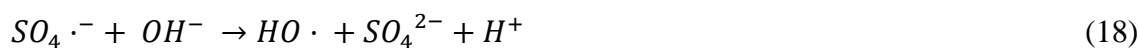
2.6.3. UV/S₂O₈²⁻

Alternativa naprednim oksidacijskim procesima koji koriste HO· radikale je proces UV/S₂O₈²⁻ koji generira sulfatne radikale, SO₄^{·-}, za oksidaciju organskih onečišćujućih tvari u vodenom mediju. Nastali SO₄^{·-} posjeduju veću oksidacijsku moć te su selektivniji oksidansi u odnosu na HO·. [31]

Peroksidisulfat ($S_2O_8^{2-}$) jedan je od vrlo snažnih oksidansa s oksidacijskim potencijalom $E^0 = 2,01$ V. U metodama obrade voda, aktivacija peroksidisulfata može biti potaknuta energijom fotona UV zračenja (17), toplinom (termoliza), prijelaznim metalima ili povišenim pH medija. Aktivacijom nastaju vrlo snažni $SO_4^{\cdot-}$ čiji je $E^0 = 2,6$ V.



Uspoređujući $SO_4^{\cdot-}$ i HO^{\cdot} radikale, iako su $SO_4^{\cdot-}$ radikali više reaktivni, imaju kraći životni vijek. HO^{\cdot} radikali više preferiraju adiciju na C = C veze ili uklanjanje vodika iz C - H veza prilikom reakcije s organskim tvarima. $SO_4^{\cdot-}$ imaju tendenciju uklanjanja elektrona iz organskih molekula i time ih prevode u organske radikale. Također, $SO_4^{\cdot-}$ radikali mogu poslužiti kao izvor HO^{\cdot} radikala, ovisno o pH medija u kojem se nalaze pri čemu će lužnati medij generirati više HO^{\cdot} (18, 19). [26]



2.7. STATISTIČKO PLANIRANJE EKSPERIMENTA

Inženjeri se često susreću s eksperimentiranjem prilikom razvoja novih i poboljšanjima postojećih procesa i proizvoda. Proces se može okarakterizirati ulaznim (kontrolirane ili nekontrolirane) i izlaznim varijablama, dok se u statistici za ulazne i izlazne varijable koriste izrazi nezavisni i zavisni čimbenici. Prilikom mjerenja, često dolazi do pogrešaka, a njihov najčešći uzrok su zapravo nepoznate i nekontrolirane ulazne varijable. [32]

Temeljeno na teoriji optimizacije, eksperimentiranje podrazumijeva provođenje serije testova u kojima se mijenjaju vrijednosti ulaznih varijabli po definiranom pravilu kako bi se otkrio razlog promjene izlaznih varijabli, odnosno odziva sustava. Metode statističkog planiranja eksperimenta (engl. *Design of Experiment*, DOE) koriste se u svrhu usmjeravanja odabira eksperimenata koji će biti provedeni na najučinkovitiji način. Kroz statističko planiranje pokusa nastoji se izabrati plan za odabrani model s maksimalnom osjetljivošću prema procjeni parametara koja će time osigurati pouzdaniju procjenu. Ukoliko je eksperiment dobro dizajniran rezultat će dobro definiranim ciljem, mogućnošću procjene pogreške, dovoljnom preciznošću i mogućnošću raspoznavanja utjecaja korištenjem raznih matematičkih

modela poput nasumičnih blokova (engl. *Randomized Block Design*), latinskih kvadrata (engl. *Latin Square*), grčko-latinskih kvadrata (engl. *Graeco-Latin Square*), punog i frakcijskog faktorskog plana (engl. *Full / Fractional Factorial Plan*), središnjih kompozita (engl. *Central Composite*) i dr. [33]

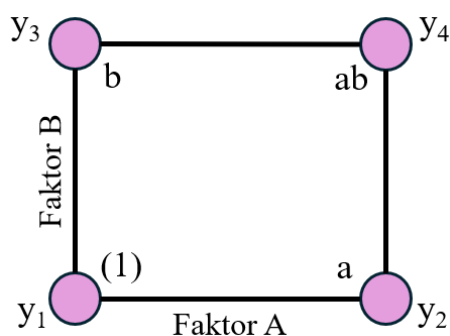
Korištenje metoda planiranja pokusa zapravo ima svrhu dobiti što veći broj informacija o istraživanom sustavu uz minimalan broj potrebnih eksperimenata i minimum financijskog angažmana. Najčešći principi statističkih metoda eksperimentalnog dizajna su replikacija, nasumičnost i blokiranje. Replikacija podrazumijeva ponavljanje eksperimenta s ciljem dobivanja što preciznijih rezultata srednje vrijednosti uzorka (engl. *sample mean value*) i procjene pogreške eksperimenta kako bi se izračunala standardna devijacija uzorka (engl. *sample standard deviation*). Nasumičnost se odnosi na slučajni redoslijed kojim će se eksperiment provoditi što znači da uvjeti u provedenom eksperimentu ne ovise o uvjetima prethodnog eksperimenta niti predviđaju uvjete u narednim eksperimentima. Blokiranjem se izolira poznati sustavni učinak pristranosti i sprječava prikrivanje glavnih učinaka na način da se eksperimenti razvrstavaju u skupine koje su međusobno slične. Na ovaj se način smanjuje izvor varijabilnosti i poboljšava se preciznost. [33]

Prilikom dizajniranja eksperimenta potrebno je u početku izabrati jednu ili više veličina koje će najbolje opisati djelovanje sustava kao cjeline. Takve veličine su zapravo rezultat rada cijelog sustava i nazivaju se zavisne varijable. Osim zavisnih varijabli, potrebno je odrediti i veličine čije promjene utječu na zavisne varijable te se one nazivaju nezavisne veličine ili faktori, k . Prema dizajnu eksperimenta, broj vrijednosti koje faktori mogu poprimiti je ograničen i generalno mali. Nivo (engl. *Level*) je naziv za broj različitih vrijednosti koje faktori mogu poprimiti, a obično je broj nivoa jednak za sve faktore, no postoje i određene metode statističkog planiranja eksperimenta koje omogućavaju različiti broj nivoa za svaki faktor. Razlikuju se kvalitativni (kategorički) i kvantitativni (numerički) diskretni faktori. Broj faktora i različitih vrijednosti koje svaki faktor može poprimiti utjecat će na broj i složenost eksperimenata. Kada se odredi broj potrebnih eksperimenata i njihovih provođenja, dobiveni se rezultati moraju statistički obraditi i prikazati. Metode eksperimentalnog dizajna koje se mogu koristiti kod statističke obrade rezultata su najčešće metoda odzivnih površina (engl. *Response Surface Methodology*, RSM) i puni faktorski plan. [34]

2.7.1. POTPUNI FAKTORSKI PLAN

Metoda faktorijskog planiranja pokusa predložena je od strane R. Fishera 1935. godine, a obuhvaća istovremeno promatranje kombinacije faktora. Kako bi se dobio najpotpuniji uvid u proučavani sustav provodi se potpuni faktorski plan pokusa u kojem se izvode sve moguće kombinacije razina faktora. Ovako se istovremeno određuje neograničeni broj faktora, utvrđuje se utjecaj osjetljivosti pojedinih faktora, ali i utjecaj njihova međudjelovanja.

Najjednostavniji je slučaj punog faktorskog plana kada se promatra utjecaj na zavisnu varijablu koji uzrokuje k faktora, a svaki od njih poprima samo dvije različite vrijednosti. Pokusom na dvije razine identificiraju se najvažniji faktori. Kako se za izračunavanje veličine uzorka koristi izraz $N(L, k) = L^k$, prema tome za puni faktorski plan s dva nivoa vrijedi $N = 2^k$, tj. to predstavlja matricu s 2^k različitih eksperimenata. Dva nivoa se u tom slučaju nazivaju visoki ili gornji i niski ili donji te se označavaju s +1 i -1. Kao rezultat 2^2 dizajna dobiva se ortogonalni dizajn što znači da je suma svih vrijednosti razina za pojedini faktor jednaka 0. Upravo zbog ortogonalnog dizajna, 2^k dizajn (slika 6) je pojednostavljen pa se često koristi u analizi. [35]



Slika 6. Grafički prikaz 2^2 faktorskog plana pokusa.

Glavni učinak faktora odnosi se na glavne faktore u eksperimentu, a definira se kao promjena odziva nastala zbog promjene razine faktora. S obzirom na sliku 6, glavni učinak faktora A izražava se razlikom prosječne vrijednosti odziva na nižoj (donjoj) i višoj (gornjoj) razini (20), dok je glavni učinak faktora B prema tome prikazan izrazom (21).

$$A = \frac{(y_2+y_4)}{2} - \frac{(y_1+y_3)}{2} \quad (20)$$

$$B = \frac{(y_3+y_4)}{2} - \frac{(y_1+y_2)}{2} \quad (21)$$

Međudjelovanje faktora dokazano je ukoliko razlika odziva između razina jednog faktora iznosom ne odgovara razlici između razina drugog faktora. [35]

2.7.2. METODA ODZIVNIH POVRŠINA

Metoda odzivnih površina razvijena je 1951. godine s ciljem unaprjeđenja proizvodnih procesa kemijske industrije. Ovom su se metodom nastojale optimizirati kemijske reakcije kako bi rezultirale sa što većim prinosom i čistoćom uz minimalne troškove. Prilikom razvijanja metode odzivnih površina, koristilo se sekvencijalno eksperimentiranje koje uključuje faktore poput temperature, tlak, vrijeme trajanja reakcije, udio reaktanata i dr. Također, metoda je upotrebljiva i u slučaju modeliranja ili optimiziranja bilo kojeg odgovora na koji utječu razine jednog ili više kvantitativnih faktora. [36]

U svom sastavu sadrži grupu matematičkih i statističkih metoda koje se koriste u razvijanju funkcionalne ovisnosti između odgovora od interesa, y i broja pridruženih (ili ulaznih) varijabli označenih kao x_1, x_2, \dots, x_k . Budući da je funkcionalna ovisnost nepoznata, ona se može aproksimirati polinomom nižeg stupnja koji se uglavnom određuje korištenjem punog faktorskog plana:

$$y = f'(x)\beta + \epsilon \quad (22)$$

gdje je $x = (x_1, x_2, \dots, x_k)'$, $f(x)$ predstavlja vektorsku funkciju od p elemenata sastavljenu od potencija i unakrsnih umnožaka potencija od x_1, x_2, \dots, x_k pa sve do određenog stupnja polinoma označenog kao $d (\geq 1)$, β predstavlja vektor od p nepoznatih parametara, a ϵ predstavlja slučajnu eksperimentalnu pogrešku ili šum uočen u odgovoru y . Površina koja se dobije iz $f(x_1, x_2)$ naziva se odzivna površina, a grafički se prikazuje ili trodimenzionalnim prikazom ili kao graf kontura. Koriste se dva različita najvažnija modela u metodi odzivnih površina, model prvog stupnja (23) i model drugog stupnja (24). [37]

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \epsilon \quad (23)$$

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{oj} x_i x_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 \quad (24)$$

gdje je:

- y odabrani odziv procesa (zavisna varijabla)
- k broj nezavisnih varijabli
- $x_1 \dots x_k$ kodirane nezavisne varijable
- i i j indeks podataka u uzorku
- β_0 nulti član
- β_i koeficijent linearnog utjecaja (prvog reda)
- β_{ii} koeficijent kvadratnog utjecaja (drugog reda)
- β_{ij} koeficijent interakcije
- ε' nasumična pogreška koja dozvoljava odstupanja između predviđene i mjerene vrijednosti

Model prvog reda prikladan je ukoliko se želi aproksimirati prava površina odziva na relativno malom području prostora neovisne varijable na mjestu gdje postoji mala zakrivljenost funkcije f . Često je zakrivljenost stvarne površine dovoljno jaka da model prvog reda čak i uz interakciju varijabli bude neadekvatan za primjenu. U tim situacijama adekvatnije je koristiti model drugog reda. Model drugog reda u širokoj je upotrebi u metodi odzivnih površina zbog svoje fleksibilnosti, odnosno može poprimiti široku paletu funkcionalnih oblika, te je lako procijeniti parametre, primjerice uz korištenje metode najmanjih kvadrata. [38]

Svrha razmatranja modela prikazanog izrazom (22) ima trostruki značaj. Prvo je bitno uspostaviti odnos između zavisnih i nezavisnih varijabli koji se može koristiti za predviđanje vrijednosti odziva za dane postavke kontrolnih varijabli. Zatim je potrebno primijeniti analizu varijance kako bi se provelo formalno testiranje značaja glavnih utjecaja i međudjelovanja. U konačnici se odrede optimalne postavke nezavisnih varijabli (x) kako bi se ostvario maksimalni (ili minimalni) odgovor u području interesa. Jednom ustanovljena zakonitost ili odnos nezavisnih varijabli preko matematičkog modela za određenu pojavu, može se dalje koristiti za donošenje konkretnih zaključaka o prirodi i ponašanju te pojave. Model prvenstveno služi optimiranju procesa kako bi se ostvario željeni odziv, te kako bi se utvrdile vrijednosti faktora procesa koje će zadovoljiti procesne uvjete u željenom rasponu vrijednosti. [37]

2.8. HPLC ANALIZA

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) razvijena je 1960-ih godina. Tijekom godina, HPLC metoda je uznapredovala i postala jedna od najpotrebnijih metoda u analitici, često zamjenjujući plinsku kromatografiju. Primjenjuje se za separaciju različitih kemikalija, uključujući farmaceutike, hranjive tvari, teške metale i biokemikalije.

HPLC je vrsta tekućinske kromatografije u kojoj se separacija komponenata odvija između mobilne faze (otapala) i stacionarne faze (kolona). Pokretna faza je tekućina male viskoznosti dok je nepokretna najčešće fino usitnjena krutina s veličinom čestica 2-5 μm . S obzirom na prirodu stacionarne faze, separacijski proces može se odvijati na četiri različita načina:

- adsorpcijska kromatografija
- selektivna kromatografija
- ion-izmjenjivačka kromatografija
- kromatografija s isključenjem po veličini.

Najčešće korištena je adsorpcijska kromatografija, koja se s obzirom na polarnost stacionarne (nepokretne) faze može odvijati kao kromatografija normalnih ili obrnutih faza. Kromatografija normalnih faza podrazumijeva polarnu stacionarnu fazu (silika gel ili aluminijev oksid), dok je mobilna faza nepolarna (npr. heksan). Na ovaj način, kolona duže zadržava polarne komponente i time omogućava nepolarnim komponentama da se prve eluiraju. Kromatografija obrnutih faza podrazumijeva nepolarnu stacionarnu fazu, odnosno modificirani hidrofobni silika gel te polarnu mobilnu fazu (vodu ili metanol). Princip je obrnut u odnosu na kromatografiju normalnih faza pa se u ovom slučaju nepolarne komponente duže zadržavaju u koloni. Polarnost mobilne faze može se mijenjati korištenjem mješavine otapala. U slučaju da je sastav mješavine otapala konstantan tijekom eluiranja, radi se o izokratskom eluiranju. Kada se sastav mješavine otapala mijenja prilikom eluiranja, govorimo o gradijentnom eluiranju.

Difuzija molekula u otapalu ovisi o prirodi molekula i prirodi otapala. Na difuziju najviše utječe veličina čestica i viskoznost otapala, a budući da analitičar ne može direktno utjecati na veličinu čestica, uvijek mora nastojati odabrati otapalo što manje viskoznosti. Odabir mobilne faze prvenstveno će ovisiti o načinu eluiranja (izokratsko ili gradijentno). Također, pri odabiru

mobilne faze potrebno je koristiti otapalo koje će zadovoljiti nekoliko kriterija uključujući jačinu elucije, polarnost, nisku viskoznost, kompatibilnost s detektorom, lako uklanjanje iz analita po završetku analize. Prije korištenja potrebno je degazirati otapalo kako bi se spriječilo formiranje zračnih mjehurića u pumpama koje bi dovelo do smanjenja protoka otapala; formiranje zračnih mjehurića na izlazu iz kolone, gdje se stvara visoki tlak; ili do pomicanja bazne linije zbog otopljenog zraka. [39]

Glavni dijelovi HPLC kromatografa su spremnici za otapala mobilne faze, pumpe, injektor, kolona i detektor.

Kako bi se provela analiza uzorka, potrebno je prvo razviti HPLC metodu. Dva su najvažnija koraka u razvoju analitičke metode, a to su odabir separacijskog modula i odgovarajuće kolone. Također, bitno je odabrati i odgovarajuću mobilnu fazu, temperaturu i protok kroz kolonu te detektor. Za mobilnu fazu najvažniji je udio vodene i organske faze te stalan pH. Najčešće korištene kolone imaju unutrašnji promjer između 4,5 i 5 mm, a duljine su od 10 do 25 cm, punjene česticama stacionarne faze. Čestice stacionarne faze su jako bitne za kromatografsku rezoluciju, u slučaju UHPLC analize koriste se čestice veličine do 1,7 μm kako bi se ostvarila jednaka ili bolja rezolucija uz puno kraće vrijeme analize, dok se u ostalim analizama koriste čestice ne manje od 3 μm . Ukoliko bi čestice stacionarne faze bile manje, mogle bi se koristiti isključivo kratke kolone, jer bi u protivnom došlo do povećanja otpora protoku otapala i time bi tlak značajno porastao. Uže kolone dovode do smanjenja osjetljivosti i bržeg eluiranja analita pri istom protoku pa je za bolje razdvajanje komponenata povoljnije koristiti veće kolone s manjim česticama stacionarne faze. Temperatura kolone je od velikog značaja za viskoznost mobilne faze. Što je veća temperatura ($> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$), bolja je difuzija molekula zbog smanjenja viskoznosti otapala, a time su ujedno bolji i kinetički parametri te selektivnost. Pumpa regulira protok mobilne faze i tlak sustava pri čemu, što je veći protok mobilne faze, analit brže eluira, što često rezultira uskim i visokim pikovima uz bolju rezoluciju, no postoje i slučajevi u kojima su dobiveni pikovi gusto zbijeni i time je teža identifikacija komponenata. Detektor se odabire na temelju potrebe za analizom određenog analita u nekoj matrici. Razlikujemo različite detektore poput spektrometra masa, spektrofotometrijskog detektora u UV-VIS području elektromagnetskog zračenja, detektori na osnovi fluorescencije, detektori indeksa loma.

