

# Kromatografske metode za praćenje fotokatalitičke razgradnje hidroksiklorokina

---

**Kocijan, Martina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:040705>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Martina Kocijan

KROMATOGRAFSKE METODE ZA PRAĆENJE  
FOTOKATALITIČKE RAZGRADNJE  
HIDROSIKLOROKINA

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Sandra Babić

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Sandra Babić

izv. prof. dr. sc. Irena Škorić

prof. dr. sc. Davor Ljubas

Zagreb, rujan 2018.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu uz financijsku potporu Hrvatske zaklade za znanost projektom IP-2014-09-2353 „Sudbina farmaceutika u okolišu i tijekom naprednih postupaka obrade vode“



*Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Sandri Babić na predloženoj temi, savjetima, pomoći i velikom strpljenju koje mi je pružila tijekom izrade i pisanja ovog rada.*

*Zahvaljujem se asistentici dr. sc. Mirti Čizmić na uloženom trudu, volji i vremenu kojim je uvelike doprinijela kvaliteti ovog rada.*

*Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za analitičku kemiju, posebno tehničarkama Slavici Kos i Tanji Ivančić.*

*Dio eksperimentalnog dijela odrađen je na Zavodu za energetska postrojenja, energetiku i ekologiju u Laboratoriju za vodu, gorivo i mazivo na Fakultetu strojarstva i brodogradnje.*

*Zahvaljujem se prof. dr. sc. Davoru Ljubasu, voditelju Katedre za inženjerstvo vode i okoliša, na uloženom trudu i vremenu.*

*Zahvaljujem se tehničkom suradniku Marku Skozritu na iskazanoj pomoći pri eksperimentalnom dijelu rada.*

*Zahvaljujem se svojim prijateljima, kumi Lidiji, a posebno Renatu bez čije podrške i motivacije sve ovo ne bi ostvarila.*

*Hvala mojoj braći i roditeljima na podršci i povjerenju koje su mi ukazali tijekom studija.*

# SAŽETAK

U ovom radu razvijene su metode HPLC-DAD i HPLC-FLD za praćenje farmaceutika hidroksiklorokina u uzorcima vode. U okviru validacije razvijenih metoda ispitana je linearnost, osjetljivost i točnost, te su određene granice detekcije i kvantifikacije i radno područje metoda. Usporedbom izvedbenih značajki obje metode zaključeno je da je metoda HPLC-FLD prihvatljivija za analizu hidroksiklorokina jer omogućava određivanje nižih koncentracija ispitivanog farmaceutika. Obje razvijene metode primijenjene su za praćenje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje hidroksiklorokina.

U drugom dijelu rada ispitana je fotolitička i fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina uz primjenu  $\text{TiO}_2$  kao fotokatalizatora u obliku tankog filma i suspenzije te različitih izvora zračenja: LED svjetiljka 365 nm i 405 nm, svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom i halogena svjetiljka. Rezultati fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje hidroksiklorokina pokazali su da nije podložan fotolitičkoj razgradnji, a fotokatalitička razgradnja brža je uz fotokatalizator prisutan u obliku suspenzije. Kinetika fotokatalitičke razgradnje slijedi kinetiku prvog reda.

Validiranom metodom HPLC-FLD uočeno je nastajanje četiri razgradna produkta tijekom fotokatalitičke razgradnje LED svjetiljkom 365 nm, dok se tijekom fotokatalitičke razgradnje uz osvjetljavanje LED svjetiljkom 405 nm javljaju tri razgradna produkta. Validiranom metodom HPLC-DAD uočeno je nastajanje dva razgradna produkta tijekom fotokatalitičke razgradnje uz osvjetljavanje LED svjetiljkom 405 nm, dok validiranom metodom uz osvjetljavanje LED svjetiljkom 365 nm nisu detektirani razgradni produkti.

**Ključne riječi:** farmaceutici, hidroksiklorokin, tekućinska kromatografija, fotoliza, fotokataliza

# ABSTRACT

In this paper, HPLC-DAD and HPLC-FLD methods have been developed to monitor the hydroxychloroquine pharmaceuticals in water samples. Within the validation of the methods developed, linearity, sensitivity and accuracy were examined, and the limits of detection and quantification and the working range of the method were determined. By comparing the performance characteristics of both methods, it was concluded that the HPLC-FLD method is more acceptable for the analysis of hydroxychloroquine because it allows the determination of lower concentrations of the investigated drug. Both methods were used to monitor photolytic and photocatalytic degradation of hydroxychloroquines.

In the second part, photolytic and photocatalytic degradation of hydroxychloroquine was investigated using TiO<sub>2</sub> as photocatalysts in the form of thin film and suspensions and various sources of radiation: LED lamps at wavelengths of 365 and 405 nm, solar - like lamp and halogen lamp. The results of photolytic and photocatalytic degradation of hydroxychloroquines have shown that they are not subject to photolytic degradation, and photocatalytic degradation is faster with the photocatalyst present in the form of suspension. Photocatalytic degradation kinetics follows the kinetics of the first order.

Using the validated HPLC-FLD method, four degradation products were detected during photocatalytic degradation by a 365 nm LED lamp, whilst during photocatalytic degradation with 405 nm LED lamp, there were three degradation products. Using the validated HPLC-DAD method, two degradation products were detected during photocatalytic degradation by a 405 nm LED lamp, whilst during photocatalytic degradation with 365 nm LED lamp did not detect any degradant products.

**Keywords:** pharmaceuticals, hydroxychloroquine, liquid chromatography, photolysis, photocatalysis

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	8
2. TEORIJSKI DIO .....	10
2.1. Farmaceutici.....	11
2.1.1. Hidroksiklorokin.....	12
2.2. Farmaceutici u okolišu .....	13
2.3. Kromatografija .....	15
2.3.1. Parametri kromatografskog razdvajanja.....	16
2.3.2. Tekućinska kromatografija.....	17
2.3.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti - HPLC.....	18
2.3.4. Detektori .....	19
2.4. Validacija analitičke metode.....	21
2.5. Napredni oksidacijski procesi.....	23
2.6. Fotokatalitička razgradnja .....	24
2.6.1. Fotokatalizatori .....	26
2.6.1.1. Titanijev dioksid .....	28
2.6.1.2. Fotokatalitička aktivnost TiO <sub>2</sub> .....	30
2.7. Čimbenici koji utječu na učinkovitost razgradnje .....	31
2.8. Kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje.....	32
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	34
3.1. Materijali.....	35
3.1.1. Hidroksiklorokin .....	35
3.1.2. Kemikalije.....	35
3.2. Instrumenti.....	36
3.2.1. Analitička vaga.....	36
3.2.2. pH-metar .....	37
3.2.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti .....	38
3.2.4. Fotokemijski reaktor .....	40
3.2.5. Izvor zračenja.....	41
3.2.6. Spektrofotometar .....	42
3.3. Metode rada .....	43
3.3.1. Priprema standardnih otopina hidroksiklorokina .....	43
3.3.2. Priprema TiO <sub>2</sub> suspenzije .....	45
3.3.3. Osvjetljavanje otopine hidroksiklorokina .....	45
3.3.4. Određivanje hidroksiklorokina tekućinskom .....	46

kromatografijom .....	46
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Optimizacija kromatografskih metoda .....</b>	<b>48</b>
<b>4.2. Validacija kromatografskih metoda .....</b>	<b>50</b>
4.2.1. Linearost .....	50
4.2.2. Osjetljivost .....	52
4.1.3. Preciznost .....	52
4.1.4. Istinost .....	54
4.1.5. Granica detekcije i granica kvantifikacije .....	54
4.1.6. Radno područje .....	55
<b>4.4. Fotolitička razgradnja hidroksiklorokina .....</b>	<b>55</b>
<b>4.5. Fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina .....</b>	<b>58</b>
4.5.1. Fotokatalitička razgradnja s TiO <sub>2</sub> tankim filmom .....	58
4.5.2. Fotokatalitička razgradnja s TiO <sub>2</sub> u obliku suspenzije .....	61
<b>4.6. Kinetika razgradnje hidroksiklorokina .....</b>	<b>63</b>
4.6.1. Kinetika fotokatalitičke razgradnje s TiO <sub>2</sub> tankim filmom .....	63
4.6.3. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje hidroksiklorokina .....	68
<b>4.7. Produkti fotokatalitičke razgradnje .....</b>	<b>71</b>
<b>5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>78</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>80</b>
<b>7. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>84</b>
<b>8. PRILOG .....</b>	<b>86</b>



## **1. UVOD**

Farmaceutici su kompleksne organske molekule. Svakodnevno se koriste za liječenje ili spriječavanje bolesti u medicini ili veterini. S obzirom na povećanu potrošnju, sve veće količine farmaceutika ispuštaju se u okoliš. Jednom kada se nađu u okolišu, farmaceutici podliježu različitim biotičkim i abiotičkim procesima nakon kojih rezultiraju smanjenjem njihove koncentracije u okolišu, te pri tome nastaju novi spojevi. Novonastali spojevi imaju drugačije kemijske strukture i fizikalno - kemijska svojstva te mogu biti toksičniji i mogu imati negativne posljedice za okoliš i žive organizme u njemu. Do danas mnogi su farmaceutici odobreni za upotrebu, ali prilikom odobrenja za većinu farmaceutika nije ispitan utjecaj na okoliš. Smatra se da je najznačajniji put unošenja farmaceutika u okoliš putem postrojenja za obradu otpadnih voda. Postojeći procesi obrade otpadnih voda nisu u potpunosti djelotvorni u uklanjanju farmaceutika te je potrebno razviti nove, učinkovitije postupke. Napredni oksidacijski procesi predlažu se kao alternativni postupci za uklanjanje farmaceutika iz otpadnih voda prije ispuštanja u okolišu. Temelje se na stvaranju jakog oksidansa, poput hidrosilnog radikala, koji učinkovito razgrađuje organske spojeve. Heterogena fotokatalitička oksidacija jedna je od naprednih oksidacijskih procesa koja se pokazala učinkovitom u razgradnji farmaceutika. Titanijev dioksid često se upotrebljava kao katalizator za razgradnju organskih tvari zbog dobrih svojstava poput visoke stabilnosti tijekom izlaganja UV zračenju, visoke kemijske postojanosti i netoksičnosti. Uz to, komercijalno je dostupan i nije skup.

Kako bi se mogla pratiti učinkovitost postupaka obrade otpadnih voda i uklanjanja farmaceutika, potrebne su pouzdane i osjetljive analitičke metode. Za određivanje farmaceutika u različitim uzorcima iz okoliša danas se koriste uglavnom kromatografske tehnike, uglavnom tekućinska kromatografija, vezane s različitim detektorima.

Ciljevi ovog rada bili su:

1. Razviti kromatografsku metodu koja će omogućiti kvantitativno određivanje farmaceutika hidroksiklorokina. Razvijenu metodu primjeniti za praćenje njegove fotokatalitičke razgradnje te nastajanja fotorazgradnih produkata.
2. Ispitati učinkovitost fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje farmaceutika hidroksiklorokina.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Farmaceutici

Farmaceutici su složene organske molekule različitih fizikalno - kemijskih i bioloških svojstava odgovornih za funkciju lijeka. Koriste se za liječenje i sprečavanje bolesti kod ljudi, ali i životinja. Farmaceutici su raznolika skupina spojeva. Razlikuju se prema molekularnoj masi, kemijskoj strukturi, djelovanju i funkcionalnim skupinama. Dizajnirani su da budu biološki aktivni i djeluju u malim koncentracijama. Prema djelovanju mogu se podijeliti na: analgetike, protuupalne lijekove, antihistaminike, diuretike, antidepresive, antibiotike, antiepileptike, regulatore masnoća u krvi, regulatore tlaka, hormone, steroide, antitumorske lijekove te  $\beta$ -blokatore. Veterinarski farmaceutici se koriste za zaštitu životinja od parazita, te sprječavaju bakterijske infekcije. Antibiotici su tvari s biološkom aktivnošću protiv živih organizama, odnosno spojevi s antibakterijskim, antiparazitskim i antifungicidnim djelovanjem [1]. Nalaze svoju primjenu u ljudskoj i veterinarskoj medicini. Koriste se kao sredstvo za liječenje i prevenciju bakterijskih infekcija te kao dodatak hrani za rast životinja [2]. Primjena farmaceutika kontinuirano raste s porastom broja stanovništva na Zemlji. Posljedica toga je sve veća proizvodnja farmaceutika zbog sve veće potražnje tržišta. Nakon unošenja farmaceutika u organizam slijedi njegova eliminacija, odnosno proces uklanjanja farmaceutika iz organizma koji se sastoji od dva procesa: metabolizma i izlučivanja (ekskrecije). Metabolizam podrazumijeva enzimsku pretvorbu jednog kemijskog oblika u drugi, dok izlučivanje podrazumijeva eliminaciju kemijski nepromijenjenog farmaceutika ili metabolita iz organizma. Farmaceutici i njihovi metaboliti mogu napustiti organizam putem bubrega, hepatobilijarnog sustava te pluća (važno za hlapljive anestetike) [3].