Najvažnija prednost HPLC analize je mogućnost rada sa spojevima ograničene toplinske stabilnosti ili hlapljivosti. Retencijsko vrijeme analita (vrijeme eluiranja) je u većini slučajeva kratko, od 5 do 10 minuta po uzorku. Ne zahtjeva kompliciranu pripremu uzorka, analiza je jednostavna, precizna, obično kvantitativna, može biti vrlo osjetljiva te nedestruktivna. Također, prednost je i u kolonama koje se mogu koristiti više puta bez potrebe za regeneracijom. [39]

3. EKSPERIMENTALNI DIO

U ovom poglavlju dan je pregled korištenih kemikalija i instrumenata u ovom radu.

3.1. KEMIKALIJE

Prilikom provedbe eksperimenta korištene su slijedeće kemikalije:

- modelna onečišćivala:
 - atazanavir sulfat, CAS: 229975-97-7, Sigma-Aldrich, USA
 - paxlovid, CAS: 2628280-40-8, BIOSYNTH, Slovačka
- oksidansi:
 - vodikov peroksid, H₂O₂, 30,0%, Kemika, Hrvatska
 - natrijev persulfat, Na₂S₂O₈, BDH PROLABO, UK
- pomoćne kemikalije za podešavanje pH vrijednosti otopine
 - 0,1 M natrijeva lužina, NaOH, Lach-Ner, p.a., Češka
 - 0,1 M sulfatna kiselina, H₂SO₄, Kemika, p.a., Hrvatska
- mobilne faze za HPLC:
 - acetonitril, C₂H₃N, LC-MS kakvoće, Fisher Scientific, USA
 - metanol, CH₃OH, HPLC kakvoće, Fisher Scientific, USA

3.2. INSTRUMENTI

- modularan tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti Perkin Elmer Flexar FX20 s detektorom Dionex PDA-100 (USB), USA
- modularan tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti Vanquish ThermoFisher Scientific s detektorom UV-VIS PDA, USA

- prenosivi pH metar, BT-675, BOECO, Njemačka

3.2.1. PARAMETRI HPLC ANALIZE

Tijekom provedbe eksperimenta, korištena je HPLC analiza za ispitivanje brzine razgradnje korištenih antivirusa.

Tablica 3. Parametri HPLC analize otopine ATV-a i NTV-a.

Parametar	Modelna onečišćivala	
	Atazanavir	Nirmatrelvir
Instrument	HPLC Vanquish ThermoFisher Scientific s detektorom UV-VIS PDA	HPLC Perkin Elmer Flexar FX20 s detektorom Dionex PDA-100 (USB)
Protok [mL/min]	1	1
Mobilna faza	50 % ACN – 50 % MQ Water	30 % MeOH – 70 % MQ Water
Trajanje analize, t [min]	10	10
Tlak sustava, p [bar]	198	312
Temperatura kolone, T [°C]	30	30
Retencijsko vrijeme, t [min]	6,3	5,1
Valna duljina, λ [nm]	247	215
Volumen injektiranja, V [μ L]	10	30
Kolona	XTERRA RP18 3.5 μ m 4.6x150 mm <i>Column</i>	XTERRA RP18 3.5 μ m 4.6x150 mm <i>Column</i>

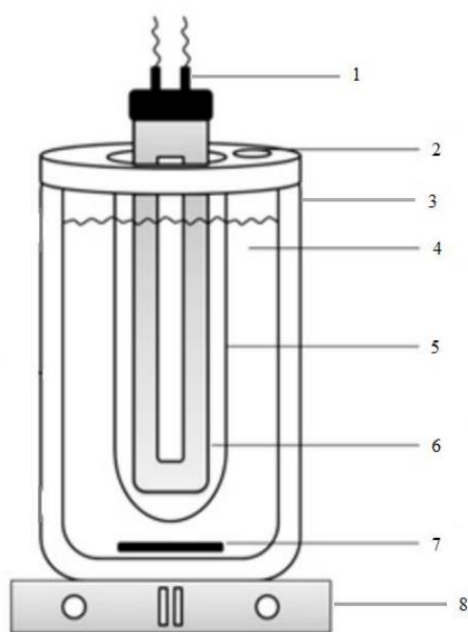
3.3. PLAN I PROVEDBA EKSPERIMENTA

U eksperimentalnom dijelu ovog rada bilo je potrebno odrediti procesne uvjete pri kojima će doći do najučinkovitije razgradnje farmaceutika (ATV-a i NTV-a) procesima UV-C/H₂O₂ i UV-C/S₂O₈²⁻. Prilikom ispitivanja razgradnje, korištene su vodene otopine farmaceutika pri čemu su početne koncentracije bile $c_0(\text{ATV}) = 0,05 \text{ mM}$ i $c_0(\text{NTV}) = 0,1 \text{ mM}$.

Plan rada:

1. Ispitati utjecaj koncentracije oksidansa (H_2O_2 i $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) i pH vrijednosti na djelotvornost UV-C/ H_2O_2 i UV-C/ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ procesa za obradu 2 različite modelne otpadne vode od koje svaka sadrži jedan od navedenih farmaceutika.
2. Odrediti kinetiku procesa i razviti matematički model za opisivanje ponašanja sustava.

Eksperimenti su provedeni u reaktoru (slika 7) ukupnog volumena 100 mL, dok je volumen ispitivane otopine iznosio 80 mL.



Legenda:

- 1 – priključak za izvor napajanja
- 2 – otvor za uzorkovanje
- 3 – stakleni reaktor
- 4 – ispitivana modelna otopina
- 5 – kvarcna kiveta
- 6 – UV lampa
- 7 – magnet
- 8 – magnetna miješalica

Slika 7. Shema reaktora.

Kako bi se osigurala homogenost ispitivane modelne otopine, na magnetnu miješalicu postavljen je reaktor unutar kojeg se nalazi magnet i modelna otopina farmaceutika čime je osigurano konstantno miješanje. Poklopac reaktora sadrži otvor kroz koji prolazi okomito postavljena kvarcna kiveta, u kojoj je smještena niskotlačna živina lampa (UV-C, 254 nm) UVP - Ultra Violet Products, PenRay Lamp, 11SC-1, Analytik Jena US, USA te otvor za uzorkovanje. UV lampa spojena je na izvor napajanja UVP – Ultra Violet Products, Pen-Ray, Upland, CA, USA, frekvencije $\nu = 50$ Hz, napona $U = 230$ V i jačine struje $I = 0,21$ A.

Postupak provedbe eksperimenta:

1. Priprema otopine

- Otapanje određene količine modelnog onečišćivala (farmaceutika) u ultračistoj vodi (engl. *Milli-Q Water*).
- Dodavanje određenog volumena oksidansa (H_2O_2 i $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) izračunatog iz omjera koncentracije modelnog onečišćivala, $c(\text{X})$ i oksidansa, $c(\text{X}):c(\text{OX}) = 1:10$, $c(\text{X}):c(\text{OX}) = 1:57.5$, $c(\text{X}):c(\text{OX}) = 1:105$, $c(\text{X}):c(\text{OX}) = 1:152.5$ i $c(\text{X}):c(\text{OX}) = 1:200$.
- Podešavanje pH modelne vode na željene vrijednosti dodatkom 0,1 M NaOH ili 0,1 M H_2SO_4 . Željene vrijednosti pH iznosile su 4, 5.5, 7, 8.5 i 10.

2. Početak reakcije

- Reakcija razgradnje modelnog onečišćivala (farmaceutika) započinje istovremenim uranjanjem zagrijane živine lampe u kvarcnu kivetu te početkom mjerenja vremena.

3. Tijek i završetak reakcije

- Uzorci modelne vode (0,9 mL) uzimaju se u točno određeno vrijeme uz pomoć injekcije prenose u vijale u kojima se nalazi 0,1 mL MeOH koji sprečava daljnje odvijanje reakcije razgradnje.

Eksperimenti koji su provedeni podijeljeni su u 3 grupe:

- Prva grupa obuhvaća procese razgradnje modelnog onečišćivala uz pomoć UV lampe, bez dodatka oksidansa u trajanju obrade od 8 minuta pri čemu su se uzorci periodički uzimali iz reaktora. Prvi uzorak uzet je prije uranjanja zagrijane živine lampe (0 s), a ostali su uzimani redom nakon 30 s, 60 s, 120 s, 240 s i 480 s.
- Druga grupa obuhvaća provedbu UV/ H_2O_2 procesa obrade modelne vode u trajanju od 60 s. Uzorci se nakon istovremenog uranjanja zagrijane živine lampe i dodatka određene koncentracije H_2O_2 uzimaju svakih 10 s, osim kod dodatka najveće koncentracije H_2O_2 svakih 5 s.
- Treća grupa obuhvaća provedbu UV/ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ procesa obrade modelne vode u trajanju od 60 s. Uzorci se nakon istovremenog uranjanja zagrijane živine lampe

i dodatka određene koncentracije $S_2O_8^{2-}$ uzimaju svakih 10 s, osim kod dodatka najveće koncentracije $S_2O_8^{2-}$ svakih 5 s.

3.4. DIZAJN EKSPERIMENTA

Primjenom kombinacije empirijskog i statističkog pristupa provedena je procjena ključnih parametara istraživanih sustava (početni pH, koncentracija oksidansa) za obradu modelnih otpadnih voda 2 različita farmaceutika. Za proces razgradnje svakog farmaceutika, odnosno modelnog onečišćivala razvijen je eksperimentalni plan metodom punog faktorskog plana s dvije numeričke varijable na pet razina (tablica 4) u kombinaciji s metodom odzivnih površina. Za sve provedene eksperimente korištene su jednake numeričke varijable (pH, koncentracija oksidansa) na pet jednakih razina.

Tablica 4. Puni faktorski plan eksperimenta za proces razgradnje modelnih onečišćivala (X).

Procesni parametar	Kodirana vrijednost	Razina/raspon/vrsta				
Numerički		-1	-0,5	0	0,5	1
pH	x_2	4	5,5	7	8,5	10
$c(X):c(OX)$ [mM]	x_1	1:10	1:57,5	1:105	1:152,5	1:200

Kako bi se mogao razviti model, bilo je potrebno prirodne (nekodirane) nezavisne varijable prevesti u kodirane vrijednosti na razine odgovarajuće odabranom eksperimentalnom dizajnu, a to je u ovom slučaju pet razina (-1, 0,5, 0, 0,5 i 1) za numeričke varijable. Utjecaji na razgradnju farmaceutika, UV/H₂O₂ i UV/S₂O₈²⁻ procesom, koji se prate su početna vrijednost pH (x_2) i koncentracija oksidansa (x_1) izražena kao omjer koncentracije modelnog onečišćivala (X) i oksidansa (OX).

Na temelju koeficijenta determinacije (R^2) i analize varijance (ANOVA) procijenjena je točnost modela. Razvoj plana, statistička analiza te ANOVA provedeni su korištenjem programskih paketa *Design Expert* 10.0, *StatEase*, *SAD* i *STATISTICA* 12.7, *StatSoft Inc.*, *SAD*. Optimalne vrijednosti procesnih parametara predviđene RSM modelom izračunate su pomoću programskog paketa *Mathematica* 10.0, *Wolfram Research*, *SAD*.

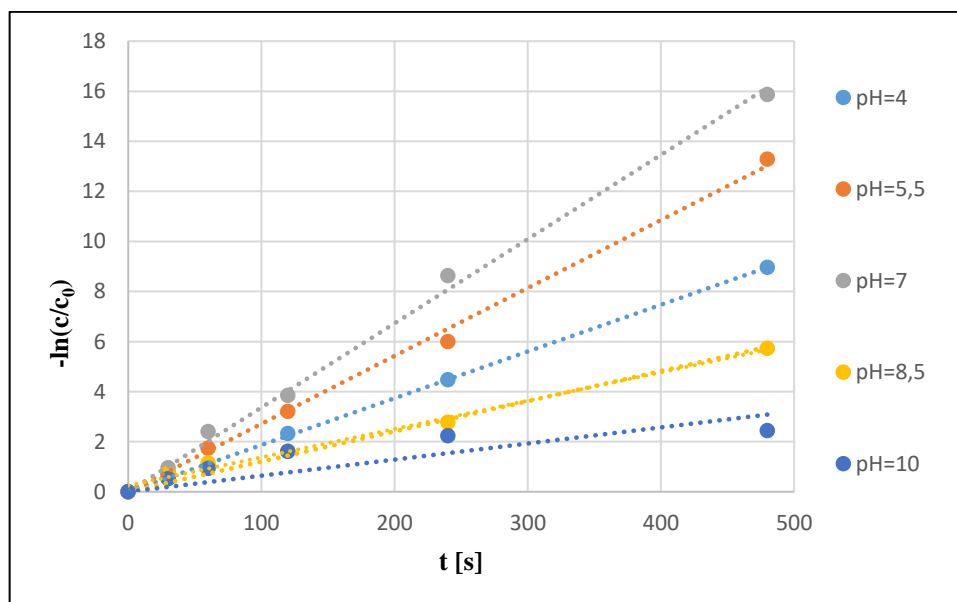
4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom je poglavlju dan tablični i grafički pregled svih dobivenih rezultata uz odgovarajuća zapažanja i raspravu

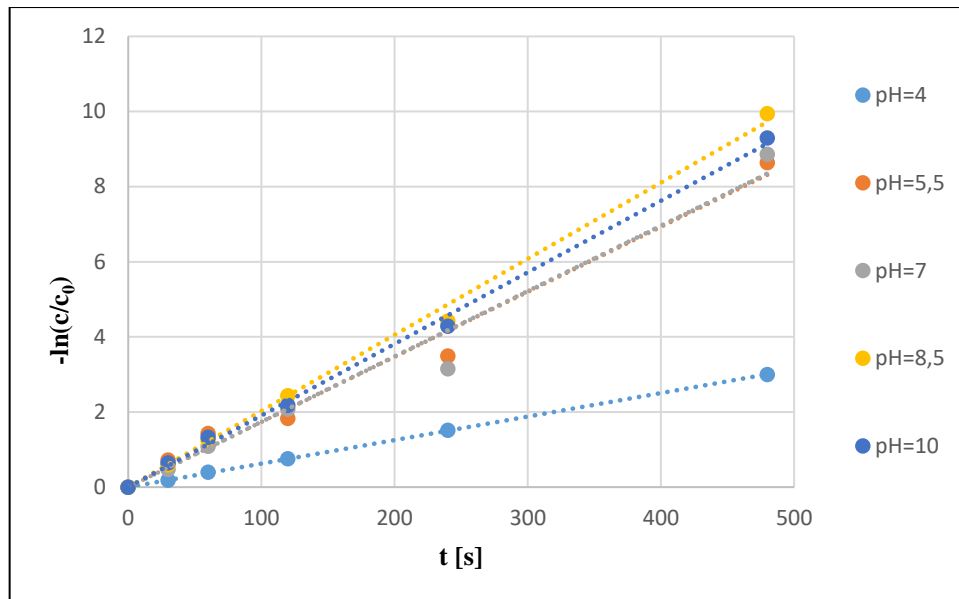
4.1. FOTOOKSIDATIVNA OBRADA MODELNE OTPADNE VODE ATV-a

Ekspiriment obrade modelne vode ATV-a podijeljen je na tri grupe koje uključuju fotolitičku razgradnju ATV-a korištenjem UV lampe bez dodatka oksidansa te dva fotooksidacijska procesa razgradnje uz dodatak dva oksidansa, H_2O_2 i $S_2O_8^{2-}$.

Fotolitičkom razgradnjom provedena je obrada modelne otopine ATV-a pri različitim vrijednostima pH u trajanju od 8 minuta. Rezultati dobiveni fotolitičkom razgradnjom, uz UV lampu bez dodatka oksidansa prikazani su kao funkcijska ovisnost negativnog logaritma omjera koncentracije modelnog onečišćivala u trenutku izuzimanja uzorka i početne koncentracije modelnog onečišćivala o vremenu trajanja obrade (slike 8 i 9).



Slika 8. Grafički prikaz funkcijske ovisnosti negativnog logaritma o vremenu obrade za modelne otopine ATV-a prije dodatka H_2O_2 pri različitim pH vrijednostima.



Slika 9. Grafički prikaz funkcijske ovisnosti negativnog logaritma o vremenu obrade za modelne otopine ATV-a prije dodatka $S_2O_8^{2-}$ pri različitim pH vrijednostima.

4.1.1. ATV s UV-C/ H_2O_2

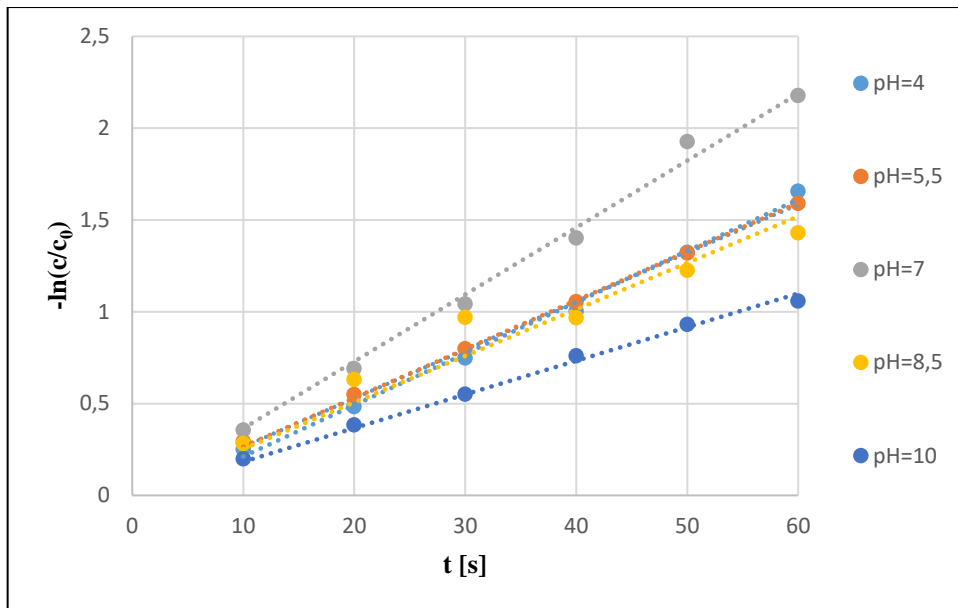
Obrada modelne otopine ATV-a provedena je fotooksidacijskim UV-C/ H_2O_2 procesom te je pri tome utvrđen utjecaj procesnih parametara na učinkovitost obrade. Puni faktorski plan je pri razvoju modela eksperimenta izveden na pet razina. Promatran je utjecaj procesnih parametara, pH vrijednosti modelne otopine ATV-a u rasponu od 4 do 10 te koncentracije oksidansa, H_2O_2 , koja je proračunata na temelju omjera koncentracija modelnog onečišćivala (X) i oksidansa (OX) u rasponu od 1:10 do 1:200. Tablica 5 prikazuje sve kombinacije eksperimenata i procesnih parametara.