Metabolizam farmaceutika podrazumijeva dvije vrste biokemijskih reakcija. Te reakcije odvijaju se jedna za drugom, a podijeljene su u reakcije prve i reakcije druge faze. Reakcije prve faze su kataboličke reakcije poput hidrolize, oksidacije, redukcije, hidroksilacije ili ciklizacije. Produkti navedenih reakcija su često kemijski reaktivniji, a ponekad i toksičniji te kancerogeniji od početnog farmaceutika. Reakcije druge faze su anaboličke (sintetičke) reakcije koje uključuju konjugaciju koja dovodi do stvaranja neaktivnog produkta. U reakcije druge faze ubrajaju se reakcije metiliranja, aciliranja, sulfo-konjugacije, itd. Reakcije druge faze dozvoljavaju uvođenje reaktivne grupe (hidroksilne grupe) u molekulu farmaceutika. Funkcionalna grupa u reakciji konjugacije zamijeni se glukuronskom, sulfatnom ili acetilnom grupom čime metabolit postaje dovoljno hidrofilan i topljiv u vodi kako bi se mogao izlučiti

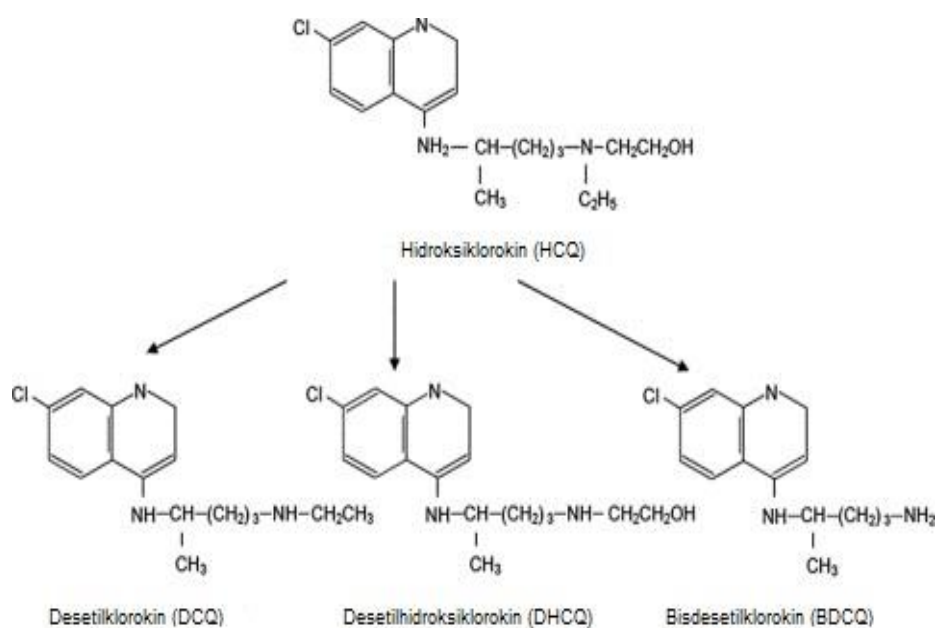
iz organizma putem urina. Spojevi nastali strukturnom promjenom polaznog spoja u organizmu čovjeka ili životinja nazivaju se metaboliti [3].

Širok je raspon stupnja metabolizma ovih spojeva, neki farmaceutici metaboliziraju oko 90%, dok neki tek 10% ili još i manje. Čak 70% konzumiranih antibiotika izlučuje se nepromijenjeno [4].

### 2.1.1. Hidroksiklorokin

Hidroksiklorokin (HCQ) je derivat klorokina. Klorokin ima antimalarijsko i protuupalno djelovanje. Nakon otkrića klorokina, desetljećima se nije proučavao jer se smatrao previše toksičnim za ljudsku upotrebu. Za vrijeme Drugog Svjetskog rata studije su pokazale da klorokin ima značajniju vrijednost kao antimalarijski lijek te se od 1947. godine uvodi u kliničku praksu. Hidroksiklorokin kao derivat klorokina na farmaceutskom tržištu pojavljuje se pod nazivom Plaquenil. Danas je glavni lijek za reumatoidni artritis i kao antireumatik djeluje poput blagog imunosupresiva. Također, hidroksiklorokin je kemoterapijsko sredstvo protiv eritrocitnih malaričnih parazita. Za učinkovitost liječenja hidroksiklorokinom potrebni su mjeseci liječenja. Dulje liječenje hidroksiklorokinom dovodi do neželjenih nuspojava poput mučnine, osipa, pojave krvi u mokraći ili oštećenja fundusa oka [5].

HCQ metabolizira u jetri pri čemu mogu nastati tri aktivna metabolita: desetilklorokin (DCQ), desetilhidroksiklorokin (DHCQ) i bisdesetilklorokin (BDCQ). Metaboliti hidroksiklorokina prikazani su na slici 1.



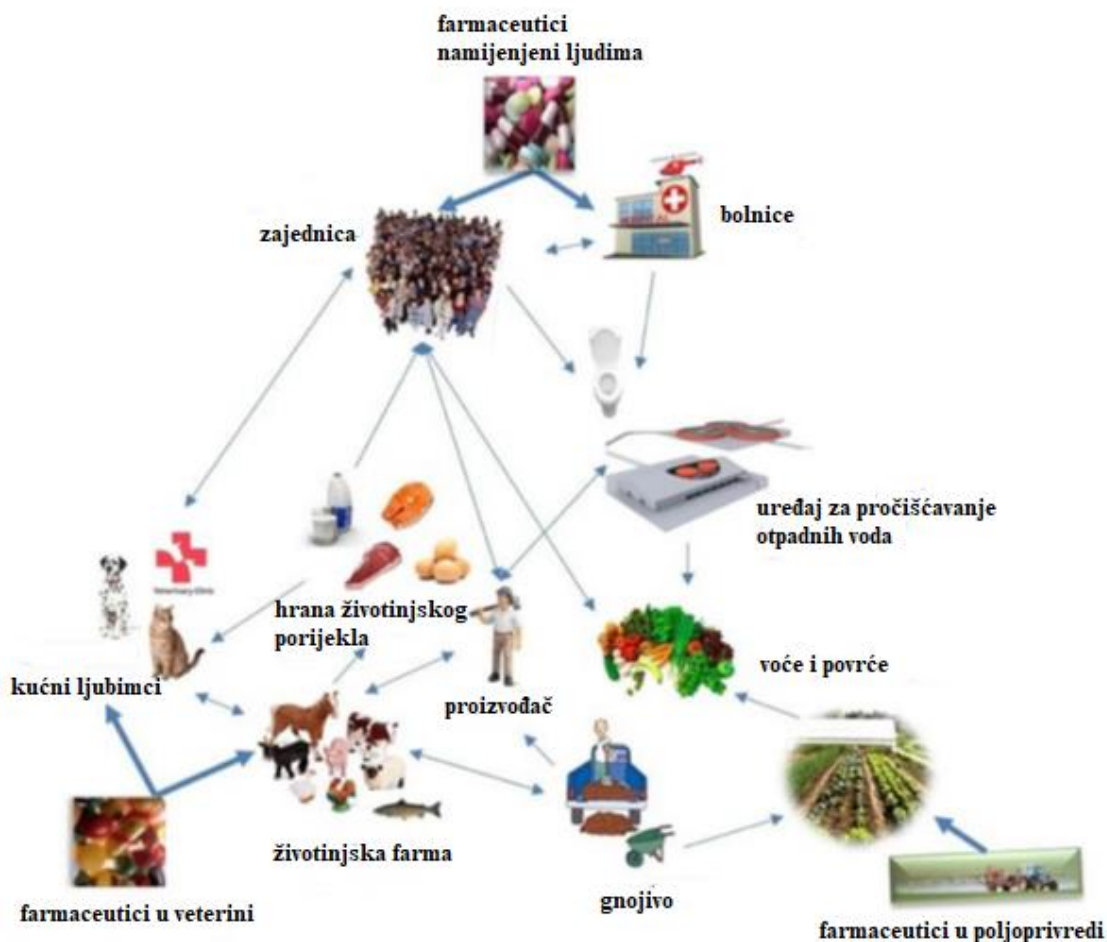
Slika 1. Metabolizam hidroksiklorokina [6]

## 2.2. Farmaceutici u okolišu

Mikrozagađivala su organski spojevi prisutni u okolišu u niskim koncentracijama i potječu od kemikalija koje su sastavni dio našeg svakodnevnog života (farmaceutici, biocidi, pesticidi, proizvodi za osobnu njegu, industrijske kemikalije, itd.). Od njih se najviše zabrinjavaju farmaceutici. Masovna upotreba farmaceutika započinje oko 1980. godine i od tada, svake se godine povećava količina farmaceutika koji se unose u okoliš. U Europskoj uniji godišnje se troši oko 13 600 tona farmaceutika, što čini oko 65% ljudske potrošnje, te njihova potrošnja i dalje raste. U Europi, više od 4 000 različitih farmaceutika svakodnevno dospijeva u okoliš. Ove brojke pokazuju da je vrlo važno pravilno zbrinjavati farmaceutike kako bi se izbjegle negativne posljedice [2].

Medicina i veterina nezamislive su bez korištenja velikog broja farmaceutika. Svake godine povećava se upotreba farmaceutika za postavljanje dijagnoza, liječenje i prevenciju bolesti kod ljudi i životinja. Iako industrijsko - tehnološki razvitak doprinosi poboljšanju kvalitete ljudskog života, s druge strane javljaju se ozbiljne posljedice za okoliš i ljude. Farmaceutici su sveprisutni u okolišu, kontinuirano se unose putem ljudskih ili životinjskih izlučevina, odlaganjem neiskorištenih proizvoda te putem otpadnih voda farmaceutske industrije [7].

Nakon unošenja u organizam čovjeka ili životinje farmaceutici prolaze kroz niz biokemijskih reakcija, metaboliziraju se i izlučuju kao početni spoj ili smjesa. Osim u početnom obliku, farmaceutici se unose u okoliš i u obliku metabolita. Na slici 2 prikazani su putevi unošenja farmaceutika u okoliš. Životinjske izlučevine su veliki izvor farmaceutika u okolišu jer većina farmaceutika koji se koriste u veterinarskoj medicini završava u gnojivu za potrebe poljoprivrede. Prilikom raspršivanja i nanošenja gnojiva na poljoprivredne površine farmaceutici prisutni u gnojivu zbog svoje dobre topljivosti predstavljaju prijetnju podzemnim, površinskim te pitkim vodama. Jedan od načina na koji farmaceutici dospijevaju u okoliš je i nepropisno odlaganje neupotrijebljenih farmaceutika ili farmaceutika kojima je istekao rok trajanja. Problem se također javlja pri ispuštanju komunalnih otpadnih voda, a u manjoj mjeri i kod industrijskih otpadnih voda. S obzirom da postojeća postrojenja za obradu otpadnih voda nisu učinkovita u uklanjanju farmaceutika te su stoga potencijalni izvori njihova ispuštanja u okoliš [8].



**Slika 2.** Glavni putevi ulaska humanih i veterinarskih farmaceutika u okoliš [9]

Neprikladnim odlaganjem antibiotika, kao i njihovom prekomjernom upotrebom razvija se rezistentnost na antibiotike, što može biti vrlo opasno za ljudsko zdravlje. Procjenjuje se da se čak oko 70% antibiotika izravno unosi u vodu [4].

Postoje kratkoročni i dugoročni utjecaji farmaceutika na okoliš koji se najčešće proučavaju na organizmima kao što su alge, rakovi i ribe. Dugoročni utjecaji su značajniji s obzirom da kratkoročni nemaju utjecaj na potomke. Farmaceutici imaju loš utjecaj na rast i plodnost organizama. Dokazano je da 10 - 15% farmaceutika ima dugoročnu toksičnost za određene biološke vrste, a podaci su dostupni za manje od 15% farmaceutika od ukupnog broja farmaceutika koji dopijevaju u okoliš. Zbog svojih fizikalno - kemijskih svojstava kao što je npr. hidrofilnost, farmaceutici i njihovi metaboliti imaju sposobnost prolaska kroz sve prirodne filtre i postrojenja za obradu otpadnih voda te mogu dospjeti u vode u okolišu. Istraživanja pokazuju da se metodama pročišćavanja koje se danas koriste, uklanja samo oko 50% prisutnih farmaceutika. Uz to, navedene metode u obradi voda koje sadrže farmaceutike i

njihove metabolite energetski su iscrpne, pa se sve više proučava razgradnja farmaceutika pod utjecajem Sunčevog zračenja [10].