Tablica 5. Puni faktorski plan eksperimenata s dvije neovisne varijable izražene u kodiranim i stvarnim vrijednostima i izračunate vrijednosti konverzije ATV-a prvog reda (k_{obs} , s^{-1}).

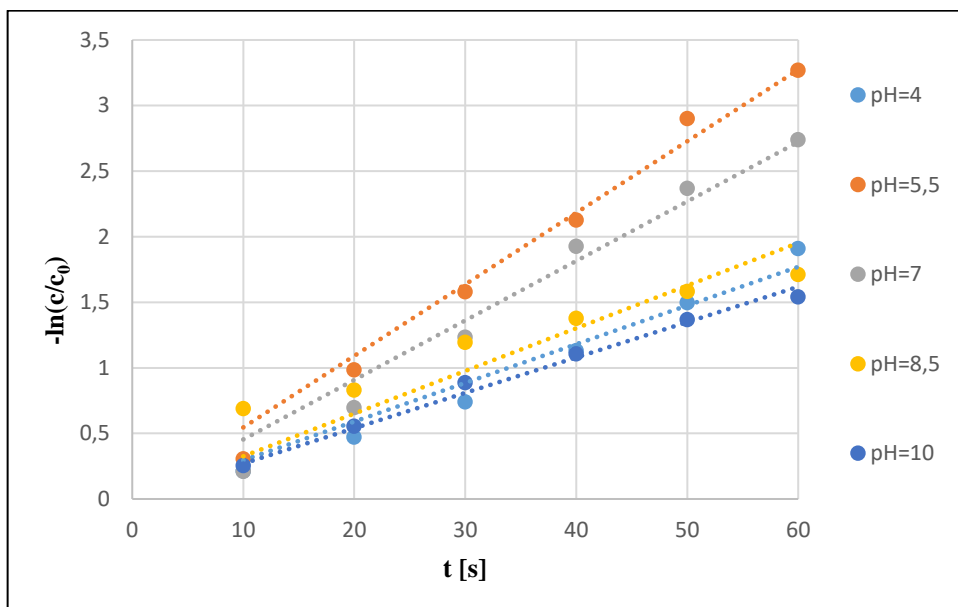
Eksperimenti	Varijable				Konverzija ATV-a	
	Varijabla 2, x_2		Varijabla 1, x_1		k_{obs} [s^{-1}]	R_{LR}^2
	kôd	pH	kôd	$c(OX)$ [mM]		
1	-1	4	-1	0,0500	0,0264	0,9981
2	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0265	0,9998
3	0	7	0	0,5250	0,0365	0,9985
4	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0263	0,9846
5	1	10	1	1,000	0,0183	0,9990

6	-1	4	-1	0,0500	0,0295	0,9920
7	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0546	0,9962
8	0	7	0	0,5250	0,0454	0,9924
9	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0325	0,9720
10	1	10	1	1,000	0,0270	0,9979
11	-1	4	-1	0,0500	0,0413	0,9942
12	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0809	0,9988
13	0	7	0	0,5250	0,0809	0,9987
14	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0344	0,9772
15	1	10	1	1,000	0,0317	0,9948
16	-1	4	-1	0,0500	0,0492	0,9891
17	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,1073	0,9975
18	0	7	0	0,5250	0,0905	1
19	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0396	0,9841
20	1	10	1	1,000	0,0346	0,9945
21	-1	4	-1	0,0500	0,0539	0,9972
22	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0955	0,9986
23	0	7	0	0,5250	0,1093	0,9952
24	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0392	0,9499
25	1	10	1	1,000	0,0396	0,9864

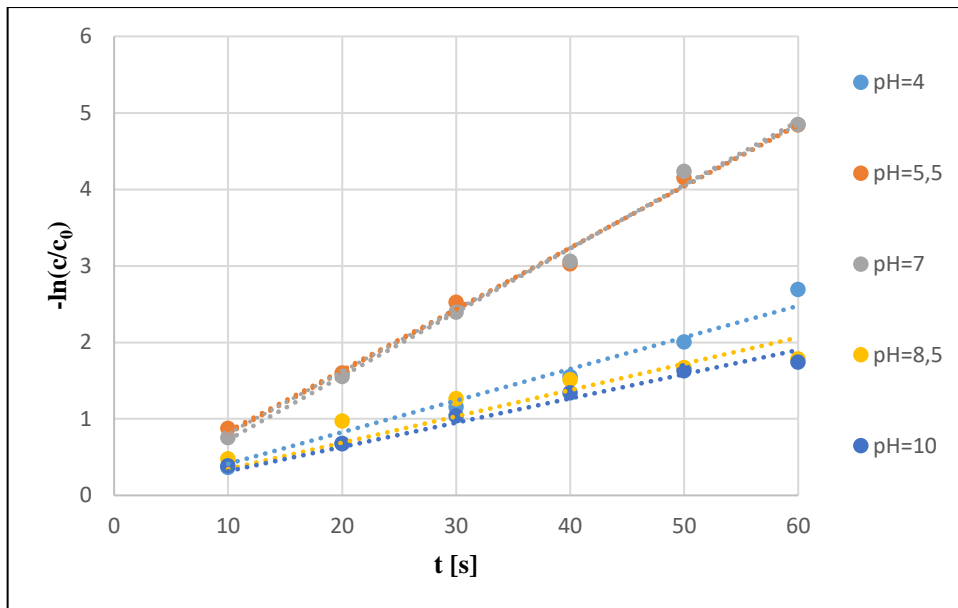
Vrijeme obrade bio je treći promatrani parametar, te je indirektno uveden u korišteni eksperimentalni dizajn u obliku brzine konverzije, odnosno razgradnje modelne otopine ATV-a. Kako bi se reakcije i njihove konstante brzine razgradnje mogle međusobno usporediti, potrebno ih je svesti na isti red reakcije. Iz tog je razloga dobiveni eksperimentalni rezultat za razgradnju modelne otopine ATV-a fotooksidacijskim procesom UV-C/H₂O₂ kroz period obrade od 60 sekundi testiran na pripadajući red reakcije korištenjem integralnih jednadžbi za određivanje reda reakcije prikazanim kao različite funkcijske ovisnosti koncentracije i vremena preko linearne regresije (slike 10, 11, 12, 13 i 14).



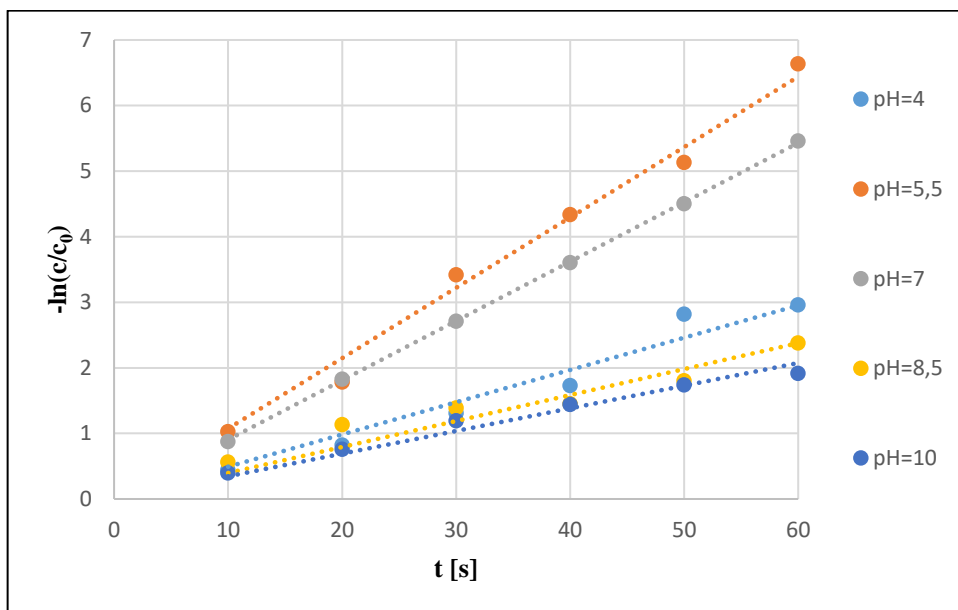
Slika 10. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s, UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:10$, odnosno $c(OX) = 0,05$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



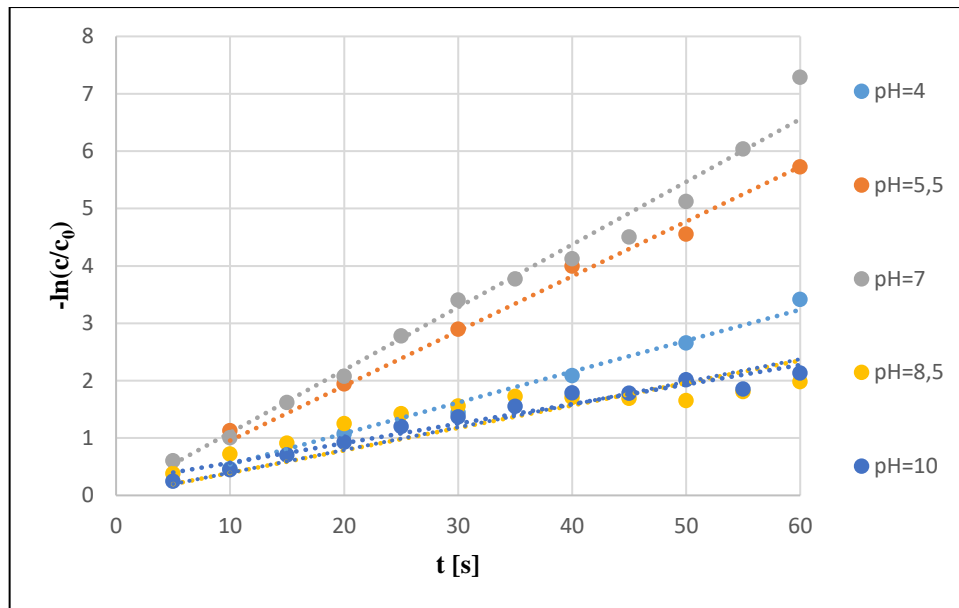
Slika 11. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s, UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:57.5$, odnosno $c(OX) = 0,2875$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 12. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s, UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:105$, odnosno $c(OX) = 0,5250$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 13. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s, UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:152,5$, odnosno $c(OX) = 0,7625$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 14. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s, UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:200$, odnosno $c(OX) = 1,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.

Na temelju dobivenih rezultata, utvrđeno je kako kinetika razgradnje modelne otopine ATV-a prati kinetiku prvog reda (slike 10, 11, 12, 13 i 14). Vrijednosti koeficijenta determinacije linearne regresije (R_{LR}^2) kreću se između 0,9499 i 1, a vrijednosti konstanti brzine razgradnje (k_{obs}) ATV-a kreću se između 0,0183 i 0,1093 s⁻¹.

Višeregresijskom analizom (MRA) matrice dizajna i dobivenim vrijednostima za odgovarajući odziv (tablica 5) dobiven je polinom, odnosno jednačba drugog reda (model M1) za predviđanje ponašanja promatranog sustava (25):

$$Y' = \frac{1}{\sqrt{Y}} = 0,070495 + 0,019984x_1 - 0,0083x_1^2 - 0,01322x_2 - 0,03421x_2^2 - 0,01144x_1 \cdot x_2 \quad (25)$$

S obzirom na dobiveni model, optimalni uvjeti razgradnje modelne vodene otopine ATV-a su pri pH = 7 i $c(X):c(H_2O_2) = 1:200$ tj. $c(H_2O_2) = 1$ mM, a konstanta brzine razgradnje tada je najveća i iznosi 0,1093 s⁻¹.

ANOVA (analiza varijance), je vrlo važan test procjene sposobnosti razvijenog modela za opisivanje varijabilnosti podataka, njihove značajnosti, odnosno signifikantnosti. Tako je i

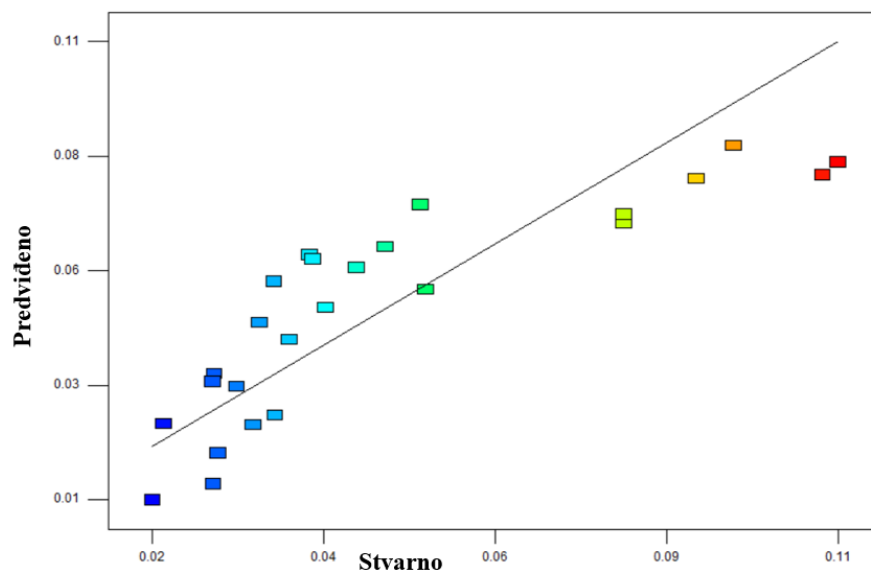
u ovom radu provedena analiza varijance RSM modela, a rezultati dobiveni analizom prikazani su u tablici 6.

Tablica 6. Analiza varijance RSM modela M1 za predviđanje konstante razgradnje ATV-a istraživanjem UV-C/H₂O₂ procesom.

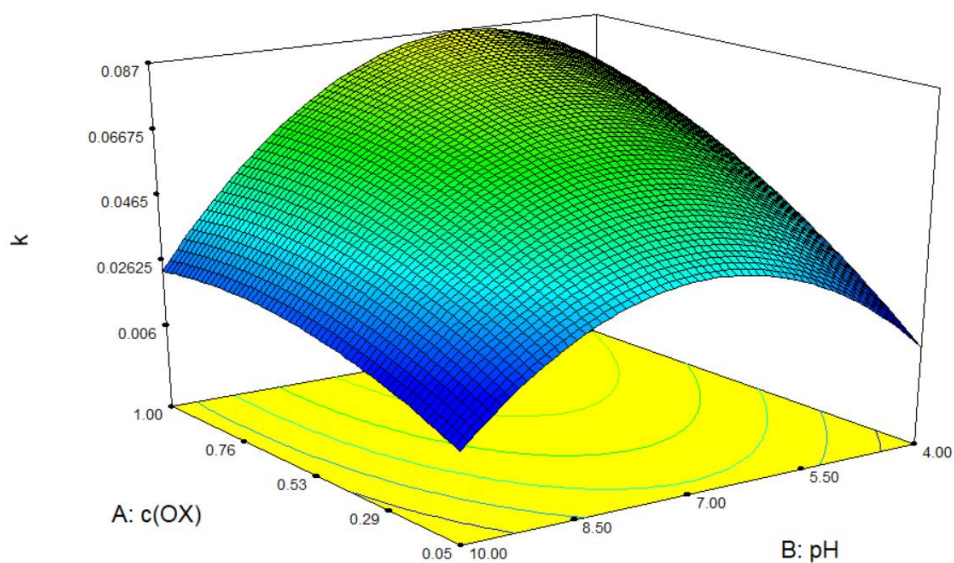
Faktori (kodirano)	Statistička analiza				
	SS	df	MSS	F	<i>p</i>
Model	0,013416	5	0,002683	9,824188	< 0,0001
x_1	0,004992	1	0,004992	18,27762	0,0004
x_1^2	0,000301	1	0,000301	1,102758	0,3068
x_2	0,002186	1	0,002186	8,003511	0,0107
x_2^2	0,005119	1	0,005119	18,74219	0,0004
$x_1 \cdot x_2$	0,000818	1	0,000818	2,994863	0,0997
Ostatak	0,005189	19	0,000273		
Ukupno	0,018605	24			

* $p < 0,0500$ se smatraju signifikantnima

Model M1 smatra se značajnim s obzirom na vrijednosti izračunate pomoću Fisher F-testa i vrlo niske p vrijednosti vjerojatnosti za model, $p = <0,0001$. U slučaju kada je p vrijednost manja od 0.05, model ili članovi modela (linearni, kvadratni ili interakcija) mogu se smatrati značajnim za opis promatranog sustava. Regresijski koeficijent služi za testiranje slaganja modela s empirijski dobivenim vrijednostima. Izračunat je regresijski koeficijent, $R^2 = 0,7121$ uz vrijednost korigiranog regresijskog koeficijenta, $R_{adj}^2 = 0,6477$. Dobivene vrijednosti regresijskih koeficijenata su bliske pa se može zaključiti kako je razvijeni model sposoban opisati ponašanje sustava u ispitivanom rasponu promatranih parametara. S obzirom na navedeno, model M1 opisuje 71,21 % prikazanih podataka, dok 28,79 % može biti posljedica pogreške modela. Uspoređujući vrijednost predviđenog regresijskog koeficijenta, $R_{pred}^2 = 0,4908$, s korigiranim regresijskim koeficijentom $R_{adj}^2 = 0,6477$ može se zaključiti kako ne postoji znatno odstupanje u modelom predviđenim i eksperimentalno dobivenim vrijednostima (slika 15). Eksperimentom dobiveni podaci nalaze se u blizini $y = x$ pravca, a takva raspodjela točaka ukazuje na pouzdanost modela. Promatrajući niske p vrijednosti linearnih članova modela x_1 i x_2 , može se zaključiti da koncentracija H₂O₂ i pH vrijednost modelne otopine utječu na fotooksidativni proces razgradnje ATV-a. Kombinirani utjecaj promatranih parametara može se vidjeti na trodimenzionalnom (3D) prikazu na slici 16.



Slika 15. Usporedba eksperimentalnih i modelom predviđenih vrijednosti odziva za UV-C/H₂O₂ proces.



Slika 16. 3D dijagram utjecaja pH vrijednosti i koncentracije H₂O₂ na brzinu razgradnje modelnog onečišćivala ATV-a.

Kako je već prikazano rezultatima ANOVA-e, kinetika razgradnje ATV-a ovisi i o pH vrijednosti modelne otopine i o koncentraciji H₂O₂. Konstante degradacije ne mijenjaju se značajno s promjenom koncentracije H₂O₂. Porastom koncentracije H₂O₂, raste vrijednost

konstante brzine razgradnje ATV-a, pri čemu se najveća vrijednost konstante brzine razgradnje postiže pri maksimalnoj koncentraciji H₂O₂. Što je veća početna koncentracija H₂O₂, to će se generirati više HO·, fotolizom 1 mol H₂O₂ nastaje 2 mol HO· radikala. Gledajući utjecaj pH vrijednosti modelne otopine ATV-a na kinetiku razgradnje, uočeno je značajno smanjenje konstante brzine razgradnje odmicanjem prema kiselim i bazičnim uvjetima. To se može objasniti s obzirom na vrijednosti pK_a, pri čemu ATV posjeduje dvije pK_a vrijednosti: 4,42 i 11,92. [40] Najveća vrijednost konstante brzine razgradnje ATV-a postiže se pri neutralnim uvjetima, pH = 7 gdje je ATV 50 % u protoniranom, a 50 % u deprotoniranom obliku. UV/H₂O₂ proces učinkovitiji je u alkalnom mediju jer se koncentracija konjugiranog aniona H₂O₂ (HO₂⁻) povećava. Nastali HO₂⁻ posjeduje veći apsorpcijski koeficijent u odnosu na H₂O₂ čime može generirati više HO· i kisikovih anionskih radikala (O·⁻). No međutim, visoki pH se izbjegava jer HCO₃²⁻ i CO₃²⁻ i, nastali mineralizacijom iz okoline, reagiraju s HO· radikalima i prelaze u nereaktivne oblike H₂O i OH⁻. [41]

4.1.2. ATV s UV-C/S₂O₈²⁻

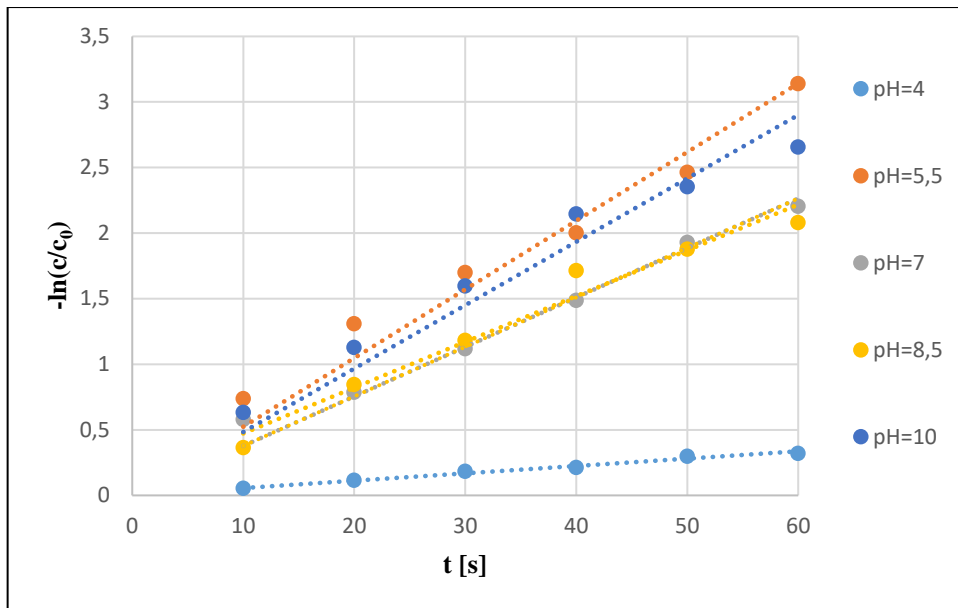
Obrada modelne otopine ATV-a provedena je fotooksidacijskim UV-C/S₂O₈²⁻ procesom te je pri tome utvrđen utjecaj procesnih parametara na učinkovitost obrade. Puni faktorski plan je pri razvoju modela eksperimenta izveden na pet razina. Promatran je utjecaj procesnih parametara, pH vrijednosti modelne otopine ATV-a u rasponu od 4 do 10 te koncentracije oksidansa, S₂O₈²⁻, koja je proračunata na temelju omjera koncentracija modelnog onečišćivala (X) i oksidansa (OX) u rasponu od 1:10 do 1:200. Tablica 7 prikazuje sve kombinacije eksperimenata i procesnih parametara.

Tablica 7. Puni faktorski plan eksperimenta s dvije neovisne varijable izražene u kodiranim i stvarnim vrijednostima i izračunate vrijednosti konverzije ATV-a prvog reda (k_{obs} , s⁻¹).

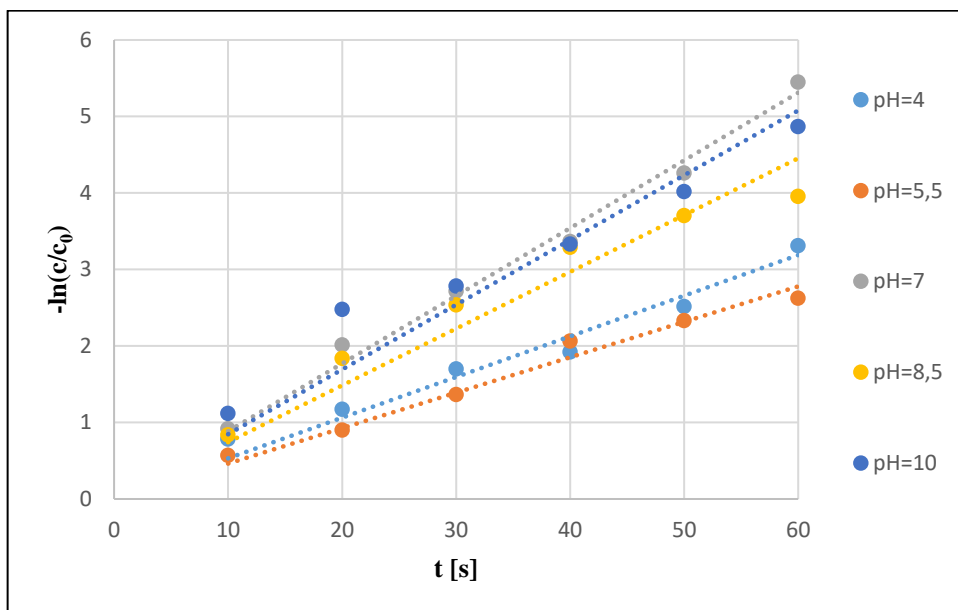
Eksperimenti	Varijable				Konverzija ATV-a	
	Varijabla 2, x_2		Varijabla 1, x_1		k_{obs} [s ⁻¹]	R_{LR}^2
	kôd	pH	kôd	$c(OX)$ [mM]		
1	-1	4	-1	0,0500	0,0056	0,9968
2	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0524	0,9935
3	0	7	0	0,5250	0,0377	0,9963
4	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0377	0,9933

5	1	10	1	1,000	0,0483	0,9916
6	-1	4	-1	0,0500	0,0531	0,9936
7	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0463	0,9959
8	0	7	0	0,5250	0,0885	0,9980
9	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0742	0,9885
10	1	10	1	1,000	0,0846	0,9872
11	-1	4	-1	0,0500	0,0669	0,9970
12	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0722	0,9970
13	0	7	0	0,5250	0,1218	0,9920
14	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0948	0,9945
15	1	10	1	1,000	0,1427	0,9877
16	-1	4	-1	0,0500	0,0593	0,9943
17	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,0683	0,9932
18	0	7	0	0,5250	0,1525	0,9966
19	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,0979	0,9918
20	1	10	1	1,000	0,1213	0,9838
21	-1	4	-1	0,0500	0,0589	0,9879
22	-0,5	5,5	-0,5	0,2875	0,1230	0,9731
23	0	7	0	0,5250	0,1514	0,9883
24	0,5	8,5	0,5	0,7625	0,1357	0,9989
25	1	10	1	1,000	0,1897	0,9998

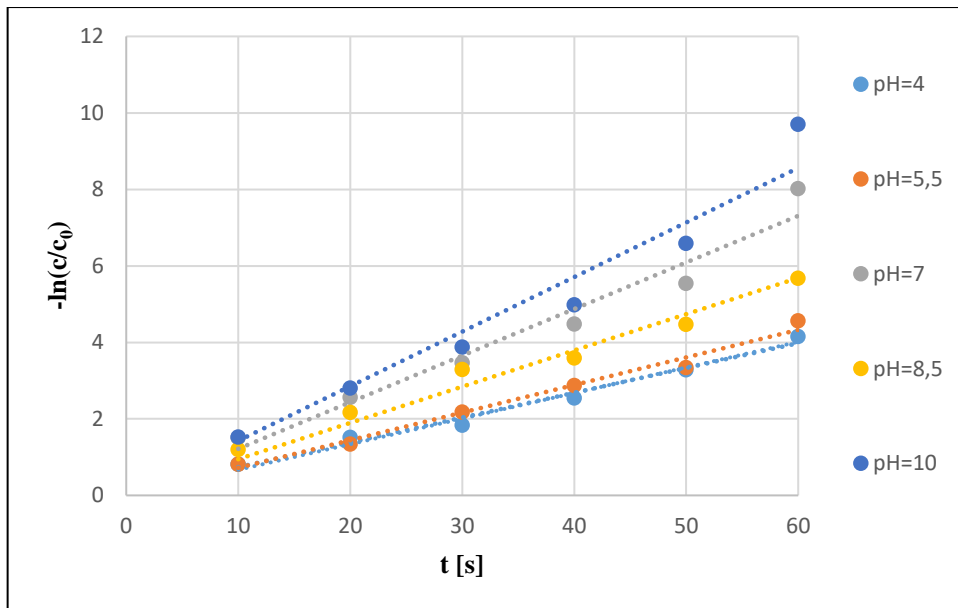
Vrijeme obrade bio je treći promatrani parametar, te je indirektno uveden u korišteni eksperimentalni dizajn u obliku brzine konverzije, odnosno razgradnje modelne otopine ATV-a. Kako bi se reakcije i njihove konstante brzine razgradnje mogle međusobno usporediti, potrebno ih je svesti na isti red reakcije. Iz tog je razloga dobiveni eksperimentalni rezultat za razgradnju modelne otopine ATV-a fotooksidacijskim procesom UV-C/S₂O₈²⁻ kroz period obrade od 60 sekundi testiran na pripadajući red reakcije korištenjem integralnih jednadžbi za određivanje reda reakcije prikazanim kao različite funkcijske ovisnosti koncentracije i vremena preko linearne regresije (slike 17, 18, 19, 20 i 21).



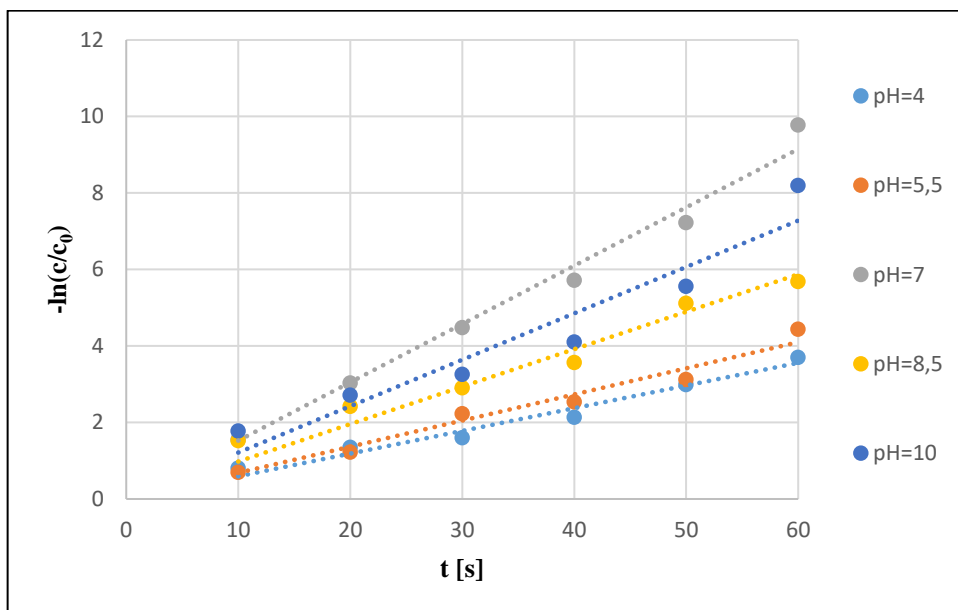
Slika 17. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:10$, odnosno $c(OX) = 0,05$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



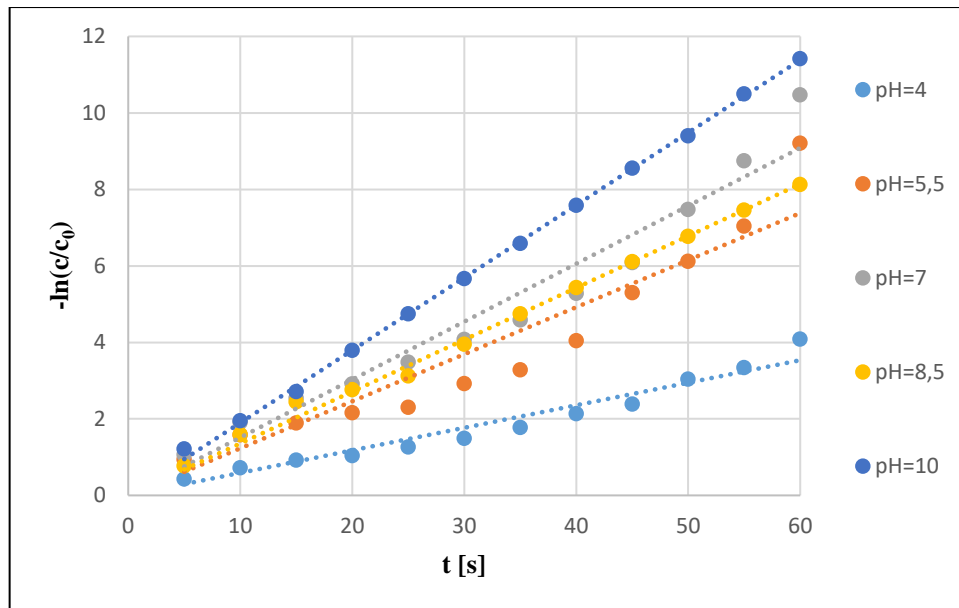
Slika 18. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:57,5$, odnosno $c(OX) = 0,2875$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 19. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:105$, odnosno $c(OX) = 0,5250$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 20. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:152,5$, odnosno $c(OX) = 0,7625$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 21. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju ATV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:200$, odnosno $c(OX) = 1,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.

Prema slikama 17, 18, 19, 20 i 21 utvrđeno je da kinetika razgradnje modelne vodene otopine ATV-a prati kinetiku prvog reda. Vrijednosti koeficijenata determinacije linearne regresije (R_{LR}^2) kreću se između 0,9731 i 0,9998 dok se vrijednosti konstanti brzine razgradnje (k_{obs}) ATV-a kreću između 0,0056 i 0,1897 s⁻¹.

Višeregresijskom analizom (MRA) matrice dizajna i dobivenim vrijednostima za odgovarajući odziv (tablica 7) dobiven je polinom, odnosno jednadžba drugog reda (model M2) za predviđanje ponašanja promatranog sustava (26):

$$Y' = \frac{1}{\sqrt{Y}} = 0,09903 + 0,4426 \cdot x_1 - 0,0093 \cdot x_1^2 + 0,03055 \cdot x_2 - 0,014 \cdot x_2^2 + 0,0188 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (26)$$

S obzirom na dobiveni model, optimalni uvjeti razgradnje modelne vodene otopine ATV-a su pri pH = 10 i $c(X):c(S_2O_8^{2-}) = 1:200$ tj. $c(S_2O_8^{2-}) = 1,00$ mM, a konstanta brzine razgradnje tada je najveća i iznosi 0,1897 s⁻¹.

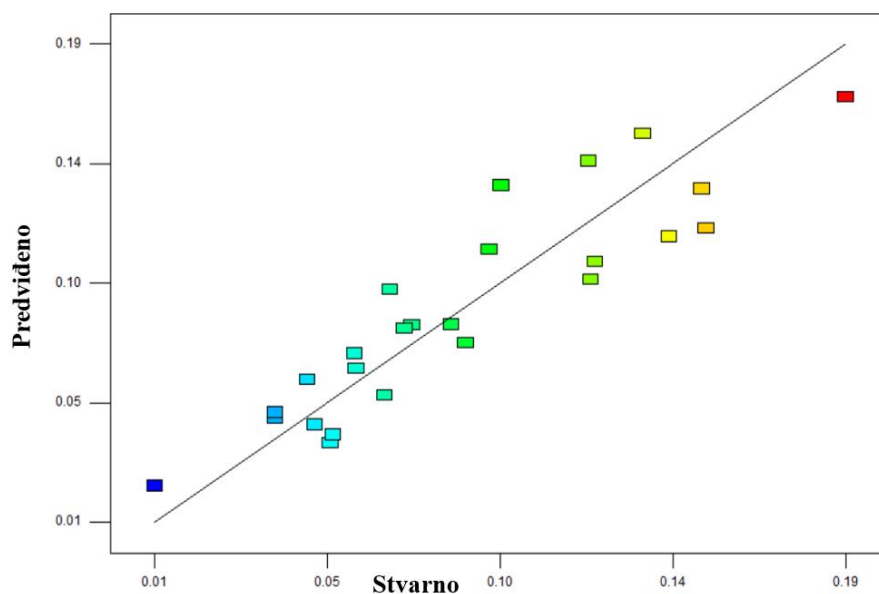
Provedena je analiza varijance RSM modela, a rezultati dobiveni analizom prikazani su u tablici 8.

Tablica 8. Analiza varijance RSM modela M2 za predviđanje konstante razgradnje ATV-a istraživanim UV-C/S₂O₈²⁻ procesom.