Konvencionalni postupci obrade otpadnih voda pokazali su se neuspješnim prilikom potpunog uklanjanja farmaceutika te oni mogu doći u prirodne tokove i negativno utjecati na vodeni svijet, a time i na ljude i životinje koje koriste zagađenu vodu.

Cilj istraživanja usmjeren je na razvoj naprednih postupaka obrade otpadnih voda koje sadrže farmaceutike.

## 2.3. Kromatografija

Kromatografija je najučinkovitija separacijska tehnika. Kromatografija je fizikalno - kemijska metoda separacije u kojoj se sastojci ispitivane tvari razdjeljuju između dviju faza, od kojih je jedna nepokretna, dok se druga kreće u određenom smjeru (pokretna faza). Ispitivana tvar nalazi se u dinamičkoj ravnoteži između tih dviju faza tijekom kromatografskog procesa. Zbog narušavanja ravnotežnog stanja ispitivana tvar putuje s pokretnom fazom, zadržavajući se s vremena na vrijeme u nepokretnoj fazi. Nepokretna faza mora se odabrati tako da zadržavanje molekula u njoj bude selektivno, tj. da različiti sastojci smjese budu uz nju različito dugo vezani, što uzrokuje razdvajanje smjese. Informacija o uspješnosti separacije sadržana je u kromatogramu, tj. u zapisu koncentracijskog ili masenog profila sastojaka uzorka nakon završenog procesa razdvajanja. Na temelju broja opaženih koncentracijskih profila može se zaključiti o složenosti ispitivanog uzorka. Položaj kromatografske krivulje na kromatogramu pomaže u dokazivanju kvalitativnog sastava uzorka, a na temelju površine kromatografske krivulje, odnosno njezine visine, može se dobiti kvantitativna procjena [11].

S obzirom na prirodu ravnoteže između pokretne i nepokretne faze, kromatografske se tehnike mogu podijeliti na [11]:

- ✓ razdjelnu kromatografiju - ravnoteža se uspostavlja između dviju kapljevina, nepokretna faza je kapljevina vezana na inertni čvrsti nosač,
- ✓ adsorpcijsku kromatografiju - ravnoteža se uspostavlja između kapljevine ili plina u pokretnoj fazi i površine čvrste nepokretne faze, ispitivane molekule izravno se vežu na površinu adsorbensa,
- ✓ afinitetnu kromatografiju - na površini čvrste faze nalaze različite funkcionalne skupine s definiranim prostornim rasporedom, a vezanje nastaje zbog specifičnih interakcija molekula s kemijski vezanim ligandom na površini nepokretne faze,



- ✓ kromatografiju isključenjem - nepokretna faza je materijal s porama definiranih dimenzija i slabo izraženim adsorpcijskim svojstvom, a do razdvajanja molekula dolazi zbog razlike u molekulskoj masi i obujmu.

Na temelju sastava pokretne faze kromatografske tehnike dijele se na: plinsku, tekućinsku te fluidnu kromatografija u superkritičnim uvjetima [11].

### 2.3.1. Parametri kromatografskog razdvajanja

Tri su važna parametra kromatografskog razdvajanja: zadržavanje, protok kroz porozni mediji i širenje kromatografske zone. Za vrijeme prolaska kroz stupac molekule uzorka dio vremena provedu u pokretnoj, a dio u nepokretnoj fazi. Vrijeme koje sve molekule provedu u pokretnoj fazi nazivamo zadržano vrijeme,  $t_m$ . Zadržano vrijeme nam govori o vremenu koje prođe od trenutka injektiranja tvari koja se ne veže na nepokretnu fazu do trenutka njezine detekcije. Vrijeme zadržavanja otopljene tvari,  $t_R$  je vrijeme od trenutka unošenja uzorka do vremena maksimalnog odziva za pojedinu tvar. Prilagođeno vrijeme zadržavanja,  $t_{R''}$ , je vrijeme koje otopljena tvar provede vezana uz nepokretnu fazu [11].

Za optimizaciju kromatografske separacije važan je omjer vremena koje otopljena tvar provede u nepokretnoj fazi i vremenu koje provede u pokretnoj fazi što označujemo faktorom zadržavanja  $k$ :

$$k = \frac{t_{R''}}{t_m} = \frac{t_{R''} - t_m}{t_m} \quad (1)$$

Iz faktora zadržavanja može se izračunati vrijeme zadržavanja bilo koje otopljene tvari prema jednadžbi:

$$t_{R''} = t_m(k + 1) \quad (2)$$

$$t_m = \frac{L}{v} \quad (3)$$

$$t_{R''} = \frac{L}{v} \cdot (k + 1) \quad (4)$$

pri čemu je  $L$  duljina stupca, a  $v$  prosječna brzina pokretne faze. Mogućnost separacije dvaju spojeva, odnosno njihovo relativno zadržavanje izražava se separacijskim faktorom  $\alpha$ :

$$\alpha = \frac{t_{R''}(A)}{t_{R''}(B)} \quad (5)$$

Separacijski faktor je mjera selektivnosti kromatografskog sustava [11].

Drugi parametar koji definiramo je protok kroz porozni medij. Pokretna faza kroz sloj nepokretne faze u stupcu protječe uglavnom njezinim međuprostorima. Pokretna faza koja je uhvaćena unutar poroznih čestica uglavnom je stagnirajuća. Eksperimentalno određena

prosječna brzina pokretne faze jednaka je omjeru duljine stupca  $L$  i zadržanog vremena nezadržane otopljene tvari  $t_m$ , a ovisi o sposobnosti prodiranja nezadržane otopljene tvari u volumenu pora. U kromatografskim uvjetima profil brzine je obično laminaran, pa vrijedi Darcyjev zakon [11]:

$$v(x) = \left(\frac{-K}{\eta}\right) \frac{dP}{dx} \quad (6)$$

gdje je  $v(x)$  brzina pokretne faze u točki  $x$ ,  $K$  propusnost stupca,  $\eta$  viskoznost pokretne faze.

Kako uzorak prolazi kroz kromatografski stupac, kromatografska zona se širi proporcionalno duljini putovanja ili vremenu. Širenje površine kromatografske zone predstavlja treći parametar kromatografskog razdvajanja i ukazuje na učinkovitost kromatografske separacije. Obično se označuje kao broj teorijskih odsječaka,  $n$  ili kao visina tavana odsječaka,  $H$ . Glavni uzrok širenja kromatografske zone je otpor prijenosu mase u pokretnoj i nepokretnoj fazi, što onemogućuje trenutačno uspostavljanje ravnoteže. Uzrok širenju kromatografske zone može biti i brzina protoka kroz nepokretnu fazu koja varira u kromatografskom stupcu, uzdužna difuzija u aksijalnom smjeru koja uzrokuje širenje zone neovisno o brzini pokretne faze te nepredvidljivi sorpcijsko-desorpcijski proces [11].

### 2.3.2. Tekućinska kromatografija

U tekućinskoj kromatografiji pokretna faza je kapljevina, a nepokretnu fazu mogu činiti razni sorbensi. Tekućinsku kromatografiju dijelimo na adsorpcijsku kromatografiju pri kojoj je nepokretna faza adsorbens i razdjelnu kromatografiju pri kojoj je kapljevinska nepokretna faza nanescena na čvrsti inertni nosač. Tekućinska kromatografija ima izrazito velike mogućnosti uporabe za razdvajanje polarnih i nepolarnih spojeva i pogodna je za odjeljivanje smjesa koje se zbog niske hlapljivosti ili toplinske nestabilnosti ne mogu analizirati. Uz pretpostavku da je pokretna faza konstantnog sastava i brzine, učinkovitost kromatografskog stupca ovisi o duljini stupca, promjeru čestica punjenja i radnom tlaku. Temperatura uvelike utječe na odjeljivanje pri tekućinskoj kromatografiji, posebice kad je riječ o otopinama male molekularne mase. Povišena temperatura poboljšava difuznost uzorka i reducira viskoznost pokretne faze, pa se time poboljšavaju kinetički parametri. S povišenjem temperature mijenja se i selektivnost stupca, a maksimalna dopuštena temperatura pri tekućinskoj kromatografiji je 20 °C niža od temperature vrelišta pokretne faze. Umjesto temperature, preporučuje se regulirati protok pokretne faze čime se poboljšava razdvajanje i smanjuje vrijeme

zadržavanja. Moguća je uporaba normalnih i obratnih faza. Podjela je izvršena na temelju relativne polarnosti pokretne i nepokretne faze [11].

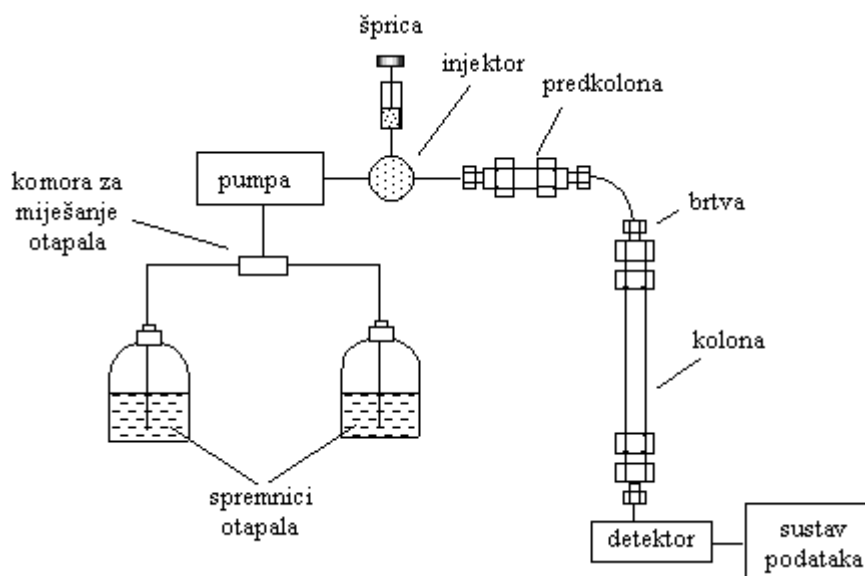
Kromatografija normalnih faza pretpostavlja da je nepokretna faza polarna, a pokretna nepolarna. Odjeljivanje smjese spojeva u tom slučaju ovisi o interakciji polarnog analita s polarnom nepokretnom fazom. Napolarni spojevi, npr. ugljikovodici, bez polarnih funkcionalnih skupina u tom slučaju vrlo slabo reagiraju s nepokretnom fazom. Kao nepokretna faza pri toj se kromatografiji upotrebljava uglavnom silikagel, a katkad i neutralni aluminijev oksid. Kao pokretna faza služi sustav organskih otapala, kojemu se prema potrebi dodaju voda ili elektrolit radi podešavanja polarnosti [11].

U kromatografiji obratnih faza, pri kojoj je nepokretna faza nepolarna, a pokretna polarna, mehanizam razdvajanja temelji se na hidrofobnosti analita. I ovdje je silikagel temeljna nepokretna faza, ali ga zbog smanjivanja njegove polarne moći treba modificirati. Stoga se na površinu silikagela vežu alkilne i arilne skupine, amino, cijano, nitro ili diolne skupine te kiralni dodaci. Pokretna faza pri kromatografiji obratnih faza jest smjesa vode i polarnog organskog otapala (metanola, acetonitrila, tetrahidrofurana). Izbor otapala ovisi o njegovoj moći eluiranja analita, što je povezano s viskoznošću, dielektričnom konstantom te proton-akceptorskim, odnosno proton - donorskim svojstvima [11].

### **2.3.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti - HPLC**

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *high performance liquid chromatography*, HPLC) visoko je učinkovita razdjelna kromatografija koja se u 75% primjena koristi kao kromatografija obrnutih faza. Instrument za HPLC analizu sastoji se od sljedećih komponenata: spremnika pokretne faze, pumpe, uređaja za unošenje uzorka, kolone, detektora, posude za otpad, računal (slika 3). Otapala koja se koriste kao pokretna faza trebaju biti visoke čistoće i treba ih osloboditi otopljenih plinova ili suspendiranih čestica. Pumpa služi za unošenje pokretne faze pod visokim tlakom (do 15 MPa) stalnom brzinom (0,1 - 10 mL/min) u kolonu. Uzorak se unosi mikrolitarskom špicom kroz 6 - kanalni ventil u sustav za injektiranje tzv. petlju (5 do 500 mL) gdje se održava tlak. Prebacivanjem ventila otapalo prolazi kroz injektor te sa sobom nosi uzorak na kolonu. Kolona je najčešće cijev izrađena od nehrđajućeg čelika punjena odgovarajućim sorbensom - nepokretnom fazom. Detektori mogu pratiti značajke pokretne faze ili otopljene tvari. Mjeri se indeks loma ili vodljivost pa je analit odnosno otopljena tvar dokazan neizravno promjenom veličina te se prate karakteristike

otopljene tvari kao što su apsorpcija u UV/Vis ili IR području, fluorescencija ili struja na elektrodi [12].