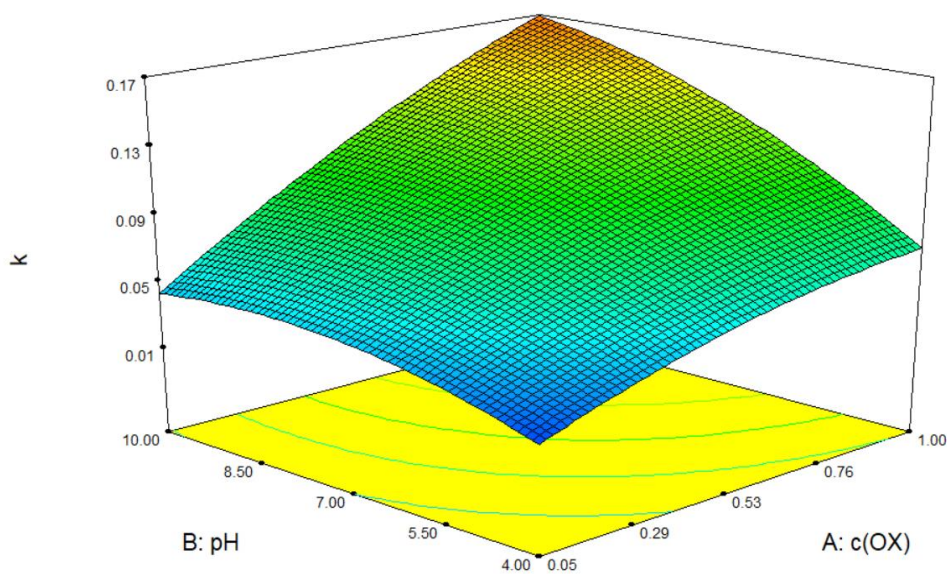
Faktori (kodirano)	Statistička analiza				
	SS	df	MSS	F	<i>p</i>
Model	0,0396	5	0,00792	17,8985	< 0,0001
<i>x</i> ₁	0,02449	1	0,02449	55,3482	< 0,0001
<i>x</i> ₁ ²	0,00037	1	0,00037	0,84727	0,3689
<i>x</i> ₂	0,01166	1	0,01166	26,3614	< 0,0001
<i>x</i> ₂ ²	0,00086	1	0,00086	1,94579	0,1791
<i>x</i> ₁ · <i>x</i> ₂	0,00221	1	0,00221	4,99003	0,0377
Ostatak	0,00841	19	0,00044		
Ukupno	0,04801	24			

**p*<0,0500 se smatraju signifikantnima

Model M2 smatra se značajnim s obzirom na vrijednosti izračunate pomoću Fisher F-testa i vrlo niske *p* vrijednosti vjerojatnosti za model, *p* = < 0,0001. Izračunat je regresijski koeficijent, $R^2 = 0,8249$ uz vrijednost korigiranog regresijskog koeficijenta, $R_{adj}^2 = 0,7788$. Dobivene vrijednosti regresijskih koeficijenata su bliske pa se može zaključiti kako je razvijeni model sposoban opisati ponašanje sustava u ispitivanom rasponu promatranih parametara. S obzirom na navedeno, model M2 opisuje 82,49 % prikazanih podataka, dok 17,51 % može biti posljedica pogreške modela. Uspoređujući vrijednost predviđenog regresijskog koeficijenta, $R_{pred}^2 = 0,7045$, s korigiranim regresijskim koeficijentom $R_{adj}^2 = 0,7788$ može se zaključiti kako se modelom predviđene i eksperimentalno dobivene vrijednosti poklapaju uz prihvatljivo odstupanje (slika 22). Eksperimentalno dobivene vrijednosti ne odudaraju previše od *y* = *x* pravca, a raspored točaka sugerira na pouzdanost modela. Promatrajući niske *p* vrijednosti linearnih članova modela *x*₁ i *x*₂, ali i *x*₁·*x*₂, može se zaključiti da koncentracija S₂O₈²⁻ i pH-vrijednost modelne otopine utječu na fotooksidativni proces razgradnje ATV-a. Kombinirani utjecaj promatranih parametara može se vidjeti na trodimenzionalnom (3D) prikazu na slici 23.



Slika 22. Usporedba eksperimentalnih i modelom predviđenih vrijednosti odziva za UV-C/S₂O₈²⁻ proces.



Slika 23. 3D dijagram utjecaja pH vrijednosti i koncentracije S₂O₈²⁻ na brzinu razgradnje modelnog onečišćivala ATV-a.

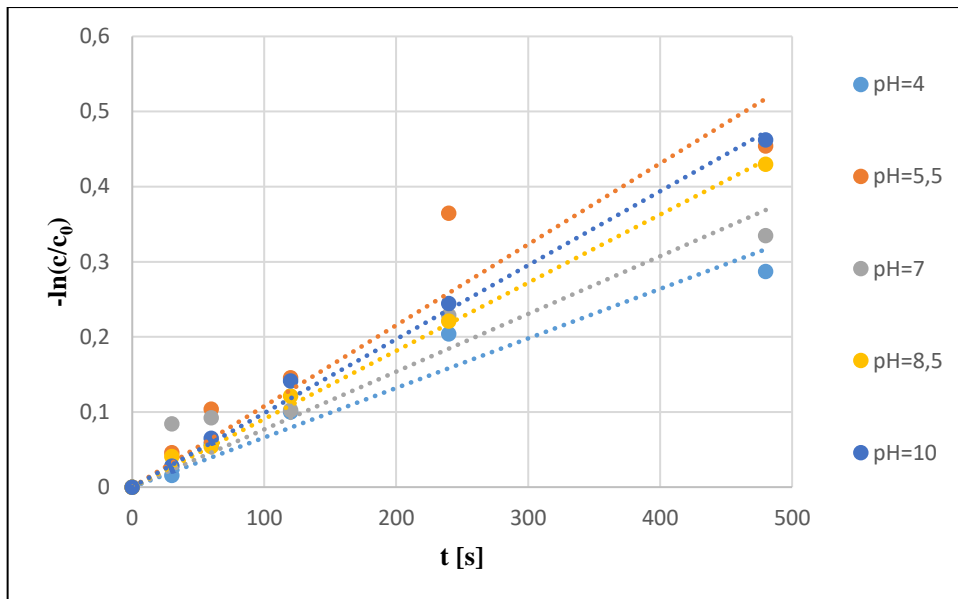
Prema 3D dijagramu može se uočiti kako vrijednosti konstante brzine razgradnje ATV-a blago rastu porastom pH vrijednosti modelne otopine ATV-a i porastom koncentracije S₂O₈²⁻. Porastom koncentracije S₂O₈²⁻ generira se više SO₄⁻, a to proizlazi iz toga kako se fotolizom

iz 1 mol $S_2O_8^{2-}$ generira 2 mol $SO_4^{\cdot-}$, a samim time raste i brzina degradacije ATV-a. Promjena pH vrijednosti modelne otopine ne pokazuje velik utjecaj na promjenu brzine razgradnje pri čemu se veće brzine razgradnje postižu u bazičnim uvjetima. Maksimalna konstanta brzine razgradnje ATV-a postiže se pri maksimalnoj koncentraciji $S_2O_8^{2-}$ i $pH = 10$. Porastom pH vrijednosti prema bazičnim uvjetima, $SO_4^{\cdot-}$ stupa u reakciju s OH^- te stvara HO^{\cdot} . Promjenom glavnog oksidansa, $SO_4^{\cdot-}$ u HO^{\cdot} , pri visokim vrijednostima pH, dolazi do učinkovitije razgradnje organskih spojeva, u promatranom slučaju ATV-a, i ustrajnosti daljnje aktivacije persulfata. Ovakvo pojačanje razgradnje djelovanjem HO^{\cdot} može sa sobom nositi neželjene kompetitivne reakcije koje uključuju djelovanje manje selektivnog HO^{\cdot} . [42] $SO_4^{\cdot-}$ pokazuje viši standardni redukcijski potencijal u odnosu na HO^{\cdot} pri neutralnom pH i na taj način pokazuje veću moć razgradnje i veću selektivnost prema različitim organskim spojevima. U kiselim uvjetima, prema nižim pH vrijednostima, i $SO_4^{\cdot-}$ i HO^{\cdot} imaju približno jednake redukcijske potencijale, ali generalno, $SO_4^{\cdot-}$ ponovo pokazuje veću selektivnost u odnosu na HO^{\cdot} . [43]

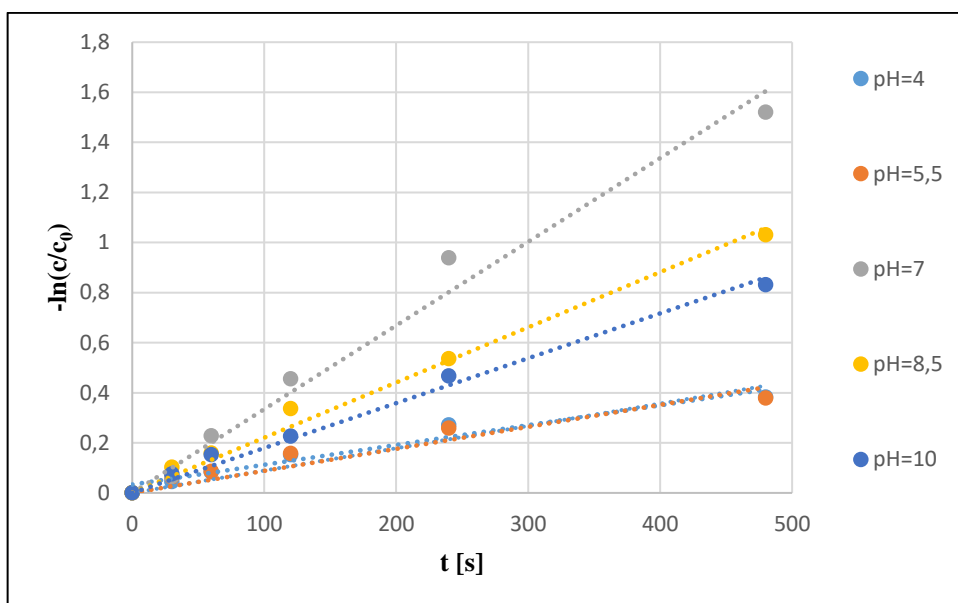
4.2. FOTOOKSIDATIVNA OBRADA MODELNE OTPADNE VODE NTV-a

Eksperiment obrade modelne vode NTV-a podijeljen je na tri grupe koje uključuju fotolitičku razgradnju NTV-a korištenjem UV lampe bez dodatka oksidansa te dva fotooksidacijska procesa razgradnje uz dodatak dva oksidansa, H_2O_2 i $S_2O_8^{2-}$.

Fotolitičkom razgradnjom provedena je obrada modelne otopine NTV-a pri različitim vrijednostima pH, u trajanju od 8 minuta. Rezultati dobiveni fotolitičkom razgradnjom, uz UV lampu bez dodatka oksidansa prikazani su kao funkcijska ovisnost negativnog logaritma omjera koncentracije modelnog onečišćivala u trenutku izuzimanja uzorka i početne koncentracije modelnog onečišćivala o vremenu trajanja obrade (slike 24 i 25).



Slika 24. Grafički prikaz funkcijske ovisnosti negativnog logaritma o vremenu obrade za modelne otopine NTV-a prije dodatka H_2O_2 pri različitim pH vrijednostima.



Slika 25. Grafički prikaz funkcijske ovisnosti negativnog logaritma o vremenu obrade za modelne otopine NTV-a prije dodatka $S_2O_8^{2-}$ pri različitim pH vrijednostima.

4.2.1. NTV s UV-C/ H_2O_2

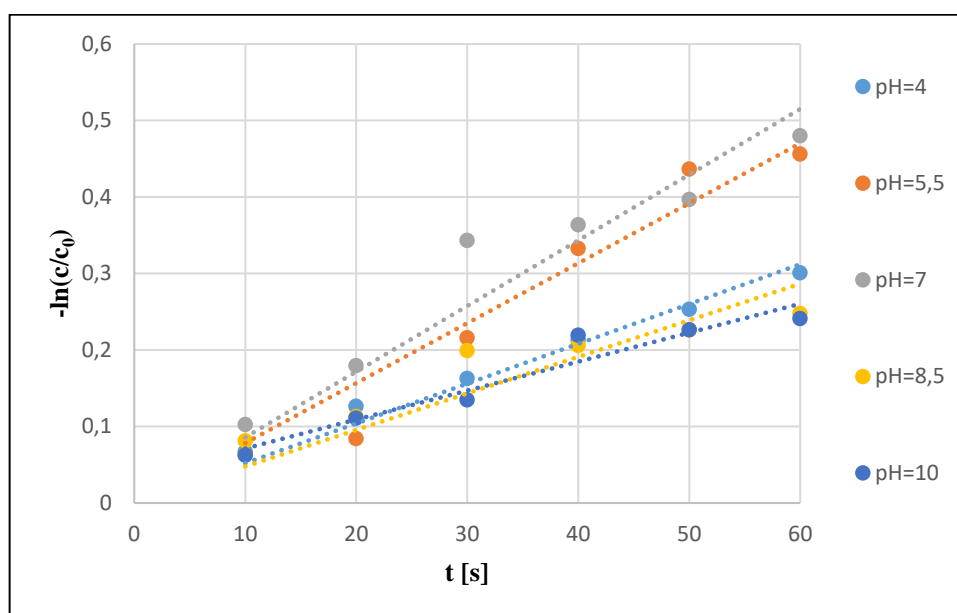
Obrada modelne otopine NTV-a provedena je fotooksidacijskim UV-C/ H_2O_2 procesom te je pri tome utvrđen utjecaj procesnih parametara na učinkovitost obrade. Puni faktorski plan

je pri razvoju modela eksperimenta izveden na pet razina. Promatran je utjecaj procesnih parametara, pH vrijednosti modelne otopine NTV-a u rasponu od 4 do 10 te koncentracije oksidansa, H₂O₂, koja je proračunata na temelju omjera koncentracija modelnog onečišćivala (X) i oksidansa (OX) u rasponu od 1:10 do 1:200. Tablica 9 prikazuje sve kombinacije eksperimenata i procesnih parametara.

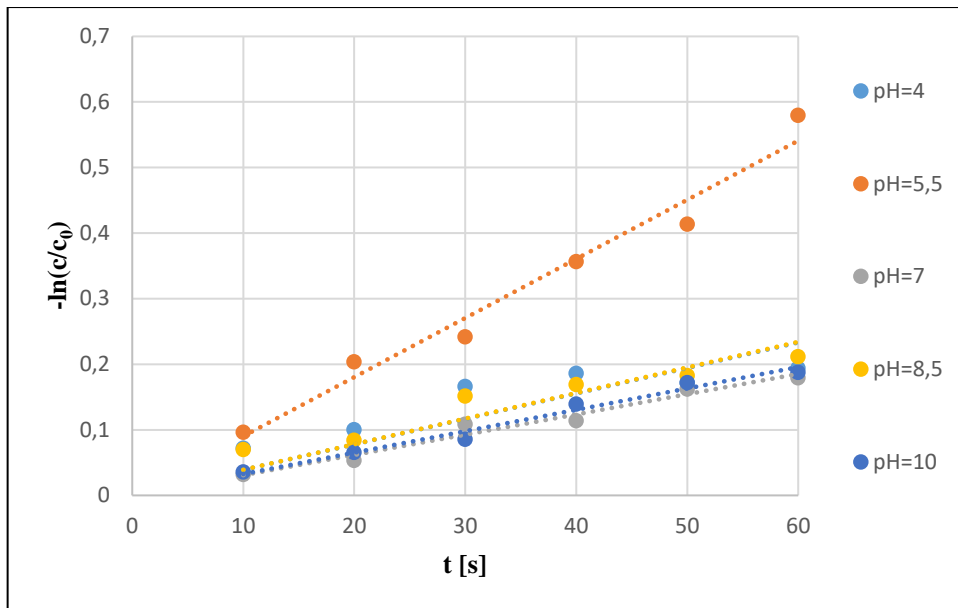
Tablica 9. Puni faktorski plan eksperimenta s dvije neovisne varijable izražene u kodiranim i stvarnim vrijednostima i izračunate vrijednosti konverzije NTV-a prvog reda (k_{obs} , s⁻¹).

Eksperimenti	Varijable				Konverzija NTV-a	
	Varijabla 2, x_2		Varijabla 1, x_1		k_{obs} [s ⁻¹]	R_{LR}^2
	kôd	pH	kôd	$c(OX)$ [mM]		
1	-1	4	-1	1,00	0,0052	0,9961
2	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0078	0,9851
3	0	7	0	10,50	0,0086	0,9847
4	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0048	0,9698
5	1	10	1	20,00	0,0046	0,9839
6	-1	4	-1	1,00	0,0039	0,9509
7	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0090	0,9942
8	0	7	0	10,50	0,0031	0,9939
9	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0039	0,9787
10	1	10	1	20,00	0,0033	0,9960
11	-1	4	-1	1,00	0,0062	0,9614
12	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0089	0,9863
13	0	7	0	10,50	0,0034	0,9809
14	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0035	0,9635
15	1	10	1	20,00	0,0024	0,9984
16	-1	4	-1	1,00	0,0048	0,9574
17	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0090	0,9892
18	0	7	0	10,50	0,0029	0,9700
19	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0046	0,9869
20	1	10	1	20,00	0,0017	0,9738
21	-1	4	-1	1,00	0,0142	0,9957
22	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0051	0,9766
23	0	7	0	10,50	0,0056	0,9903
24	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0039	0,9818
25	1	10	1	20,00	0,0019	0,9622

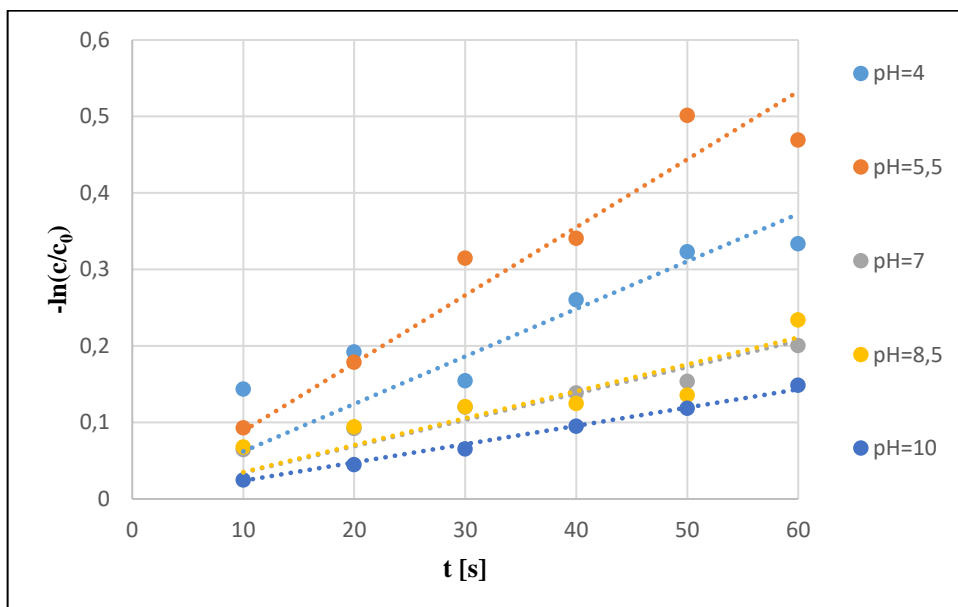
Vrijeme obrade bio je treći promatrani parametar, te je indirektno uveden u korišteni eksperimentalni dizajn u obliku brzine konverzije, odnosno razgradnje modelne otopine NTV-a. Kako bi se reakcije i njihove konstante brzine razgradnje mogle međusobno usporediti, potrebno ih je svesti na isti red reakcije. Iz tog je razloga dobiveni eksperimentalni rezultat za razgradnju modelne otopine NTV-a fotooksidacijskim procesom UV-C/H₂O₂ kroz period obrade od 60 sekundi testiran na pripadajući red reakcije korištenjem integralnih jednadžbi za određivanje reda reakcije prikazanim kao različite funkcijske ovisnosti koncentracije i vremena preko linearne regresije (slike 26, 27, 28, 29 i 30).