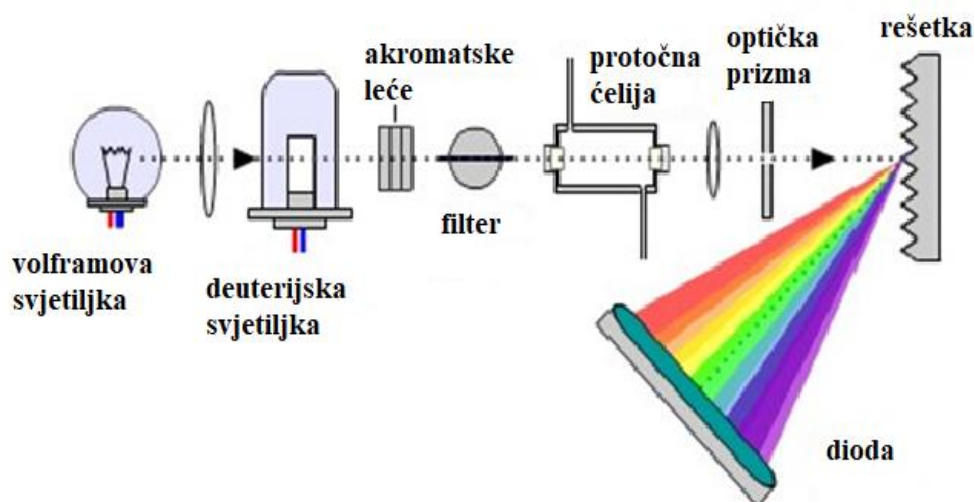
**Slika 3.** Shematski prikaz HPLC sustava [13]

### 2.3.4. Detektori

Detektor je uređaj koji se upotrebljava u kromatografiji kako bi se detektirale komponente smjese koje se eluiraju u kromatografskom stupcu. Kod tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti koriste se različite vrste detektora ovisno koja su fizikalna svojstva potrebna za detekciju određenog analita. Idealne značajke koje bi detektor za HPLC trebao imati su visoka osjetljivost za velik broj otapala, predvidljivi rezultat, pouzdanost i prikladnost za korištenje, rezultati koji se povećavaju proporcionalno s količinom otopljene tvari, ne razgrađuju otapalo i općenito pružaju kvalitetne informacije o otkrivenom analitu. Detektori mogu pratiti značajke pokretne faze ili otopljene tvari. U tekućinskoj kromatografiji koriste se razne vrste detektora kao što su refrakcijski detektori, UV/Vis detektori, fluorescencijski detektori, konduktometrijski detektori i spektrometar masa. UV/Vis detektori se najviše koriste, preko 70% a postoje tri vrste detektora: s fiksnom valnom duljinom, s promjenjivom valnom duljinom i s nizom dioda [14].

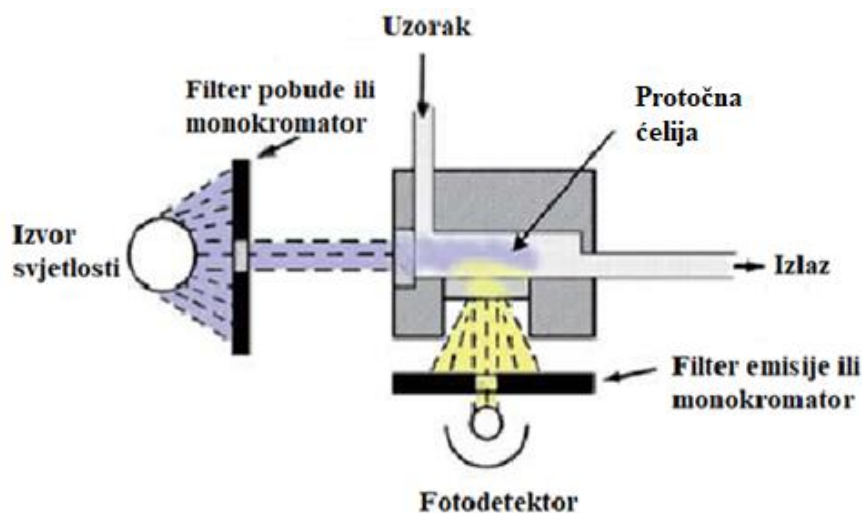
Detektor s nizom dioda (engl. *photo diode array detector*, PDA ili *diode array detector*, DAD) prikazan je na slici 4. Svjetlo iz deuterijeve lampe usmjerava se prozirnom lećom tako da cijeli snop svjetla prolazi kroz detektorsku ćeliju na holografsku rešetku. Na taj način je

uzorak izložen svjetlu svih valnih duljina koje dolaze iz lampe. Raspršeno svjetlo od rešetke zatim se fokusira na niz dioda. Niz može sadržavati stotine dioda, čiji odziv se bilježi na računalu. DAD detektori, za razliku od UV/Vis detektora, omogućuju dobivanje spektra ispitivane tvari. Nedostatak ovog tipa detektora je da je njegova rezolucija ograničena brojem dioda koje se nalaze u nizu dioda [15].



**Slika 4.** Shematski prikaz DAD detektora [16]

Fluorescentni detektori su najosjetljiviji među postojećim modernim HPLC detektorima. Moguće je otkriti čak i prisutnost jedne molekule analita. Osjetljivost fluorescencije je 10 - 1 000 puta veća od UV detektora za materijale koji apsorbiraju UV zračenje. Fluorescentni detektori vrlo su specifični i selektivni među optičkim detektorima. Obično se koriste za mjerenje specifičnih fluorescentnih vrsta u uzorcima. Emisija se mjeri pod pravim kutem, intenzitet fluorescencije ovisi o valnoj i ekscitacijskoj valnoj duljini emisije. Detekcija komponente značajno ovisi o odabranoj valnoj duljini. Većina modernih detektora omogućava brzo prebacivanje valne duljine pobude i emisije, koja pruža mogućnost otkrivanja svih komponenata u smjesi [17].



**Slika 5.** Shematski prikaz FLD detektora [18]

## 2.4. Validacija analitičke metode

Provjera analitičke metode nužan je dio cjelokupnog sustava osiguranja kvalitete u analitičkoj kemiji. Validacija analitičkih metoda je postupak kojim se osiguravaju točni, precizni i reproducibilni rezultati tijekom dugoročnog korištenja metode. Validacijom analitičke metode ispituju se izvedbene značajke metode i uspoređuju s unaprijed definiranim kriterijima te se na temelju dobivenih rezultata zaključuje o prihvatljivosti metode na namijenjenu svrhu. Validacijom se mogu utvrditi uzroci mogućih problema tijekom izvođenja metode čime se postiže veliki stupanj pouzdanosti i primjenjivosti metode.

Tijekom validacije analitičke metode ispituju se izvedbene značajke [19]:

### ✚ Specifičnost/selektivnost

Specifičnost se definira kao sposobnost procjenjivanja tj. određivanja analita u prisutnosti komponente za koju se može očekivati prisutnost. Prema IUPAC-u, selektivnost je definirana kao stupanj do kojega druge tvari prisutne u uzorku interferiraju s analitom. Što je veći utjecaj interferencija, metoda je manje selektivna.

### ✚ Linearnost

Linearnost analitičkog postupka je njezina sposobnost da se dobiju rezultati ispitivanja koji su izravno proporcionalni koncentraciji (količini) analita u uzorku unutar radnog područja.

### ✚ Preciznost

Preciznost analitičke metode izražava podudaranje između niza mjerenja dobivenih iz višestrukih analiza istog homogenog uzorka pod propisanim uvjetima. Iskazuje se kao ponovljivost, međupreciznost i obnovljivost.

✓ Ponovljivost

Izražava preciznost pod istim radnim uvjetima tijekom kraćeg vremenskog perioda.

✓ Međupreciznost

Izražava promjene unutar laboratorija, npr. rezultate dobivene u različitim danima, od različitih analitičara ili rezultate dobivene s drugom opremom.

✓ Obnovljivost

Izražava preciznost između više laboratorija i određuje se na temelju međulaboratorijskih usporedbi.

✚ Istinitost

Istinitost izražava slaganje srednje vrijednosti beskonačnog broja ponovljenih mjerenja i referentne vrijednosti.

✚ Točnost

Točnost se razlikuje od istinitosti. Točnost rezultata analize izražava podudaranje vrijednosti koja je prihvaćena kao stvarna ili referentna vrijednost s jednom eksperimentalno dobivenom vrijednosti. Stoga na točnost rezultata utječe sustavna i slučajna pogreška, i stoga se izražava putem istinitosti i preciznosti.

✚ Radno područje

Područje primjene analitičkog postupka (radno područje) predstavlja raspon, odnosno interval između gornje i donje koncentracije (količine) analita u uzorku za koje je dokazano da analitički postupak ima odgovarajuću linearnost, preciznost i točnost.

✚ Granica detekcije (eng. *limit of detection*, LOD)

Granica detekcije predstavlja najnižu količinu analita koja se može otkriti, ali ne nužno i kvantificirati određenom analitičkom metodom.

✚ Granica kvantifikacije (eng. *limit of quantification*, LOQ)

Granica kvantifikacije određene analitičke metode predstavlja najnižu količinu analita u uzorku koji se može otkriti i kvantitativno odrediti s odgovarajućom preciznošću i točnošću.

Granice detekcije (LOD) i granice kvantifikacije (LOQ) određene su prema slijedećim jednadžbama:

$$LOD = 3,3 \cdot s'_0 \quad (7)$$

$$LOQ = 10 \cdot s'_0 \quad (8)$$

$s'_0$  računamo prema jednadžbi:

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad (9)$$

gdje je  $s_0$  procjena standardnog odstupanja  $n$  ponovljenih mjerenja koncentracije HCQ pri koncentraciji blizu nule.

#### ✚ Robusnost

Robusnost analitičke metode mjera je njezine sposobnosti da ostane dosljedna rezultatima unatoč namjernoj promjeni nekih eksperimentalnih uvjeta provedbe metode. Pravi je pokazatelj pouzdanosti metode u realnim uvjetima ispitivanja.

Obzirom na namjenu metode validiraju se određeni parametri.

## 2.5. Napredni oksidacijski procesi

Napredni oksidacijski procesi (NOP), (eng. *Advanced Oxidation Process*, AOPs) koriste visokoenergetske izvore zračenja poput elektronskih snopova, ultraljubičastog (UV) zračenja i ultrazvučnih valova za pokretanje procesa oksidacijske razgradnje različitih farmaceutika sadržanih u vodi [20].

Napredni oksidacijski procesi su procesi u kojima pod utjecajem energije, bilo kemijske, električne ili energije zračenja, dolazi do stvaranja vrlo reaktivnih hidroksilnih radikala koji se odlikuju mogućnošću brze i djelotvorne razgradnje organskih zagađivala prisutnih u otpadnoj vodi u uvjetima atmosferskog tlaka i temperature. Ovakvi procesi koriste zračenja visokih energija poput UV zračenja i elektronskih snopova kako bi došlo do razgradnje farmaceutika. Kada u nekoj reakciji oksidacije nastanu reaktivni slobodni radikali, slijede oksidacijske reakcije između nastalih radikala i drugih reaktanata sve dok se ne formiraju termodinamički stabilni oksidacijski produkti. Oksidacija se odvija posredstvom hidroksilnih radikala, koji su vrlo jaka oksidirajuća vrsta u vrlo blagim eksperimentalnim uvjetima. U većini slučajeva hidroksilni radikal kao neselektivni oksidans sa svojim oksidacijskim potencijalom potpuno pretvara organsku tvar u CO<sub>2</sub>, vodu i pripadajuće mineralne kiseline. No, postoje slučajevi u kojima se ne postiže potpuna razgradnja organskog zagađivala [21].