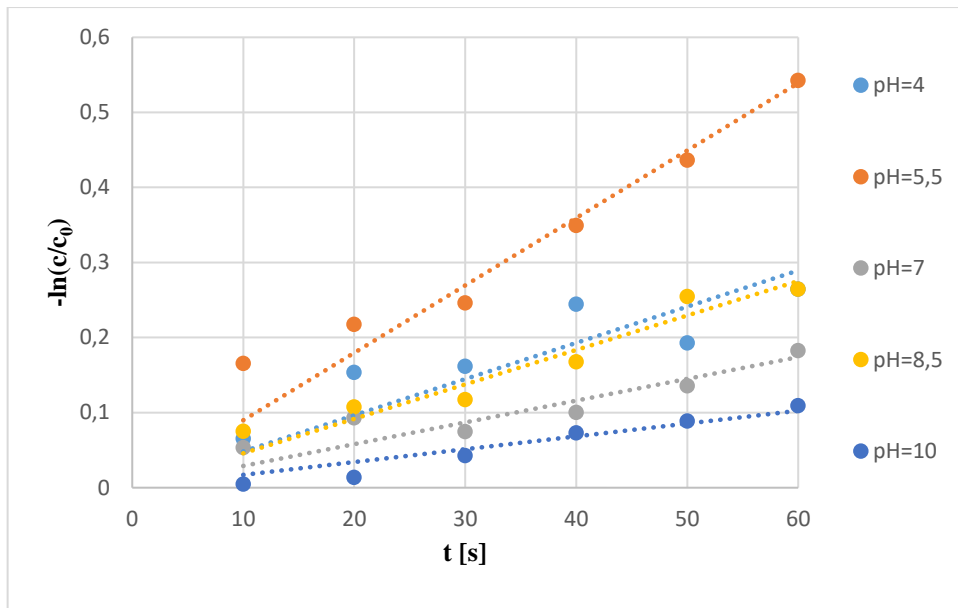
Slika 26. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:10$, odnosno $c(OX) = 1,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



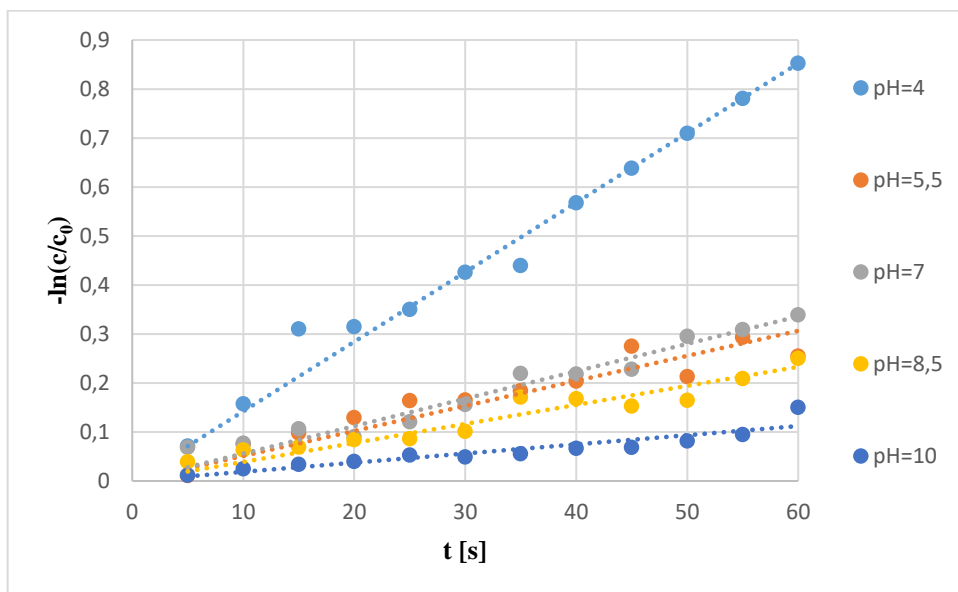
Slika 27. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:57.5$, odnosno $c(OX) = 5,75$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 28. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:105$, odnosno $c(OX) = 10,50$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 29. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:152.5$, odnosno $c(OX) = 15,25$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 30. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/H₂O₂ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:200$, odnosno $c(OX) = 20,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.

Prema slikama 26, 27, 28, 29 i 30 utvrđeno je da kinetika razgradnje modelne vodene otopine NTV-a prati kinetiku prvog reda. Vrijednosti koeficijenta determinacije linearne

regresije (R_{LR}^2) kreću se između 0,9509 i 0,9984 dok se vrijednosti konstanti brzine razgradnje (k_{obs}) NTV-a kreću između 0,0017 i 0,0142 s⁻¹.

Višeregresijskom analizom (MRA) matrice dizajna i dobivenim vrijednostima za odgovarajući odziv (tablica 9) dobiven je polinom, odnosno jednačba drugog reda (model M3) za predviđanje ponašanja promatranog sustava (27):

$$Y' = \frac{1}{\sqrt{Y}} = 0,0048 - 3 \cdot 10^{-5} \cdot x_1 + 0,00162 \cdot x_1^2 - 0,0024 \cdot x_2 - 0,0006 \cdot x_2^2 - 0,0019 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (27)$$

S obzirom na dobiveni model, optimalni uvjeti razgradnje modelne vodene otopine NTV-a su pri pH = 4 i $c(X):c(H_2O_2) = 1:200$ tj. $c(H_2O_2) = 20$ mM, a konstanta brzine razgradnje tada je najveća i iznosi 0,0142 s⁻¹.

Provedena je analiza varijance RSM modela, a rezultati dobiveni analizom prikazani su u tablici 10.

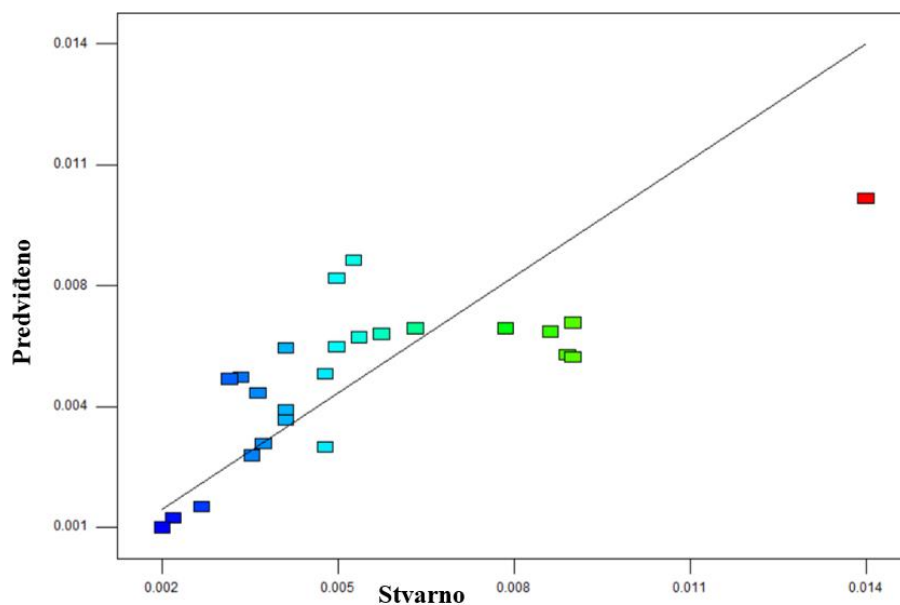
Tablica 10. Analiza varijance RSM modela M3 za predviđanje konstante razgradnje NTV-a istraživanjem UV-C/H₂O₂ procesom.

Faktori (kodirano)	Statistička analiza				
	SS	df	MSS	F	<i>p</i>
Model	0,00011	5	$2,2 \cdot 10^{-5}$	4,46245	0,0074
x_1	$1,3 \cdot 10^{-8}$	1	$1,3 \cdot 10^{-8}$	0,00265	0,9595
x_1^2	$1,2 \cdot 10^{-5}$	1	$1,2 \cdot 10^{-5}$	2,38748	0,1388
x_2	$7,2 \cdot 10^{-5}$	1	$7,2 \cdot 10^{-5}$	14,8691	0,0011
x_2^2	$1,8 \cdot 10^{-6}$	1	$1,8 \cdot 10^{-6}$	0,37797	0,5460
$x_1 \cdot x_2$	$2,3 \cdot 10^{-5}$	1	$2,3 \cdot 10^{-5}$	4,67507	0,0436
Ostatak	$9,2 \cdot 10^{-5}$	19	$4,8 \cdot 10^{-6}$		
Ukupno	0,0002	24			

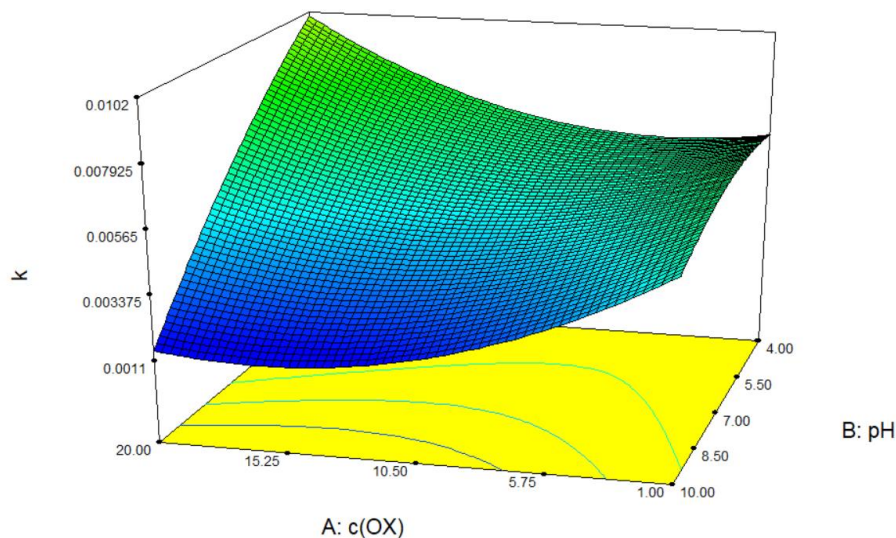
* $p < 0,0500$ se smatraju signifikantnima

Model M3 smatra se značajnim s obzirom na vrijednosti izračunate pomoću Fisher F-testa i vrlo niske *p* vrijednosti vjerojatnosti za model, $p = 0,0074$. Izračunat je regresijski koeficijent, $R^2 = 0,5401$ uz vrijednost korigiranog regresijskog koeficijenta, $R_{adj}^2 = 0,4191$. Dobivene vrijednosti regresijskih koeficijenata su bliske pa se može zaključiti kako je razvijeni model sposoban opisati ponašanje sustava u ispitivanom rasponu promatranih parametara. S

obzirom na navedeno, model M3 opisuje 54,01 % prikazanih podataka, dok 45,99 % može biti posljedica pogreške modela. Uspoređujući vrijednost predviđenog regresijskog koeficijenta, $R_{\text{pred}}^2 = 0,0960$, s korigiranim regresijskim koeficijentom $R_{\text{adj}}^2 = 0,4191$ može se zaključiti kako se modelom predviđene i eksperimentom dobivene vrijednosti ne poklapaju uopće, a to može ukazivati na potencijalni blok efekt ili problem s modelom ili podacima. Odnos između modelom predviđenih i stvarno dobivenih vrijednosti prikazan je na slici 31. Promatrajući niske p vrijednosti linearnih članova modela x_2 i $x_1 \cdot x_2$, može se zaključiti da pH vrijednost modelne otopine NTV-a te zajednički učinak pH i koncentracije H_2O_2 utječu na fotooksidativni proces razgradnje NTV-a. Kombinirani utjecaj promatranih parametara može se vidjeti na trodimenzionalnom (3D) prikazu na slici 32.



Slika 31. Usporedba eksperimentalnih i modelom predviđenih vrijednosti odziva za UV-C/ H_2O_2 proces.



Slika 32. 3D dijagram utjecaja pH vrijednosti i koncentracije H_2O_2 na brzinu razgradnje modelnog onečišćivala NTV-a.

Prikazani 3D dijagram ukazuje na utjecaj pH vrijednosti modelne otopine NTV-a i koncentracije H_2O_2 na razgradnju NTV-a. Promjena pH vrijednosti modelne otopine ne pokazuje značajnu promjenu konstante brzine razgradnje NTV-a pri čemu su vrijednosti približno jednake na čitavom području pH ljestvice. Maksimalna brzina razgradnje postiže se pri $\text{pH} = 4$ i najvećoj koncentraciji H_2O_2 . Takvi rezultati ukazuju da razgradnja NTV-a favorizira njegov protonirani oblik, budući da se vrijednost $\text{p}K_a$ NTV-a kreće između -1,6 i 7,1. [44] Promjena koncentracije H_2O_2 blago utječe na promjenu brzinu razgradnje NTV-a, pri čemu, ukoliko se promatra utjecaj koncentracije H_2O_2 bez utjecaja pH medija, manja koncentracija H_2O_2 rezultira većom konstantom brzine razgradnje, a to bi moglo proizaći iz pretpostavke kako pri visokim koncentracijama H_2O_2 dolazi do rekombinacije postojećih radikala čime nastaju nereaktivne vrste.

4.2.2. NTV s $\text{UV-C}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$

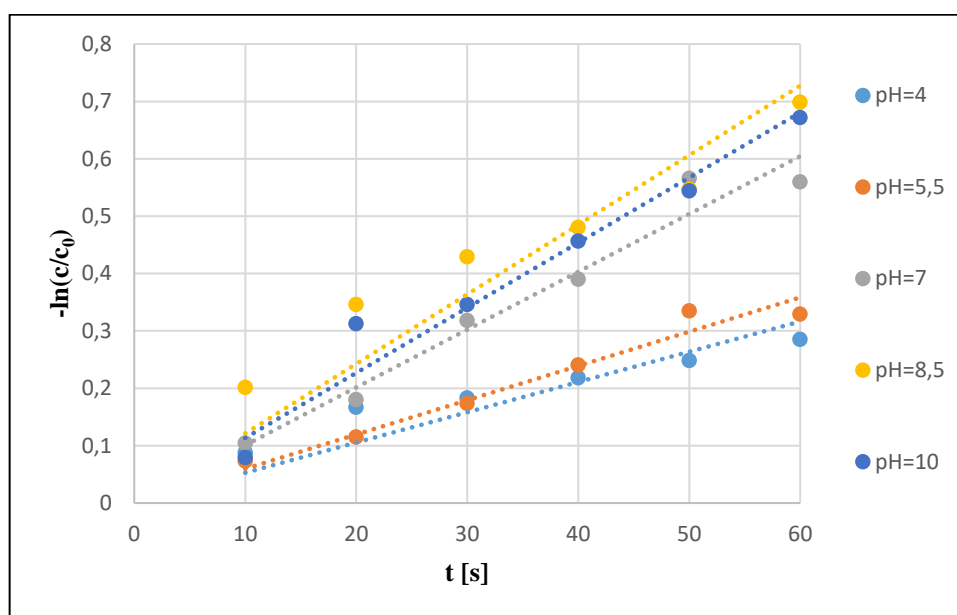
Obrada modelne otopine NTV-a provedena je fotooksidacijskim $\text{UV-C}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ procesom te je pri tome utvrđen utjecaj procesnih parametara na učinkovitost obrade. Puni faktorski plan je pri razvoju modela eksperimenta izveden na pet razina. Promatran je utjecaj procesnih parametara, pH vrijednosti modelne otopine NTV-a u rasponu od 4 do 10 te koncentracije

oksidansa, $S_2O_8^{2-}$, koja je proračunata na temelju omjera koncentracija modelnog onečišćivala (X) i oksidansa (OX) u rasponu od 1:10 do 1:200. Tablica 11 prikazuje sve kombinacije eksperimenata i procesnih parametara.

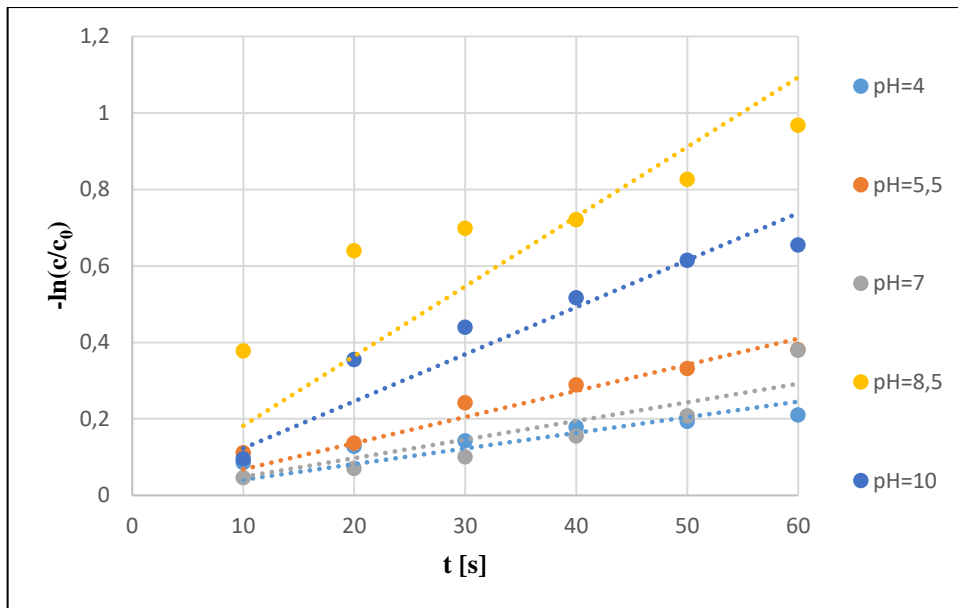
Tablica 11. Puni faktorski plan eksperimenta s dvije neovisne varijable izražene u kodiranim i stvarnim vrijednostima i izračunate vrijednosti konverzije NTV-a prvog reda (k_{obs} , s^{-1}).