Napredni oksidacijski procesi koji su najčešće u uporabi uključuju različite izvedbe procesa s obzirom na način njihovog provođenja [22]:

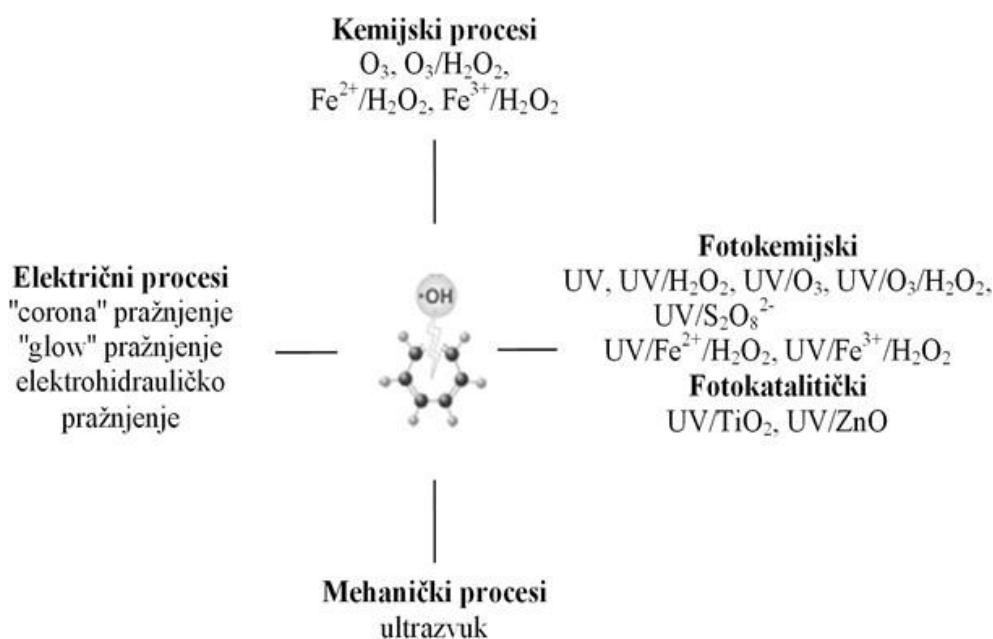
- procesi uz prisutnost UV zračenja (fotoliza),
- procesi na primjeni ozona, O<sub>3</sub> (ozonoliza),
- procesi u kombinaciji fotolize i ozonolize (UV/O<sub>3</sub>),



- fotokatalitički procesi uz primjenu titanijevog dioksida (UV/TiO<sub>2</sub>),
- fotokatalitički procesi uz prisutnost vodikovog peroksida (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),
- Fentonovi procesi (oksidacija H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalizirana s Fe solima, Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),
- slični procesi (Fe(III)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fe(0)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i dr.

Kombiniranje više procesa može biti uspješno za uklanjanje farmaceutika, jer se uklanjaju mane pojedinih, a povećava učinkovitost razgradnje organskih molekula [23].

Napredni oksidacijski procesi mogu se podijeliti prema načinu nastajanja hidroksilnih radikala što je prikazano na slici 6.



**Slika 6.** Shematski prikaz naprednih oksidacijskih procesa i njegovih kombinacija [24]

Napredni oksidacijski procesi pokazali su se učinkovitima prilikom uklanjanja farmaceutika te se primjenjuju u industrijama za pročišćavanje otpadnih voda. Time nadopunjuju tradicionalne postupke pročišćavanja otpadnih voda.

## 2.6. Fotokatalitička razgradnja

Tehnologije u obradi pitkih i otpadnih voda usmjeravaju se na poboljšanje ekonomičnosti procesa i bolju ekološku prihvatljivost. Fotokatalitička razgradnja jedna je od NOP-a i smatra se obećavajućom tehnologijom [25].

Pojam „fotokataliza“ uveden je 1930. g. U početku, fotokataliza je podrazumijevala ukupnu pojavu vezanu uz fotokemiju i katalizu te se njome bavio usko specijalizirani krug

znanstvenika. S vremenom, porastao je interes za proučavanjem fotokatalize, a time se olakšalo razumijevanje i razlikovanje pojmova fotokemije i katalize [26].

Fotokataliza se definira kao promjena brzine reakcije ili njene aktivacije uz prisutnost elektromagnetskog zračenja (svjetla) kao aktivatora kemijsko - fizikalnih procesa na površini katalizatora. Katalizator je tvar koja utječe na brzinu i (ili) smjer kemijske reakcije, ali se ne troši u samom procesu, što znači da svojom prisutnošću može ubrzati ili usporiti kemijsku reakciju. Da bi se fotokatalitički proces pokrenuo, na površini katalizatora mora doći do apsorpcije svjetla (tj. fotona) dovoljne energije da pobudi prelazak elektrona iz valentnog područja (engl. *valence band*, VP) u vodljivo područje (engl. *conduction band*, KP) pri čemu se u valentnom području stvara oksidativna šupljina koja omogućuje da dođe do lančanih reakcija oksidacije i redukcije tvari adsorbiranih na površini fotokatalizatora. Najbitniji parametri za odvijanje fotokemijskih reakcija su energije vodljivih (KP) i valentnih područja (VP), odnosno njihova razlika koja predstavlja energiju energetskog procjepa  $E_g$  (engl. *band gap*) fotokatalizatora te redoks potencijal adsorbirane molekule [27].

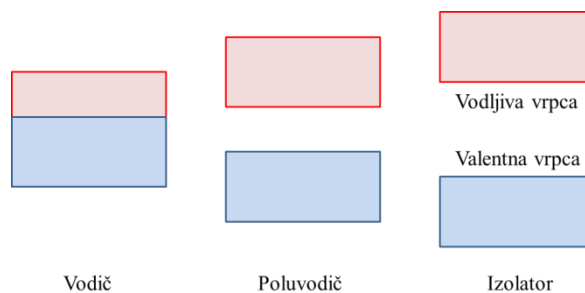
Poluvodička heterogena kataliza ima veliki potencijal i prikladna je za oksidaciju organskih spojeva. Heterogena fotokatalitička oksidacija razvijena je 1970. godine, a posljednjih desetljeća sve je interesantnija znanstvenicima. Cilj heterogene fotokatalitičke oksidacije je mineralizirati organski spoj, a u reakciji je potrebna prisutnost poluvodičkog fotokatalizatora ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CdS}$  i itd.) Fotokataliza ima vrlo široku primjenu, a najznačajnija područja primjene odnose se na pročišćavanje zraka, obradu otpadnih voda, razgradnju neželjenih organskih i anorganskih spojeva, uklanjanje metala u tragovima (iz voda) te razgradnju prirodnih organskih spojeva [19].

Učinkovitost heterogene fotokatalize ovisi o nizu čimbenika koji upravljaju kinetikom, poput koncentracije katalizatora, pH otopine, dodatak oksidansa te početna koncentracija ispitivanog spoja. Poboljšanja se mogu postići kombiniranjem UV-zračenja s različitim vrstama fotokatalizatora. Reakcije heterogene fotokatalize najčešće prate Langmuir - Hinshelwood kinetički model, koji se odnosi na prvi ili nulti red kinetike, ovisno o uvjetima rada fotokatalize [23].

Titanijev dioksid upotrebljava se kao fotokatalizator za razgradnju organskih tvari u vodi i zraku zbog stabilnosti tijekom izlaganja UV zračenju, hidrofilnih svojstava, visoke reaktivnosti, smanjene toksičnosti, te ekonomičnosti [29].

## 2.6.1. Fotokatalizatori

Za elektronsku strukturu materijala od najveće su važnosti dvije vrpce najviše energije, valentna i vodljiva vrpca. Valentna vrpca je najviše područje energija elektrona pri kojima su oni još uvijek vezani za atom dok je vodljiva vrpca područje energija elektrona pri kojima se oni slobodno kreću kroz kristalnu rešetku. Valentna vrpca je djelomično ili posve popunjena dok je vodljiva prazna. Električna vodljivost rezultat je toka elektrona unutar vrpce budući da se, kad se materijal nađe u električnom polju, elektroni počnu kretati u smjeru suprotnom od smjera električnog polja. Prazna elektronska vrpca ne može sudjelovati u ovom procesu budući da u njoj nema elektrona. Posve popunjena elektronska vrpca također ne može sudjelovati u ovom procesu budući da se elektroni mogu kretati samo ako u elektronskoj vrpce postoje slobodna mjesta (šupljine) na koje mogu prijeći. Električna svojstva materijala definirana su stoga odnosima i popunjenošću elektronskih vrpce te se materijali prema električnim svojstvima mogu klasificirati u tri grupe: vodiče, poluvodiče i izolatore (slika 7) [30].



**Slika 7.** Energijske vrpce vodiča poput magnezija u kojem se valentna i vodljiva vrpca preklapaju, poluvodiča poput silicija s relativno uskom zabranjenom zonom i izolatora poput dijamanta sa širokom zabranjenom zonom [30]

Vodiče karakterizira valentna vrpca koja nije potpuno popunjena ili čak preklapanje valentne i vodljive vrpce. Ovakva elektronska struktura omogućuje tijek elektrona, odnosno električnu vodljivost. Poluvodiče i izolatore karakterizira posve popunjena valentna i posve prazna vodljiva vrpca. Vrpce su odijeljene zabranjenom zonom u kojoj ne postoje dopušteni energijski nivoi. Da bi postali slobodni, elektroni moraju prijeći iz valentne u vodljivu vrpcu za što moraju posjedovati određenu minimalnu energiju potrebnu za svladavanje energijske

razlike između vrpca. Ova minimalna energija koja odgovara razlici energije valentne i vodljive vrpce naziva se zabranjenom zonom,  $E_g$ . Upravo je širina zabranjene zone kriterij za razlikovanje poluvodiča i izolatora. Naime, što je zabranjena zona šira, energija potrebna za njeno svladavanje bit će veća, a vjerojatnost da će elektroni imati dovoljno energije da preskoče u vodljivu vrpcu manja. Zabranjena zona u izolatorima je vrlo široka, dijamant primjerice ima zabranjenu zonu od 7 eV. Zabranjena zona u poluvodičima je uža, po jednoj od definicija manja od 3 eV [30].

Pri temperaturi apsolutne nule i u potpunom mraku poluvodič se ponaša kao izolator te ima posve popunjenu valentnu i posve praznu vodljivu vrpcu. Bez obzira na širinu zabranjene zone elektroni nemaju dovoljno energije za prijelaz u vodljivu vrpcu. Porastom temperature sve više elektrona će posjedovati energiju dovoljnu za prijelaz zabranjene zone, a sama zabranjena zona će se porastom temperature sužavati. Za fotokatalitičke reakcije na površini katalizatora mora doći do apsorpcije svjetla dovoljne energije da pobudi prelazak elektrona iz valentne u vodljivu vrpcu, pri čemu se u valentnoj vrpca stvara oksidativna šupljina. Fotogenerirani elektroni ( $e^-$ ) i šupljine ( $h^+$ ) su sposobni za oksidaciju i redukciju adsorbiranih tvari na njegovoj površini, ali i sudjelovati u redukciji prvotno pobuđenih molekula [30].

Kada se poluvodički materijal, npr.  $TiO_2$ , izloži djelovanju fotona energije  $h\nu$ , koja je jednaka ili veća od energije zabranjene zone poluvodiča (npr. približno 3,2 eV za anatasni oblik  $TiO_2$ ), elektron  $e_{CB}^-$  se pobuđuje i prelazi iz valentne u vodljivu vrpcu, pri čemu nastaje šupljina,  $h_{VB}^+$ .  $e_{CB}^-$  i  $h_{VB}^+$  su snažna oksidacijska i redukcijaska sredstva.  $h_{VB}^+$  reagira s organskim spojem što dovodi do oksidacije, a kao produkti nastaju  $CO_2$  i  $H_2O$ . Također može oksidirati organske spojeve s vodom, tako što nastaje hidroksilni radikal ( $\cdot OH$ ) koji je jaki oksidans. Elektroni u vodljivoj vrpca mogu reagirati s  $O_2$  pri čemu nastaje superoksidni anion radikal ( $O_2^{\cdot -}$ ) [26,29].

Fotokatalitička svojstva određenih materijala primjenjuju se za pretvaranje energije zračenja u kemijsku energiju koja onda uzrokuje oksidaciju odnosno redukciju tvari u svrhu dobivanja korisnih materijala ili u cilju uklanjanja zagađivala prisutnih u vodi i zraku [29].

Svaki poluvodič ima karakterističnu vrijednost energijskoj procjepa i valnu duljinu koji su prikazani u tablici 1.

**Tablica 1.** Vrijednosti energijskog procjepa i valne duljine za različite poluvodiče [29]

Poluvodič	$E_g$ , eV	$\lambda$ , nm
TiO <sub>2</sub> (rutil)	3,0	413
TiO <sub>2</sub> (anatas)	3,2	388
ZnO	3,2	388
ZnS	3,6	335
CdS	2,4	516
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2,3	539

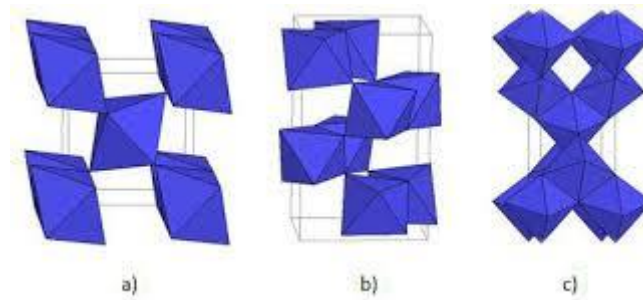
Poluvodič će biti uspješan fotokatalizator kada zadovolji nekoliko osnovnih uvjeta [31]:

- što niži energijski procjep,  $E_g$ ,
- kemijski i biološki inertan,
- netopljiv u vodi,
- pogodan za aktivaciju pristupačnijim izvorima zračenja,
- otporan na koroziju,
- prihvatljiv cijenom.

Zbog odličnih svojstva TiO<sub>2</sub> te njegove učinkovitosti pri stvaranju hidroksilnih radikala u prisutnosti UV-zračenja, raste broj istraživanja u području fotokatalitičke razgradnje [31].

### 2.6.1.1. Titanijev dioksid

Titanijev dioksid se u prirodi pojavljuje u tri kristalna oblika (slika 8) - anatas, rutil i brukit, a u fotokatalitičkim reakcijama se uglavnom primjenjuju anatas i rutil. Kristalni oblik anatasa najučinkovitiji je u razgradnji organskih tvari u vodi [27].



**Slika 8.** Strukture polimorfnih modifikacija  $\text{TiO}_2$ : a) rutil, b) brukit i c) anatas [32]

Spektralna apsorpcijska karakteristika  $\text{TiO}_2$  omogućuje njegovu aktivaciju u svim UV područjima, od UV-A do UV-C. Za korištenje kao fotokatalizatora može se primijeniti dijelom i Sunčevo zračenje, ali i umjetni izvori zračenja. Proces se može voditi i kombinacijom oba izvora zračenja. Valentna vrpca je u potpunosti popunjena, a vodljiva vrpca je prazna. Ima veliki energijski procjep, 3,2 eV. Zahtjeva energiju pobuđivanja valnih duljina kraćih od 400 nm, gdje se pri ozračivanju čestice  $\text{TiO}_2$  pokreće prijelaz elektrona iz valentne vrpce u vodljivu vrpcu [33].

Titanijev dioksid je važan poluvodič s relativno širokim energijskim procjepom, sposobnošću apsorpcije svjetla, transporta naboja te površinske adsorpcije. Zbog specifičnih svojstava, titanijev dioksid ima široku primjenu u mnogim granama industrije [34].

Primjena  $\text{TiO}_2$  [33]:

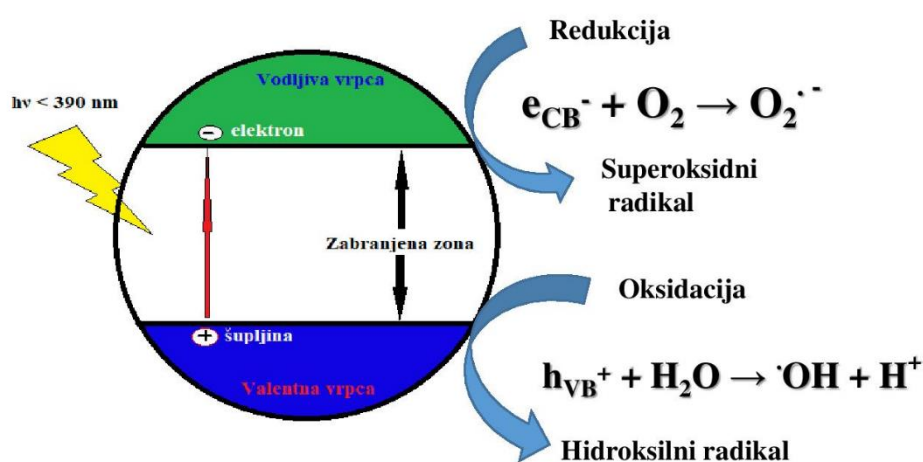
- katalizator,
- bijeli pigment u bojama ili kozmetici,
- elektrode u litij baterijama,
- bojom senzibilizirane solarne ćelije,
- fotokatalizator za sprečavanje onečišćenja okoliša, pročišćavanja otpadnih voda i zraka,
- fotonaponski uređaji,
- optika.

Problemi koji priječe upotrebu  $\text{TiO}_2$  u širokim primjenama su [34]:

- ✓ široki energijski procjep omogućuje pobuđivanje samo ultraljubičastim svjetlom valnih duljina manjih od 388 nm,
- ✓ veća fotokatalitička aktivnosti dobije se s  $\text{TiO}_2$  nanočesticama malih dimenzija sa što većom dodirnom površinom.

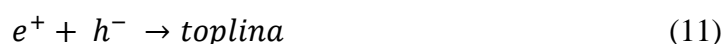
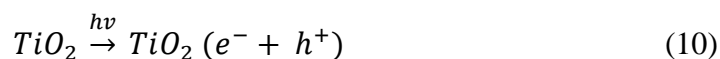
### 2.6.1.2. Fotokatalitička aktivnost TiO<sub>2</sub>

Anatas je zbog njegove velike specifične površine najzastupljeniji fotokatalizator. ApSORPCIJOM fotona veće energije od energije zabranjene zone, TiO<sub>2</sub> prelazi u pobuđeno stanje prilikom čega nastaju parovi elektron - šupljina ( $e^- - h^+$ ) u valentnoj vrpici. Elektroni prelaze u vodljivu vrpcu djelujući redukcijski istovremeno ostavljajući iza sebe šupljinu koja djeluje kao jaki oksidans. Princip fotokatalitičke aktivnosti titanijevog dioksida aktivacijom UV-zračenjem prikazan je na slici 9.



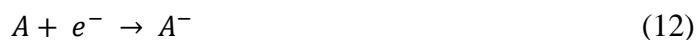
**Slika 9.** Princip fotokatalitičke aktivnosti titanijevog dioksida aktivacijom UV-zračenjem

Osvjetljavanjem poluvodiča energijom jednakom ili većom od energije zabranjene zone dolazi do pobuđivanja elektrona iz valentne vrpce u vodljivu unutar 10 fs, pri čemu se stvaraju pobuđeni elektron ( $e^-$ ) i šupljina ( $h^+$ ). Šupljine putuju u suprotnom pravcu od pravca gibanja elektrona. Većina nastalih parova elektron - šupljina se ili rekombinira u masi otopine ili difundira na površinu TiO<sub>2</sub> gdje dolazi do rekombinacije i oslobađanja topline [31].

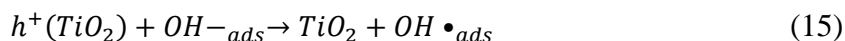


Pobuđeni elektroni u vodljivoj vrpci i zaostale šupljine mogu reagirati s elektron-donorima i elektron - akceptorima adsorbiranim na površini poluvodiča ili unutar elektrokemijskog dvosloja. Neki od parova elektron - šupljina mogu difundirati na površinu fotokatalizatora i sudjelovati u redoks reakcijama [26].

Pobuđeni elektron može difundirati na površinu, gdje dolazi do redukcije elektron akceptora,  $A$  (jednadžba 12) a u međuvremenu generirana šupljina također difundira na površinu fotokatalizatora gdje dolazi do oksidacije elektron donora,  $D$  (jednadžba 13).



Na površini poluvodiča elektron može reducirati elektron - akceptore (kisik ili voda), a šupljina može primiti elektron od molekule donora koja se oksidira (voda). Hidroksilni radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) mogu nastati na dva načina: fotogenerirane šupljine difundiraju na površinu fotokatalizatora i reagiraju ili s molekulom adsorbirane vode (14) ili s hidroksidnim ionom (15) na površini  $\text{TiO}_2$ :



Nastali  $\bullet\text{OH}$  radikal je jaki oksidans s oksidacijskim potencijalom 2,80 V (neznatno niži od oksidacijskog potencijala najjačeg oksidansa - fluora) [29].

Elektroni u vodljivoj vrpici sudjeluju u procesu redukcije (16), reagirajući s molekularnim kisikom u otopini pri čemu nastaje superoksidni radikal ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) [26].



Hidroksilni radikal, primarni oksidans u reakcijama fotokatalitičke oksidacije, inicira lančanu reakciju koja dovodi do nastajanja drugih radikala te naknadne oksidacije organskih spojeva. Iako adsorpcija hidroksilnih radikala i organskih spojeva na površini  $\text{TiO}_2$  nije nužan uvjet za odvijanje reakcije takvi uvjeti pogoduju povećanju ukupne reaktivnosti. Ukoliko je prisutan kisik u velikoj koncentraciji, može spriječiti reakciju rekombinacije parova elektron-šupljina [35].

Ako je fotokatalitička oksidacija potpuna, konačni produkti razgradnje organskih spojeva su ugljik dioksid i voda [26].

## 2.7. Čimbenici koji utječu na učinkovitost razgradnje

### ▪ Koncentracija kisika

Molekula kisika je jak elektrofil. Povećanjem koncentracije kisika dolazi do smanjenja nepoželjnih rekombinacija. Velike koncentracije kisika smanjuju ukupnu brzinu reakcije.



Glavni razlog tome je hidroksiliranje površine  $\text{TiO}_2$ . Koncentracija kisika većinom je nepromijenjena odnosno fotokatalitičke reakcije odvijaju se pri standardnim uvjetima [26].

#### ▪ **Katalizator**

Količina katalizatora znatno utječe na brzinu fotorazgradnje. Veće količine katalizatora ubrzavaju brzinu fotorazgradnje, a razlog tome je veća aktivna površina.  $\text{TiO}_2$  kao katalizator najčešće se priprema u obliku filma, sol - gel metodom te naknadnom toplinskom obradom pri povišenim temperaturama.  $\text{TiO}_2$  se u obliku filma nanosi na čvrstu podlogu, a debljina filma treba biti optimalna [26].

#### ▪ **Temperatura**

Brzina fotokatalitičke oksidacije ne ovisi o temperaturi, a razlog tome je mala energija aktivacije. Niže temperature utječu na prijenos elektrona na molekule kisika te na brzine desorpcije međuprodukata i supstrata [26].

#### ▪ **Intenzitet zračenja**

Glavni dio fotokatalitičkog procesa je izvor zračenja. Izvori zračenja mogu biti različiti. O obliku izvora zračenja ovisi konstrukcija fotoreaktora i izvedba fotokatalitičkog procesa [26].

## 2.8. Kinetika fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje

Proučavanjem kinetike fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje moguće je odrediti brzinu razgradnje farmaceutika, odnosno vrijeme unutar kojega će se razgraditi pola od početne količine ispitivanog spoja, tzv. vrijeme poluraspada. Većina fotolitičkih i fotokatalitičkih reakcija ponaša se kao reakcija prvog reda koja pretpostavlja da se koncentracija ispitivanog spoja smanjuje proporcionalno s vremenom:

$$\frac{dc}{dt} = k \cdot c \quad (17)$$

Gdje je:

$c$  - koncentracija početnog spoja,

$t$  - vrijeme provođenja eksperimenta,

$k$  - konstanta brzina reakcije

Integriranjem izraza (17) dobije se izraz:

$$c = c_0 \cdot e^{-kt} \quad (18)$$

$$\ln \frac{c_t}{c_0} = -k \cdot t \quad (19)$$

U navedenom izrazu  $c_0$  je početna koncentracija spoja pri  $t = 0$ , a  $c_t$  koncentracija u vremenu  $t$ . Konstantu brzine reakcije moguće je odrediti iz jednadžbe pravca, kao nagib pravca koji prikazuje ovisnost  $\ln(c_t/c_0)$  o  $t$ .

Vrijeme poluraspada spoja ( $t_{1/2}$ ) moguće je odrediti iz izraza:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (20)$$

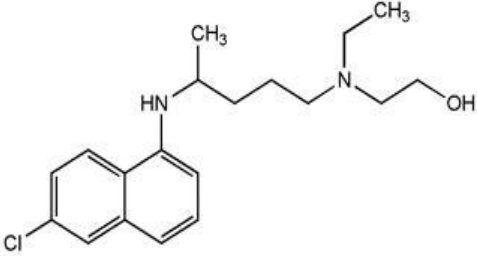
### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

## 3.1. Materijali

### 3.1.1. Hidroksiklorokin

Fizikalno - kemijska svojstva ispitivanog farmaceutika hidroksiklorokina prikazana su u tablici 2.