Eksperimenti	Varijable				Konverzija NTV-a	
	Varijabla 2, x_2		Varijabla 1, x_1		k_{obs} [s^{-1}]	R_{LR}^2
	kôd	pH	kôd	$c(OX)$ [mM]		
1	-1	4	-1	1,00	0,0053	0,9735
2	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0060	0,9928
3	0	7	0	10,50	0,0101	0,9928
4	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0121	0,9811
5	1	10	1	20,00	0,0113	0,9922
6	-1	4	-1	1,00	0,0041	0,9610
7	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0068	0,9897
8	0	7	0	10,50	0,0049	0,9421
9	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0182	0,9497
10	1	10	1	20,00	0,0123	0,9820
11	-1	4	-1	1,00	0,0037	0,9911
12	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0036	0,9773
13	0	7	0	10,50	0,0084	0,9907
14	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0214	0,9916
15	1	10	1	20,00	0,0120	0,9944
16	-1	4	-1	1,00	0,0052	0,9973
17	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0023	0,9972
18	0	7	0	10,50	0,0111	0,9916
19	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0124	0,9843
20	1	10	1	20,00	0,0120	0,9755
21	-1	4	-1	1,00	0,0041	0,9757
22	-0,5	5,5	-0,5	5,75	0,0037	0,9901
23	0	7	0	10,50	0,0139	0,9501
24	0,5	8,5	0,5	15,25	0,0228	0,9490
25	1	10	1	20,00	0,0107	0,9888

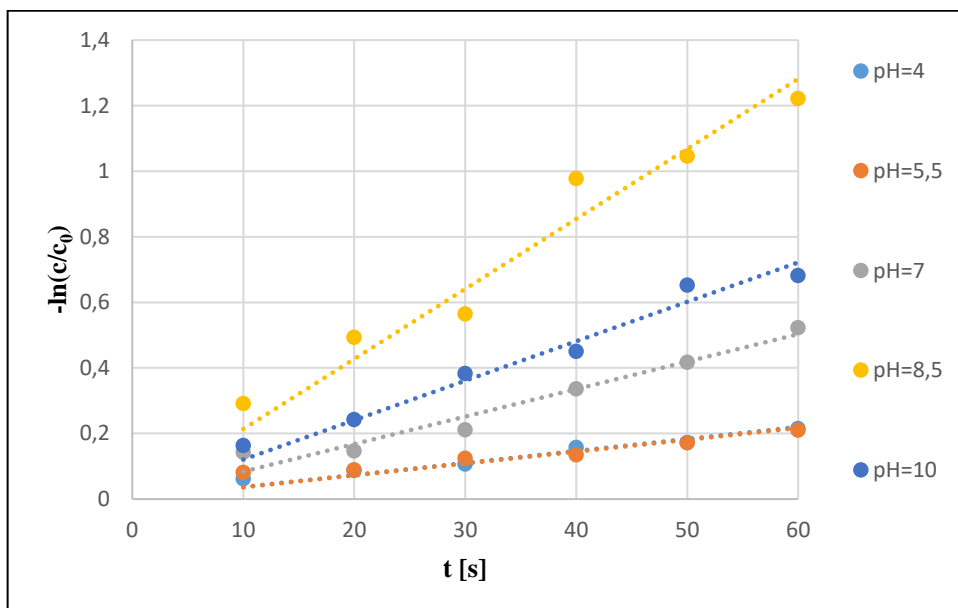
Vrijeme obrade bio je treći promatrani parametar, te je indirektno uveden u korišteni eksperimentalni dizajn u obliku brzine konverzije, odnosno razgradnje modelne otopine NTV-a. Kako bi se reakcije i njihove konstante brzine razgradnje mogle međusobno usporediti, potrebno ih je svesti na isti red reakcije. Iz tog je razloga dobiveni eksperimentalni rezultat za razgradnju modelne otopine NTV-a fotooksidacijskim procesom $UV-C/S_2O_8^{2-}$ kroz period obrade od 60 sekundi testiran na pripadajući red reakcije korištenjem integralnih jednadžbi za određivanje reda reakcije prikazanim kao različite funkcijske ovisnosti koncentracije i vremena preko linearne regresije (slike 33, 34, 35, 36 i 37).



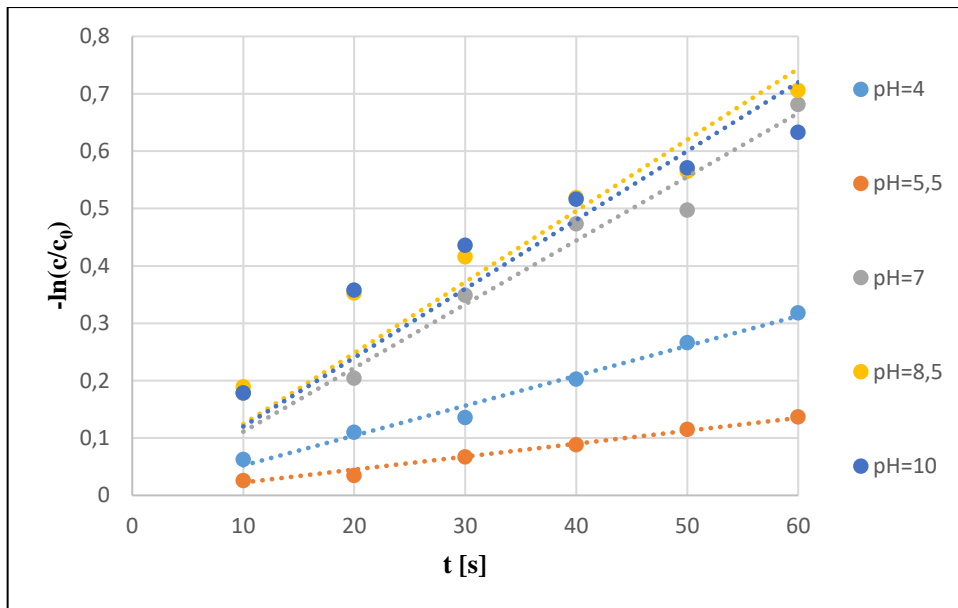
Slika 33. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s $UV-C/S_2O_8^{2-}$ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:10$, odnosno $c(OX) = 1,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



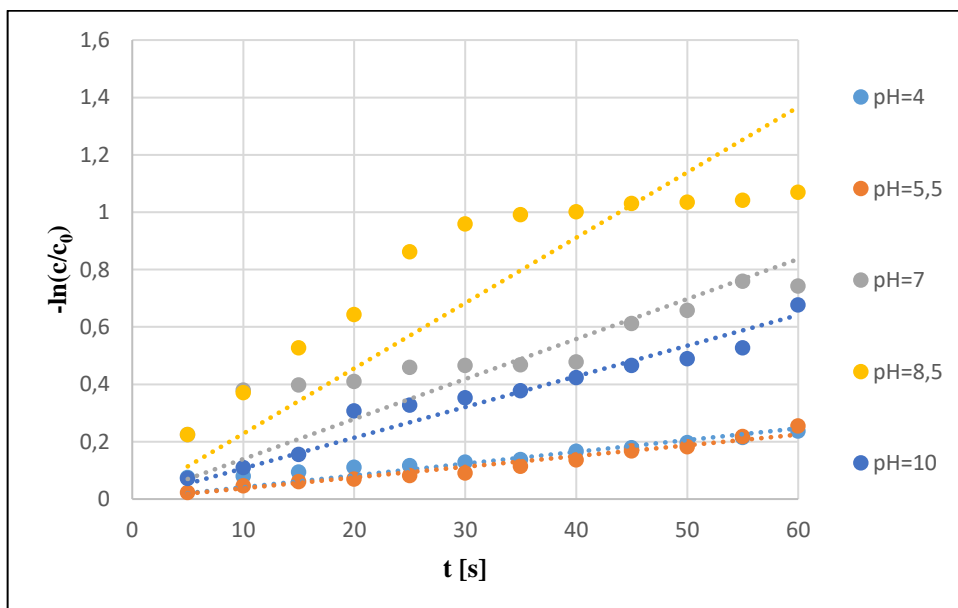
Slika 34. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:57.5$, odnosno $c(OX) = 5,75$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 35. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:105$, odnosno $c(OX) = 10,50$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 36. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:152.5$, odnosno $c(OX) = 15,25$ mM i pri različitim pH vrijednostima.



Slika 37. Grafičko određivanje konstanti prvog reda za razgradnju NTV-a u vremenu obrade od 60 s UV-C/S₂O₈²⁻ procesom pri $c(X):c(OX) = 1:200$, odnosno $c(OX) = 20,00$ mM i pri različitim pH vrijednostima.

Prema slikama 33, 34, 35, 36 i 37 utvrđeno je da kinetika razgradnje modelne vodene otopine NTV-a prati kinetiku prvog reda. Vrijednosti koeficijenta determinacije linearne regresije (R_{LR}^2) kreću se između 0,9421 i 0,9973 dok se vrijednosti konstanti brzine razgradnje (k_{obs}) NTV-a kreću između 0,0023 i 0,0228 s⁻¹.

Višeregresijskom analizom (MRA) matrice dizajna i dobivenim vrijednostima za odgovarajući odziv (tablica 11) dobiven je polinom, odnosno jednačba drugog reda (model M4) za predviđanje ponašanja promatranog sustava (28):

$$Y' = \frac{1}{\sqrt{Y}} = 0,01046 + 0,0007 \cdot x_1 + 0,00071 \cdot x_1^2 + 0,00545 \cdot x_2 - 0,0026 \cdot x_2^2 + 0,00097 \cdot x_1 \cdot x_2 \quad (28)$$

S obzirom na dobiveni model, optimalni uvjeti razgradnje modelne vodene otopine NTV-a su pri pH = 8,5 i $c(X):c(S_2O_8^{2-}) = 1:200$ tj. $c(S_2O_8^{2-}) = 20$ mM, a konstanta brzine razgradnje tada je najveća i iznosi 0,0228 s⁻¹.

Provedena je analiza varijance RSM modela, a rezultati dobiveni analizom prikazani su u tablici 12.

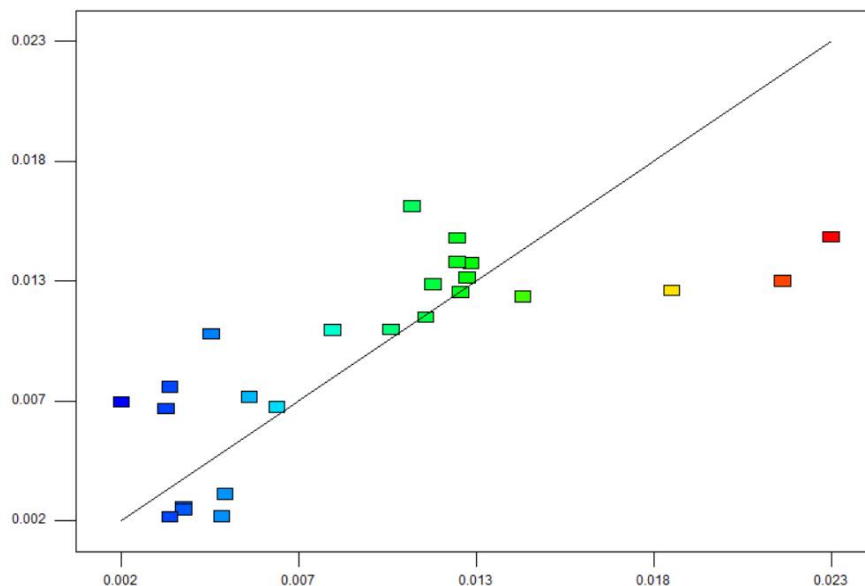
Tablica 12. Analiza varijance RSM modela M4 za predviđanje konstante razgradnje NTV-a istraživanim UV-C/ S₂O₈²⁻ procesom.

Faktori (kodirano)	Statistička analiza				
	SS	df	MSS	F	p
Model	0,000414	5	8,29·10 ⁻⁵	4,734722	0,0056
x_1	6,13·10 ⁻⁶	1	6,13·10 ⁻⁶	0,349939	0,5611
x_1^2	2,23·10 ⁻⁶	1	2,23·10 ⁻⁶	0,127529	0,7249
x_2	0,000372	1	0,000372	21,22797	0,0002
x_2^2	2,85·10 ⁻⁵	1	2,85·10 ⁻⁵	1,630811	0,2170
$x_1 \cdot x_2$	5,9·10 ⁻⁶	1	5,9·10 ⁻⁶	0,337364	0,5682
Ostatak	0,000333	19	1,75·10 ⁻⁵		
Ukupno	0,000747	24			

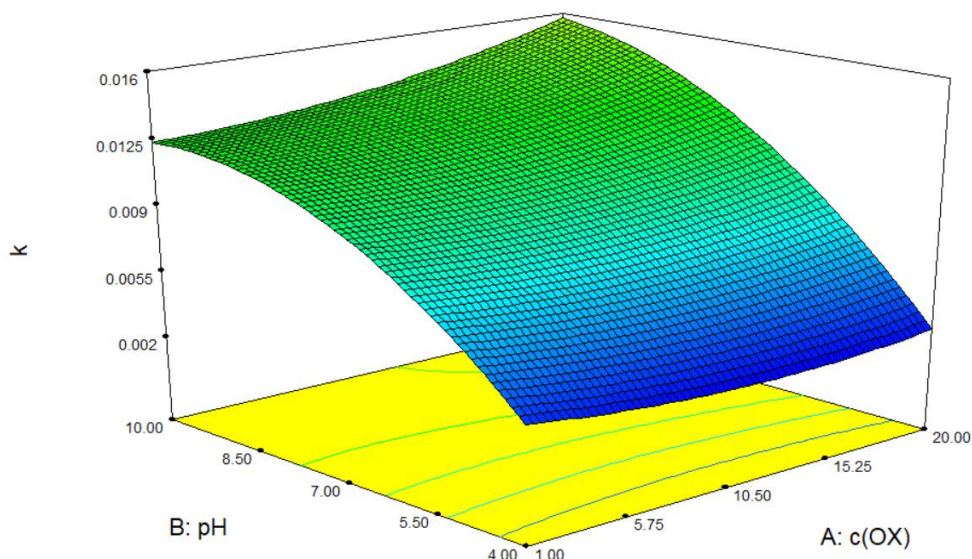
* $p < 0,0500$ se smatraju signifikantnima

Model M4 smatra se značajnim s obzirom na vrijednosti izračunate pomoću Fisher F-testa i vrlo niske p vrijednosti vjerojatnosti za model, $p = 0,0056$. Izračunat je regresijski koeficijent, $R^2 = 0,5548$ uz vrijednost korigiranog regresijskog koeficijenta, $R_{adj}^2 = 0,4376$.

Dobivene vrijednosti regresijskih koeficijenata su bliske pa se može zaključiti kako je razvijeni model sposoban opisati ponašanje sustava u ispitivanom rasponu promatranih parametara. S obzirom na navedeno, model M4 opisuje 55,48 % prikazanih podataka, dok 44,52 % može biti posljedica pogreške modela. Uspoređujući vrijednost predviđenog regresijskog koeficijenta, $R_{\text{pred}}^2 = 0,2469$, s korigiranim regresijskim koeficijentom $R_{\text{adj}}^2 = 0,4376$ može se zaključiti kako se modelom predviđene i eksperimentom dobivene vrijednosti djelomično poklapaju (slika 38). Eksperimentalno dobiveni podaci se većinom nalaze oko $y = x$ pravca što ukazuje da se model može smatrati prihvatljivim. Promatrajući nisku p vrijednost linearnog člana modela x_2 , može se zaključiti da pH vrijednost modelne otopine NTV-a utječe na fotooksidativni proces razgradnje NTV-a. Kombinirani utjecaj promatranih parametara može se vidjeti na trodimenzionalnom (3D) prikazu na slici 39.



Slika 38. Usporedba eksperimentalnih i modelom predviđenih vrijednosti odziva za UV-C/S₂O₈²⁻ proces.



Slika 39. 3D dijagram utjecaja pH vrijednosti i koncentracije $S_2O_8^{2-}$ na brzinu razgradnje modelnog onečišćivala NTV-a.

Prema rezultatima ANOVA-e značajnim parametrom smatra se samo pH vrijednost modelne otopine NTV-a, pri čemu se porastom pH, brzina razgradnje značajno povećava. Promjena koncentracije $S_2O_8^{2-}$ ne pokazuje znatan utjecaj na konstantu brzine razgradnje. Najveća brzina razgradnje NTV-a postiže se pri najvećoj koncentraciji $S_2O_8^{2-}$ i u bazičnim uvjetima kao posljedica kombiniranog mehanizma razgradnje djelovanjem $SO_4^{\cdot-}$ i HO^{\cdot} radikala. [42]

Usporedbom vrijednosti konstanti brzine razgradnje ATV-a i NTV-a dobivenih UV/ H_2O_2 i UV/ $S_2O_8^{2-}$ fotooksidativnim procesom, pri jednakim vrijednostima pH modelne otopine, može se uočiti kako su veće vrijednosti konstante brzine razgradnje postignute pri većim koncentracijama korištenih oksidansa. Ovakav se trend može pojasniti prema tome što iz 1 mol H_2O_2 ili $S_2O_8^{2-}$ nastanu 2 mol HO^{\cdot} , odnosno 2 mol $SO_4^{\cdot-}$ radikala. Prema tablicama 5., 7., 9. i 10. uočava se brža razgradnja ATV-a i NTV-a u UV/ $S_2O_8^{2-}$ procesu što može proizaći iz više razloga. Prvi razlog brže razgradnje može se objasniti većim kvantnim prinosom proizvodnje $SO_4^{\cdot-}$ radikala UV/ $S_2O_8^{2-}$ procesom u odnosu na prinos HO^{\cdot} prilikom UV/ H_2O_2 procesa, $\Phi(S_2O_8^{2-}) = 1,4 > \Phi(H_2O_2) = 1,0$ te većim molarnim apsorpcijskim koeficijentom $\epsilon(Na_2S_2O_8) = 20,00 M^{-1} cm^{-1} > \epsilon(H_2O_2) = 18,60 M^{-1} cm^{-1}$. Također, samočišćenje HO^{\cdot} od strane H_2O_2 u UV/ H_2O_2 procesu puno je veće u odnosu na samočišćenje $SO_4^{\cdot-}$ od strane $S_2O_8^{2-}$

tijekom UV/S₂O₈²⁻ procesa što se vidi prema višim vrijednostima konstanti brzine reakcije: k
(HO·/H₂O₂) = 2,7·10⁷ M⁻¹ s⁻¹ > k (SO₄·⁻ / S₂O₈²⁻) = 6,6·10⁷ M⁻¹ s⁻¹. [45]

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bio je provesti razgradnju antivirusa, ATV-a i NTV-a koristeći se fotooksidacijskim procesima, UV/H₂O₂ i UV/S₂O₈²⁻. Pratio se utjecaj procesnih parametara, pH modelne otopine onečišćivala i koncentracija oksidansa (H₂O₂ i S₂O₈²⁻) na učinkovitost procesa razgradnje. Utjecaj navedenih parametara uspješno je procijenjen uz pomoć punog faktorskog plana eksperimentalnog dizajna i prikazan metodom odzivnih površina (RSM). Kao rezultat dobiveni su modeli, polinomi drugoga reda, koji mogu opisati ponašanje promatranih sustava. Na temelju dobivenih modela, određeni su optimalni uvjeti za postizanje maksimalne konstante brzine razgradnje promatranih antivirusa. Prema dobivenim koeficijentima determinacije (R^2) i provedenoj analizi varijance (ANOVA) procijenjena je sposobnost razvijenog modela i njegovih članova za opisivanje značajnosti podataka, odnosno određena je točnost razvijenog modela.

S obzirom na dobivene rezultate, mogu se donijeti zaključci:

- Dobiveni modeli su u svim promatranim sustavima značajni i točni.
- Usporedbom konstanti brzine razgradnje antivirusa, ATV-a i NTV-a, razgradnja je u svim ispitanim slučajevima brža tijekom UV/S₂O₈²⁻ procesa te se također najveće brzine razgradnje postižu pri najvećim koncentracijama korištenih oksidansa.
- Proučavajući rezultate statističke analize za razgradnju ATV-a tijekom UV/H₂O₂ procesa, značajan utjecaj na razgradnju pokazuju i pH vrijednost modelne otopine i koncentracija H₂O₂. Najveća brzina razgradnje postignuta je pri najvećoj koncentraciji H₂O₂ (1mM) u neutralnim uvjetima medija (pH = 7) što se može pripisati reaktivnosti (de)protoniranog ATV-a.
- Rezultati statističke analize razgradnje ATV-a UV/S₂O₈²⁻ procesom ukazuju kako i pH modelne otopine i koncentracija S₂O₈²⁻, ali i oni zajedno utječu na razgradnju ATV-a. Maksimalna brzina razgradnje postiže se uz najveću koncentraciju S₂O₈²⁻ (1 mM) pri pH = 10 što se pripisuje stvaranju HO· radikala koji sudjeluju u razgradnji zajedno s SO₄^{·-} radikalima.
- Statističkom analizom, dobiveni su rezultati koji pokazuju kako promjena pH vrijednosti modelne otopine ima značajan utjecaj na razgradnju NTV-a u UV/H₂O₂ procesu. Konstanta brzine razgradnje postiže svoju maksimalnu vrijednost pri

najvećoj koncentraciji H_2O_2 (20 mM) u kiselom mediju ($\text{pH} = 4$) što se može pripisati većoj osjetljivosti protoniranog oblika NTV-a na napad $\text{HO}\cdot$ radikala.

- Razgradnja NTV-a prilikom UV/ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ procesa osjetljiva je na promjene pH vrijednosti modelne otopine. Najveća konstanta brzine razgradnje postiže se pri maksimalnoj koncentraciji $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ u lužnatim uvjetima, $\text{pH} = 10$. U lužnatom mediju generiraju se i $\text{HO}\cdot$ radikali koji razgrađuju NTV u kombinaciji s $\text{SO}_4^{\cdot-}$ radikalima.

Prema svim dobivenim rezultatima, sumiranjem se može zaključiti kako se napredni oksidacijski procesi (NOP) mogu koristiti za učinkovito uklanjanje farmaceutika iz vodenih medija uz optimalne procesne uvjete. Ovim radom dokazana je učinkovita razgradnja ATV-a i NTV-a provođenjem UV/ H_2O_2 i UV/ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ procesa.

6. POPIS KRATICA I SIMBOLA

AOP – napredni oksidacijski procesi, engl. *Advanced Oxidation Processes*

EP - nove onečišćujuće tvari, engl. *Emerging pollutants*

EU – Europska unija

WFD – Direktivna vodne politike, engl. *Water Framework Directive*

CAS broj – jedinstveni identifikacijski broj, engl. *Chemical Abstract Servis Register Number*

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija, engl. *World Health Organization*

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove, engl. *Food and Drug Administration*

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina

RNA – ribonukleinska kiselina

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

HIV – virus humane imunodeficijencije

LC – tekućinska kromatografija, engl. *Liquid Chromatography*

MS – masena spektrometrija, engl. *Mass Spectroscopy*

HPLC – tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti, engl. *High Perfomance Liquid Chromatography*

UHPLC – tekućinska kromatografija ultravisoke učinkovitosti, engl. *Ultra High Perfomance Liquid Chromatography*

ATV – atazanavir

AIDS – sindrom stečene imunodeficijencije

PI – inhibitor proteaze, engl. *Protease inhibitor*

NTV – nirmatrelovir

RTV – ritonavir

NOP – napredni oksidacijski procesi

HO· - hidroksilni radikal

SO₄·⁻ - sulfatni radikal

V – volt, mjerna jedinica potencijala

R – organska komponenta

ROO· - peroksilni radikal

O₂·⁻ - superoksidni radikal

CO₂ – ugljikov dioksid

H₂O₂ – vodikov peroksid

H₂O – voda

UV zračenje – ultraljubičasto zračenje

λ – oznaka za valnu duljinu, nm

kJ mol⁻¹ – mjerna jedinica za energiju

hν – količina apsorbirane energije

h – Planckova konstanta, Js

ν – frekvencija, Hz

S – fotosenzibilni spojevi

e⁻ - elektron

pK_a – konstanta disocijacije kiseline

pH – mjera kiselosti, odnosno lužnatosti vodenih otopina

r_R – ukupna brzina razgradnje organske tvari potaknuta UV/H₂O₂ procesom

r_{UV} – brzina razgradnje organske tvari UV zračenjem

r_{H₂O₂} – brzina razgradnje vodikovog peroksida

d_{cR} – promjena koncentracije organske tvari

d_t – promjena vremena

k_{obs} – konstanta brzine razgradnje

E° - standardni oksidacijski potencijal

DOE – Eksperimentalni dizajn, engl. *Design of Experiment*

k – broj nezavisnih varijabli ili faktora

L – nivo (razina), broj različitih vrijednosti koje faktor može poprimiti, engl. *Level*

N – veličina uzorka

RSM – Metoda odzivnih površina, engl. *Response Surface Methodology*

y – odabrani odziv procesa, zavisna varijabla

$x_1 \dots x_k$ – kodirane nezavisne varijable

i i j – indeks podataka u uzorku

d – stupanj polinoma

β_0 - nulti član

β_i - koeficijent linearnog utjecaja (prvog reda)

β_{ii} - koeficijent kvadratnog utjecaja (drugog reda)

β_{ij} - koeficijent interakcije

ε' - nasumična pogreška koja dozvoljava odstupanja između predviđene i mjerene vrijednosti

$p.a.$ – stupanj čistoće kemikalije, engl. *Pro-analysis*

ACN – acetonitril

MeOH – metanol

t – vrijeme analize, retencijsko vrijeme, s

p – tlak sustava, Pa

T – temperatura kolone, K

V – volumen injektiranja uzorka, m³

c_0 - početna koncentracija modelnog onečišćivala, mM

I_0 – inducirani protok fotona UV zračenja, mjerna jedinica

$c(X)$ – koncentracija modelnog onečišćivala, mM

$c(OX)$ – koncentracija oksidansa, mM

x_1 - varijabla 1, početna pH vrijednost

x_2 - varijabla 2, koncentracija oksidansa

ANOVA – Analiza varijance

R_{LR}^2 - koeficijent determinacije linearne regresije

R^2 - regresijski koeficijent

R_{adj}^2 - korigirani regresijski koeficijent

R_{pred}^2 – predviđeni regresijski koeficijent

SS - suma kvadrata odstupanja svih mjerenja od njihove aritmetičke sredine, engl. *Sum Of Squares*

df- stupnjevi slobode ,engl. *Degree Of Freedom*

MSS- aritmetička sredina sume kvadrata odstupanja, engl. *Mean Of Sum Squares*

F omjer - rezultat analize varijance koji potvrđuje ili ne postojanje razlika između istraživanih uzoraka

p - stupanj značajnosti

Φ – kvantni prinos radikalske proizvodnje

ϵ – molarni apsorpcijski koeficijent

7. LITERATURA

1. <https://www.britannica.com/science/water> (pristup svibanj 2024.)
2. A. K. Dwivedi, Researches in Water Pollution: A review, International Research Journal of Natural and Applied Sciences, **4** (1) (2017) 118-142
3. F. W. Owa, Water pollution: sources, effects, control and management, International Letters of Natural Sciences, **8** (2014) 1-6
4. F. Kordbacheh, G. Heidari, Water Pollutants and Approaches for Their Removal, Materials Chemistry Horizons, **2** (2) (2023) 139-153
5. C. Tortajada, A. K. Biswas, Water management in post-2020 world, International Journal of Water Resources Development, **36** (6) (2020) 874-878
6. R. S. Gambhir, V. Kapoor, A. Nirrola, R. Sohi, V. Bansal, Water Pollution: Impact of Pollutants and New Promising Techniques in Purification Process, Journal of Human Ecology, **37** (2) (2012) 103-109
7. <https://nobelgrupa.hr/o-vodi/strucni-tekstovi-o-vodi/ponasanje-i-sudbina-organskih-zagadivala-u-vodenom-okolisu/> (pristup svibanj 2024.)
8. V. Geissen, H. Mol, E. Klumpp, G. Umlauf, M. Nadal, M. van der Ploeg, S. E.A.T.M. van de Zee, C. J. Ritsema, Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management, International Soil and Water Conservation Research **3** (2015) 57-65
9. P. Kairigo, E. Ngumba, L.R. Sundberg, A. Gachanja, T. Tuhkanen, Contamination of Surface Water and River Sediments by Antibiotic and Antiretroviral Drug Cocktails in Low and Middle-Income Countries: Occurrence, Risk and Mitigation Strategies, Water **12** (5) (2020) 1376-1386
10. M. R. Letsoalo, T. Sithole, S. Mufamadi, Z. Mazhandu, M. Sillanpaa, A. Kaushik, T. Mashifana, Efficient detection and treatment of pharmaceutical contaminants to produce clean water for better health and environment, Journal of Cleaner Production **387** (2023) 135798
11. V. Halleux, Pollutants in EU waters, Update of chemical substances listed for control, European Parliamentary Research Service, (2023) PE 749.772
12. <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32013L0039&from=EN> (pristup svibanj 2024.)

13. K. Kuroda, C. Li, K. Dhangar, M. Kumar, Predicted occurrence, ecotoxicological risk and environmentally acquired resistance of antiviral drugs associated with COVID-19 in environmental waters, *Science of the Total Environment*, **776** (2021) 145740
14. M. Castaneda-Juarez, I. Linares-Hernandez, V. Martinez-Miranda, E.A. Teutli-Sequeira, L.A. Castillo-Suarez, A.G. Sierra-Sanchez, SARS-CoV-2 pharmaceutical drugs: a critical review on the environmental impacts, chemical characteristics, and behavior of advanced oxidation processes in water, *Environmental Science and Pollution Research* **29** (2022) 67604-67640
15. E. Paintsil, Y.C. Cheng, *Antiviral Agents*, *Encyclopedia of Microbiology*, (2009) 223-257
16. J. Swati, V. Raj K., P. Prabhat, V. Sangeeta, A review on fate of antiviral drug sin environment and detection techniques, *International Journal of Environmental Sciences*, **1** (7) (2011) 1526-1541
17. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atazanavir> (pristup svibanj 2024.)
18. S. J. van Beek, Treatment of Antiviral Drug sin Wastewater Using Advanced Oxidation Processes – Ozonation of Oseltamivir Phospate, Master Thesis, Department of Civil and Environmental Engineering, University of Alberta, 2021.
19. C. Le Tiec, A. Barrail, C. Goujard, A. M. Taburet, Clinical Pharmacokinetics and Summary of Efficacy and Tolerability of Atazanavir, *Clinical pharmacokinetics*, **44** (10) (2005) 1035-1050
20. R. P. Nippes, P. Derksen Macruz, G. Nascimento da Silva, M. H. N. Olsen Scaliante, A critical review on environmental presence of pharmaceutical drugs tested for the covid-19 treatment, *Process Safety and Environmental Protection* **152** (2021) 568-582
21. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nirmatrelvir#section=Related-Compounds-with-Annotation> (pristup svibanj 2024.)
22. R. P. Joyce, V. W. Hu, J. Wang, The history, mechanism, and perspectives of nirmatrelvir (PF-07321332): an orally bioavailable main protease inhibitor use din combination with ritonavir to reduce COVID-19-related hospitalizations, *Medicinal Chemistry Research* **31** (2022) 1637-1646
23. Y. N. Lamb, Nirmatrelvir Plus Ritonavir: First Approval, *Drugs*, **82** (2022) 585-591
24. A. Sonune, R. Ghate, Developments in wastewater treatment methods, *Desalination*, **167** (2004) 55-63

25. D. Kanakaraju, B. D. Glass, M. Oelgemöller, Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review, *Journal of Environmental Management*, **219** (2018) 189-207
26. Y. Deng, R. Zhao, Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment, *Curr Pollution Rep* **1** (2015) 167-176
27. A. Sharma, J. Ahmad, S. J. S. Flora, Application of advanced oxidation processes and toxicity assessment of transformation products, *Environmental Research*, **167** (2018) 223-233
28. S. A. Fast, V. Gnaneswar Gude, D. D. Truax, J. Martin, B. S. Magbanua, A Critical Evaluation of Advanced Oxidation Processes for Emerging Contaminants Removal, *Environmental Processes*, **4** (2017) 283-302
29. M. I. Litter, Introduction to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment, *Environmental Photochemistry Part II*, **2** (2005) 325-366
30. A. S. Stasinakis, Use of Selected Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Wastewater Treatment – a Mini Review, *Global NEST Journal*, **10** (3) (2008) 376-385
31. D. B. Miklos, C. Remy, M. Jekel, K. G. Linden, J. E. Drewes, U. Hübner, Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review, *Water Research*, **139** (2018) 118-131
32. M. Ukrainczyk, Planiranje pokusa u industriji, *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, **5** (3-4) (2010) 96-105
33. M. Cavazzuti, *Optimization Methods: From Theory to Design*, Springer, Modena, 2013.
34. S. Pfaff, B. Salopek, Primjena planiranja eksperimenata u oplemenjivanju mineralnih sirovina, *Rudarsko-geološko-naftni zbornik*, **16** (2004) 97-106
35. I. Matić, Uporaba planova pokusa u procesu poboljšanja kvalitete, *Diplomski rad*, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2021.
36. A. Dean, D. Voss, D. Draguljić, Response Surface Methodology, *Design and Analysis of Experiments*, (2017) 565-614
37. A. I. Khuri, S. Mukhopadhyay, Response surface methodology, *WIREs Computational Statistics*, **2** (2) (2010) 128-149

38. R. H. Myers, D. C. Montgomery, C. M. Anderson-Cook, Response surface methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments, Wiley, treće izdanje, New Jersey, 2009.
39. J. M. R. Belanger, J. R. J. Pare, M. Sigouin, High Performance Liquid Chromatography (HPLC): Principles and Applications, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, **18** (1997) 37-59
40. <https://go.drugbank.com/drugs/DB01072> (pristup lipanj 2024.)
41. J. C. Mierzwa, R. Rodrigues, A. C. S. C. Teixeira, UV-Hydrogen Peroxide Processes, Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment, (2018) 13-48
42. J. Lee, U. von Gunten, J. H. Kim, Persulfate-Based Advanced Oxidation: Critical Assessment of Opportunities and Roadblocks, Environmental Science & Technology, **54** (2020) 3064-3081
43. G. P. Anipsitakis, D. D. Dionysiou, Radical Generation by the Interaction of Transition Metals with Common Oxidants, Environmental Science & Technology, **38** (2004) 3705-3712
44. <https://go.drugbank.com/drugs/DB16691> (pristup lipanj 2024.)
45. M. Kwon, S. Kim, Y. Yoon, Y. Jung, T. M. Hwang, J. Lee, J. W. Kang, Comparative evaluation of ibuprofen removal by UV/H₂O₂ and UV/S₂O₈²⁻ processes for wastewater treatment, Chemical Engineering Journal, **269** (2015) 379-390

ŽIVOTOPIS

Lucija Švegović [REDACTED] Završila je osnovnu školu Gola u Goli. Maturirala je 2019. u Srednjoj školi Koprivnica, smjer farmaceutski tehničar te tako stekla zvanje farmaceutske tehničarke. Iste godine upisuje preddiplomski studij Kemijskog inženjerstva na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradila je tijekom 3. godine studija u Carlsbergu Croatia d.o.o. u Koprivnici te tako stekla mnoga znanja u području proizvodnje i analize piva i cidera. Preddiplomski studij završava 5. rujna 2022. godine i tako stječe titulu Sveučilišne prvostupnice inženjerke kemijskog inženjerstva. Diplomski studij, Kemijsko inženjerstvo, modul Kemijske tehnologije i proizvodi, upisuje iste te godine na istom fakultetu.