**Tablica 2.** Fizikalno - kemijska svojstva hidroksiklorokina

<b>Generičko ime</b>	HIDROKSIKLOROKIN
<b>Grupa farmaceutika</b>	Antireumatik
<b>CAS broj</b>	118 - 42 - 3
<b>Naziv po IUPAC-u</b>	(RS) - 2 - [{4 - [(7 - chloroquinolin - 4 - yl)amino]pentyl}(ethyl)amino] ethanol
<b>Molekulska formula</b>	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>3</sub> O
<b>Strukturna formula</b>	
<b>M, g/mol</b>	335,872
<b>pK<sub>a</sub> [18]</b>	9,76
<b>Topljivost u vodi, S, mg/mL</b>	0,0261
<b>Proizvođač</b>	Sigma-Aldrich, St. Lous, MO, SAD

### 3.1.2. Kemikalije

Kemikalije korištene tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada, njihove molekulske formule, čistoća te proizvođači prikazani su u tablici 3.

**Tablica 3.** Popis korištenih kemikalija

Naziv	Molekulska formula	Čistoća	Proizvođač
Titanijev dioksid	TiO <sub>2</sub>	p.a.	Sigma - Aldrich, München, Njemačka
Ultračista voda	H <sub>2</sub> O	p.a.	Millipore Corporation Billerica, MA, SAD
Natrijev azid	NaN <sub>3</sub>	p.a.	VWR CHEMICALS Leuven, Belgija
Benzokinon	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	p.a.	Sigma - Aldrich, München, Njemačka
Acetonitril	CH <sub>3</sub> CN	p.a.	J. T. Baker, Deventer, Nizozemska
Mravlja kiselina	HCOOH	p.a.	OrkaLab, Zagreb, Hrvatska
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	p.a.	J. T. Baker, Deventer, Nizozemska

## 3.2. Instrumenti

### 3.2.1. Analitička vaga

Analitička vaga je instrument koji se koristi za precizno određivanje mase tvari. Vrlo je osjetljiv i skup instrument, a o njezinoj ispravnosti i preciznosti ovisi točnost rezultata mjerenja. Najrašireniji tip analitičke vage je vaga nosivosti 100 g i osjetljivosti 0,1 mg. Nije moguće napraviti nijednu kvantitativnu kemijsku analizu bez njezine upotrebe jer uvijek treba odvagati uzorak za analizu i potrebne količine reagensa za pripremu otopina, bez obzira na metodu koju koristimo.

Prilikom eksperimenta korištena je analitička vaga XS204 DeltaRange proizvođača Mettler Toledo (Greifensee, Švicarska) prikazana na slici 10, slijedećih specifikacija:

- maksimalni kapacitet: 220 g
- očitavanje: 0,1 mg
- minimalna odvaga ( $U=1\%$ ,  $s=2$ ): 8 mg
- područje tare: 0 - 220 g
- linearnost: 0,2 mg
- ponovljivost pri maksimalnom kapacitetu ( $s$ ): 0,1 mg



**Slika 10.** Analitička vaga XS204 DeltaRange, Mettler Toledo 15

### 3.2.2. pH-metar

pH-metar je uređaj za potenciometrijsko određivanje pH-vrijednosti. Tipični pH-metar sastoji se od elektrode koja mjeri pH-vrijednost kao aktivnost vodikovih iona koji okružuju njezin okrugli završetak. Elektroda proizvodi malu voltažu (oko 0,06 V po jedinici pH) što se mjeri i prikazuje kao pH-vrijednost pomoću pH-metra. pH-metar je elektronički instrument koji se koristi za mjerenje pH-vrijednosti (kiselosti ili bazičnosti) tekućih uzoraka (iako postoje posebni uređaji pomoću kojih je moguće mjerenje pH-vrijednosti u polu-krutim tvarima). Prije mjerenja pH-vrijednosti uređaj je potrebno umjeriti s puferima poznatih pH-vrijednosti (pH 4 i pH 7). Za podešavanje pH-vrijednosti uzorka vode korišten je pH-metar S20 SevenEasy (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska) prikazan na slici 11.

Specifikacije pH-metra:

- raspon vrijednosti: 0 - 14
- rezolucija: 0,01 pH
- temperaturni raspon: 5 °C - 105 °C



**Slika 11.** pH-metar S20 SevenEasy 16

### **3.2.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti**

Metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti vezana s DAD detektorom (HPLC-DAD) razvijena je na Varian ProStar 500 sustavu (Walnut Creek, Kalifornija, SAD) prikazanom na slici 12.

HPLC kromatograf sastoji se od:

ProStar 330 detektora s nizom dioda,

ProStar 230 tercijarne pumpe,

ProStar 410 uređaja za automatsko dodavanje uzorka,

ProStar 500 termostatiranog držača kolone i

računala s programom Varian ProStar 360 Star Chromatography WorkStation verzija 5.5 za prikupljanje i obradu podataka.

Rezultati su očitavani pri valnoj duljini od 343 nm.



**Slika 12.** Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Varian ProStar 500, s detektorom s nizom dioda (HPLC - DAD)

Metoda tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti vezana s FLD detektorom (HPLC-FLD) razvijena je na Varian ProStar sustavu prikazanom na slici 13, a koji se sastoji od:

ProStar 363 fluorescentnog detektora,

ProStar 210 pumpe,

ProStar 410 uređaja za automatsko dodavanje uzorka i

računala s programom Varian ProStar 360 Star Chromatography WorkStation za prikupljanje i obradu podataka.

Rezultati su očitavani pri valnoj duljini eksitacije ( $\lambda_{ex}$ ) od 230 nm i pri valnoj duljini emisije ( $\lambda_{em}$ ) od 385 nm.

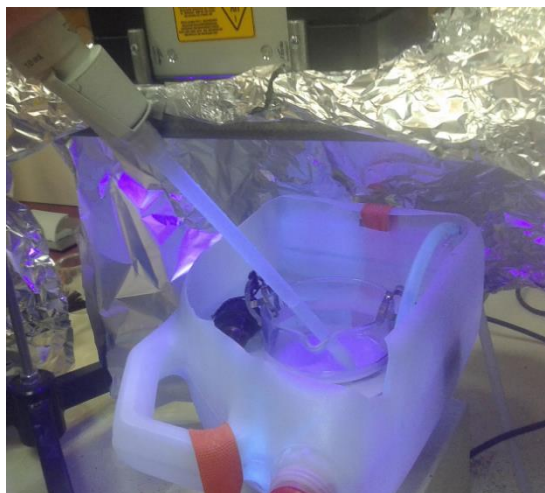


**Slika 13.** Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti, Varian ProStar 363, s fluorescentnim detektorom (HPLC - FLD)



### 3.2.4. Fotokemijski reaktor

Razgradnja farmaceutika hidroksiklorokina u ovom radu, provedena je u reaktoru prikazanom na slici 14.



**Slika 14.** Prikaz aparature za fotolitičku i fotokatalitičku razgradnju hidroksiklorokina

Fotokemijski reaktor sastoji se od: reaktora, magnetske miješalice s PTFE magnetom za miješanje, UV svjetiljke, ulaza vode za hlađenje, izlaza vode za hlađenje i izvora struje. Reaktor je okrugla posuda izrađena od kvarcnog stakla. Fotolitička i fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina ispitana je u reaktoru volumena 100 mL. U slučaju fotokatalitičke razgradnje, u reaktoru se nalazio katalizator u obliku staklenog prstena na koji je nanešen tanki film  $\text{TiO}_2$  ili je reaktor bio ispunjen suspendiranim  $\text{TiO}_2$  katalizatorom, što je zahtijevalo naknadnu separaciju fotokatalizatora nakon provedenog eksperimenta. Uzorci otopine farmaceutika uzimani su pomoću kapaljke. Za osvjetljavanje otopina farmaceutika korišten je vanjski izvor zračenja. Udaljenost između svjetiljke i reaktora iznosila je 20 cm. Temperatura svjetiljke od 25 °C je održavana stalnim protokom vode kroz sustav cijevi za odvod i dovod vode. Tijekom izvođenja eksperimenta otopina hidroksiklorokina je kontinuirano miješana pomoću magnetske miješalice.

### 3.2.5. Izvor zračenja

Za osvjetljavanje farmaceutika korištene su sljedeći izvori zračenja: LED svjetiljka koja emitira zračenje valne duljine 365 nm (slika 15), LED svjetiljka koja emitira zračenje valne duljine 405 nm (slika 16), halogena svjetiljka (slika 17) i svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom (Osram svjetiljka) (slika 18).



**Slika 15.** HonleGroup  
UVAHAND LED 365



**Slika 16.** HonleGroup  
UVAHAND LED 405



**Slika 17.** VIS lampa, R-TOS Tip 700150A



**Slika 18.** Svjetilka sa zračenjem sličnim Sunčevom (Osram VitalLux)

### **3.2.6. Spektrofotometar**

Spektrofotometar je uređaj za analizu spektra elektromagnetskog zračenja koji mjeri količinu reflektiranog svjetla iz uzorka. Sastoji se od izvora zračenja, monokromatora i detektora. Postoje dvije vrste spektrofotometra, a to su jednozračni i dvozračni. Dvozračni imaju dva puta svjetlosti te uspoređuju njihov intezitet. Oni istovremeno mogu primiti dva uzorka, a to su referentni i ispitani uzorak. Jednozračni spektrofotometar sadrži samo jedan put svjetlosti te može primiti samo jedan uzorak, dok se referentni uzorak mora snimiti posebno.

Tijekom rada korišten je jednozračni UV/Vis spektrofotometar HP 8453 UV-Vis (Agilent, San Diego, SAD (slike 19 i 20).



**Slika 19.** UV-Vis HP 8453 spektrofotometar



**Slika 20.** Kvarcne kivete

### **3.3. Metode rada**

#### **3.3.1. Priprema standardnih otopina hidroksiklorokina**

Temeljna standardna otopina hidroksiklorokina masene koncentracije 100 mg/L pripremljena je vaganjem 2,50 mg standarda hidroksiklorokina na analitičkoj vagi. Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu volumena 25 mL koja je nadopunjena MilliQ vodom do oznake.

Iz pripremljene temeljne standardne otopine hidroksiklorokina pripremljene su radne standardne otopine masenih koncentracija u rasponu od 0,005 mg/L do 10,0 mg/L. Ovisno o masenoj koncentraciji pojedine standardne otopine (0,005 mg/L, 0,05 mg/L, 0,10 mg/L, 0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 0,75 mg/L, 1,0 mg/L, 2,5 mg/L, 5,0 mg/L, 7,5 mg/L i 10,0 mg/L) u odmjernu tikvicu od 10 mL dodan je određeni volumen temeljne standardne otopine hidroksiklorokina (1 mL - 0,25 mL) te je tikvica nadopunjena MilliQ vodom do oznake. Otopine masene koncentracije 0,005 mg/L, 0,05 mg/L i 0,10 mg/L pripremljene su međurazrjeđenjem. Prvotno je pripremljena otopina masene koncentracije 10 mg/L, a zatim je uzet odgovarajući alikvot (0,0005 mL, 0,05 mL i 0,10 mL) otopine koncentracije 10,0 mg/L i razrijeđene do 10 mg/L kako bi dobili otopine masenih koncentracija 0,005 mg/L, 0,05 mg/L i 0,10 mg/L. Za provjeru linearnosti pripremljene su tri vijale od svake navedene standardne otopine hidroksiklorokina. Standardne otopine čuvane su u mraku na temperaturi od 4 °C.

Za procjenu ponovljivosti i međupreciznosti pripremljene su tri radne standardne otopine čije su koncentracije unutar radnoga područja, a nisu korištene za izradu umjernog pravca (0,15 mg/L, 4,0 mg/L, 8,0 mg/L). Otopine koncentracije 4,0 mg/L i 8,0 mg/L pripremljene su izravno iz temeljne standardne otopine hidroksiklorokina. U odmjerne tikvice otpipetirani su odgovarajući volumeni (0,4 mL i 0,8 mL) te je tikvica nadopunjena MilliQ vodom do oznake. Otopina masene koncentracije 0,15 mg/L pripremljena je međurazrjeđenjem. Prvotno je pripremljena otopina masene koncentracije 10,0 mg/L, a zatim je uzeto 0,15 mL otopine koncentracije 10,0 mg/L kako bi dobili otopinu masene koncentracije 0,15 mg/L u volumenu od 10 mL. Za provjeru ponovljivosti i međupreciznosti pripremljeno je pet vijala za svaku masenu koncentraciju. Standardne otopine čuvane su u mraku na temperaturi od 4 °C.

U eksperimentima fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje korištena je standardna otopina hidroksiklorokina masene koncentracije 10,0 mg/L, pripremljena je vaganjem standarda na analitičkoj vagi (0,01000 g). Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od 1 000 mL te je otopljen u MilliQ vodi. Otopljenom standardu podešena je pH vrijednost na 7 dodavajući 1 M NaOH. Standardne otopine čuvane su u mraku na temperaturi od 4 °C.

U eksperimentima u kojima je ispitan mehanizam razgradnje, korištena je standardna otopina hidroksiklorokina masene koncentracije 10,0 mg/L. Otopina u kojoj je bio benzokinon, pripremljena je vaganjem benzokinona na analitičkoj vagi (0,0270 g). Odvagani standard kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od 200 mL, te je nadopunjena do oznake standardnom otopinom hidroksiklorokina. Otopina s natrijevim azidom pripremljena je vaganjem natrijevog azida (0,0650 g i 0,1081 g) na analitičkoj vagi. Odvagani natrijev azid kvantitativno je prenesen u odmjernu tikvicu od 200 mL te otopljen u standardnoj otopini

hidroksiklorokina. Da bi se natrijev azid lakše otopio, tikvice s natrijevim azidom stavljene su na miješalicu oko 30 minuta.

### **3.3.2. Priprema TiO<sub>2</sub> suspenzije**

U ovome radu korišten je prethodno pripremljeni Degussa P25 TiO<sub>2</sub> fotokatalizator u obliku tankog filma TiO<sub>2</sub> nanesenog na stakleni prsten te suspenzije TiO<sub>2</sub> različitih koncentracija fotokatalizatora. Suspenzije TiO<sub>2</sub> masenih koncentracija 0,1 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L i 2 mg/L pripremljene su vaganjem odgovarajuće mase katalizatora na analitičkoj vagi. Odvagani katalizator je potom kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 100 mL koja je potom nadopunjena standardnom otopinom hidroksiklorokina do oznake. Pripremljena suspenzija TiO<sub>2</sub> fotokatalizatora prenesena je u reaktor.

### **3.3.3. Osvjetljavanje otopine hidroksiklorokina**

Volumen standardne otopine hidroksiklorokina (10,0 mg/L) koji se nalazio u reaktoru iznosio je 100 mL. Prilikom provođenja eksperimenta, reaktor je bio obložen aluminijskom folijom kako bi se spriječio negativan utjecaj UV zračenja na okolinu. UV svjetiljka uključivana je 20 minuta prije početka ispitivanja da bi se ustalila temperatura, odnosno intenzitet zračenja. Osvjetljavanje se provodilo u ukupnom trajanju od 120 minuta. Uzorci su uzimani u određenim vremenskim intervalima (15 minuta), volumen uzoraka bio je približno 2 mL. Smanjenje koncentracije HCQ radi brže provjere, praćeno je spektrofotometrijski.

Fotokatalitička ispitivanja provedena su na prethodno opisani način, no korišten je fotokatalizator TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzije i tankog filma TiO<sub>2</sub> nanesenog na stakleni prsten. Također, smanjenje koncentracije praćeno je spektrofotometrijski, a rezultati koji su pokazali zadovoljavajuću razgradnju pohranjeni su u vijale i čuvani u hladnjaku za daljnju analizu tekućinskom kromatografijom.

Prilikom ispitivanja mehanizma razgradnje korištene su standardne otopine hidroksiklorokina u kojima se nalazio benzokinon, natrijev azid ili metanol. Osvjetljavanje je provedeno LED svjetiljkom koja emitira zračenje valne duljine 365 nm. Smanjenje koncentracije HCQ-a praćeno je spektrofotometrijski. Za vrijeme provođenja svih fotolitičkih i fotokatalitičkih ispitivanja, otopine su miješane magnetskom miješalicom, a radna temperatura otopine u reaktoru iznosila je (25 ± 0,5) °C.

### 3.3.4. Određivanje hidrosiklorokina tekućinskom kromatografijom

Kromatografsko odjeljivanje hidrosiklorokina i njegovog fotokatalitičkog razgradnog produkta provedeno je kromatografijom obrnutih faza na kolini Synergy Fusion-RP 80A dimenzija 150 mm x 4,6 mm, s veličinom čestica punjenja od 4 μm. Korištena je pokretna faza koja se sastojala od 0,1% mravlje kiseline (CH<sub>3</sub>OH) u MilliQ vodi (A) te acetonitrila (ACN) (B) uz gradijentno eluiranje (tablica 4) i protok pokretne faze od 1 mL/min na DAD detektoru i 0,75 mL/min na FLD detektoru. Nakon stabilizacije tlaka u koloni pokrenuta je analiza. Injektirano je 30 μL uzorka.

**Tablica 4.** Udio vodene (A) i organske faze (B) u pokretnoj fazi tijekom HPLC analize

<b>HPLC-FLD i HPLC-DAD</b>		
<b><i>t</i>, min</b>	<b><i>A</i>, %</b>	<b><i>B</i>, %</b>
0	94	6
1	94	6
5	30	70
7,30	30	70
7,42	94	6
10	94	6

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**



Povećana uporaba novih zagađivala od strane čovjeka postaje veliki ekološki problem. Za uklanjanje farmaceutika iz vode mogu se primijeniti različite tehnologije obrade vode, a izbor odgovarajuće tehnologije ovisi o nizu faktora. Velika pozornost se usmjerava na ekološki prihvatljive i učinkovite procese kao što su fotoliza i fotokataliza.

Prema dosadašnjim istraživanjima fotokatalitička razgradnja s  $\text{TiO}_2$  pokazala se vrlo učinkovitom za razgradnju različitih organskih i anorganskih spojeva prisutnih u okolišu, posebice postojanih organskih spojeva.

Cilj ovoga rada bio je razviti analitičke metode koje će omogućiti praćenje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje farmaceutika hidrosiklorokina i nastalih razgradnih produkata. U tu svrhu provedena je optimizacija metoda HPLC-DAD i HPLC-FLD mijenjanjem parametara koji mogu utjecati na kromatografsku separaciju. Optimirane metode su validirane korištenjem standardnih otopina hidrosiklorokina. Kako bi se provjerila prikladnost razvijenih metoda za analizu razgradnih produkata, razvijenim metodama analizirane su otopine hidrosiklorokina razgrađene naprednim oksidacijskim procesima.

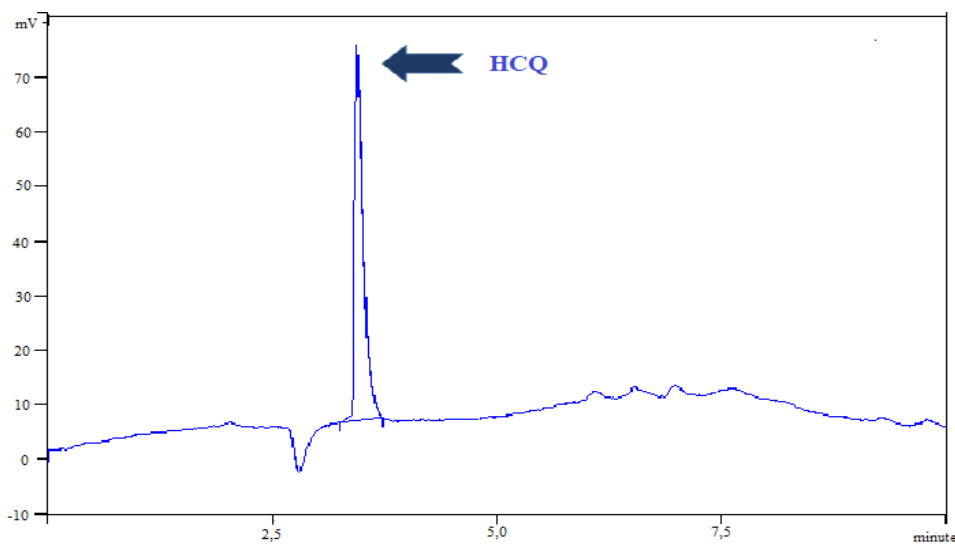
U drugom dijelu rada ispitana je učinkovitost fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje hidrosiklorokina uz  $\text{TiO}_2$  kao fotokatalizator (film i suspenzija) korištenjem različitih izvora zračenja.

## 4.1. Optimizacija kromatografskih metoda

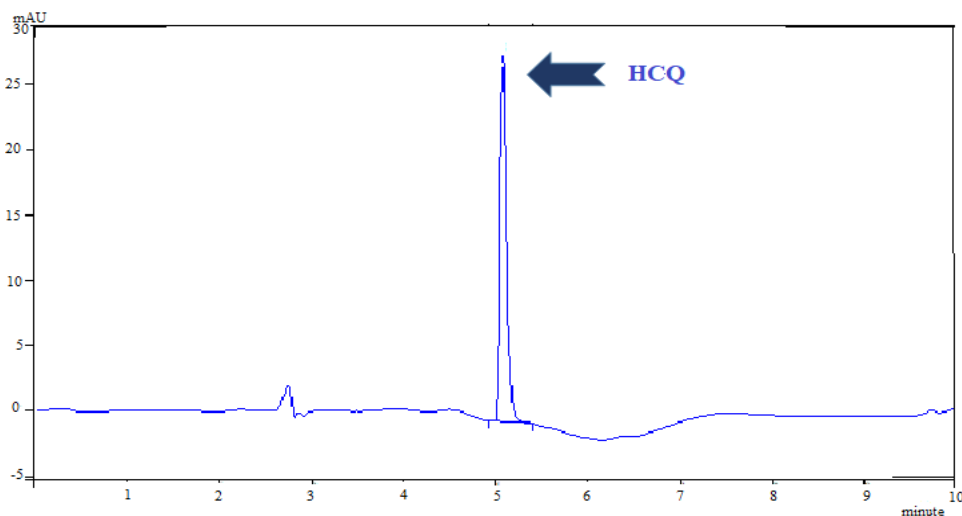
Optimizacija kromatografskih uvjeta provedena je na način da su ispitani različiti načini eluiranja (izokratno i linearno gradijentno) te različite brzine protoka pokretne faze. Kod obje metode korištena je ista kolona, Synergy Fusion - RP 80A dimenzija 150 mm x 4,6 mm, s veličinom čestica punjenja od 4  $\mu\text{m}$ . Optimizacijom uvjeta željelo se razviti pogodnu metodu koja će omogućiti kvantitativno određivanje HCQ. Mijenjanjem uvjeta nastojalo se dobiti kromatografske krivulje s izraženim uskim pikovima te zadovoljavajućim vremenom zadržavanja. Prvo je optimirana metoda HPLC-DAD. Prilikom optimizacije ispitani su sljedeći uvjeti, kod izokratnog eluiranja udio organske faze bio je 5%, 50% i 80%. Mijenjanjem udjela organske faze kod izokratnog eluiranja nisu postignuti zadovoljavajući rezultati te je kromatografska separacija ispitana s linearnim gradijentnim eluiranjem pri čemu se udio organske faze mijenjao od 3% do 75%. Uvjeti gradijenata prikazani u tablici 4 pokazali su se optimalnim jer je dobiven uski pik za HCQ. Ispitan je utjecaj protoka u rasponu 0,75 mL/min - 1,5 mL/min, te je kao optimalni izabran protok 1 mL/min. Kod metode HPLC-

FLD prvo su primijenjeni optimalni uvjeti metode HPLC-DAD, ali takvi uvjeti se nisu pokazali dobrima jer nije postignuto zadovoljavajuće vrijeme zadržavanja te nije dobiven uzak pik HCQ. U sljedećem koraku mijenjan je protok pokretne faze. Optimalan protok pokretne faze za metodu HPLC-FLD iznosi 0,75 mL/min. Optimalni uvjeti metode HPLC-FLD primijenjeni su pri valnoj duljini eksitacije od 230 nm te pri valnoj duljini emisije od 385 nm.

Izabrani su navedeni optimalni uvjeti jer su pri njima dobivene kromatografske krivulje najboljeg oblika (što bliže obliku Gaussove krivulje) (slike 21 i 22) te je postignuto zadovoljavajuće vrijeme zadržavanja.



**Slika 21.** Kromatogram HCQ kod optimalnih uvjeta metodom HPLC-FLD



**Slika 22.** Kromatogram HCQ kod optimalnih uvjeta metodom HPLC-DAD

## 4.2. Validacija kromatografskih metoda

Najvažniji korak u validaciji metode je postavljanje kriterija prihvatljivosti za izabrane izvedbene značajke na temelju zakonskih zahtjeva, zahtjeva norme ili dobre laboratorijske prakse. U ovome radu, kriteriji prihvatljivosti definirani su na temelju dobre laboratorijske prakse i prikazani su u tablici 5.

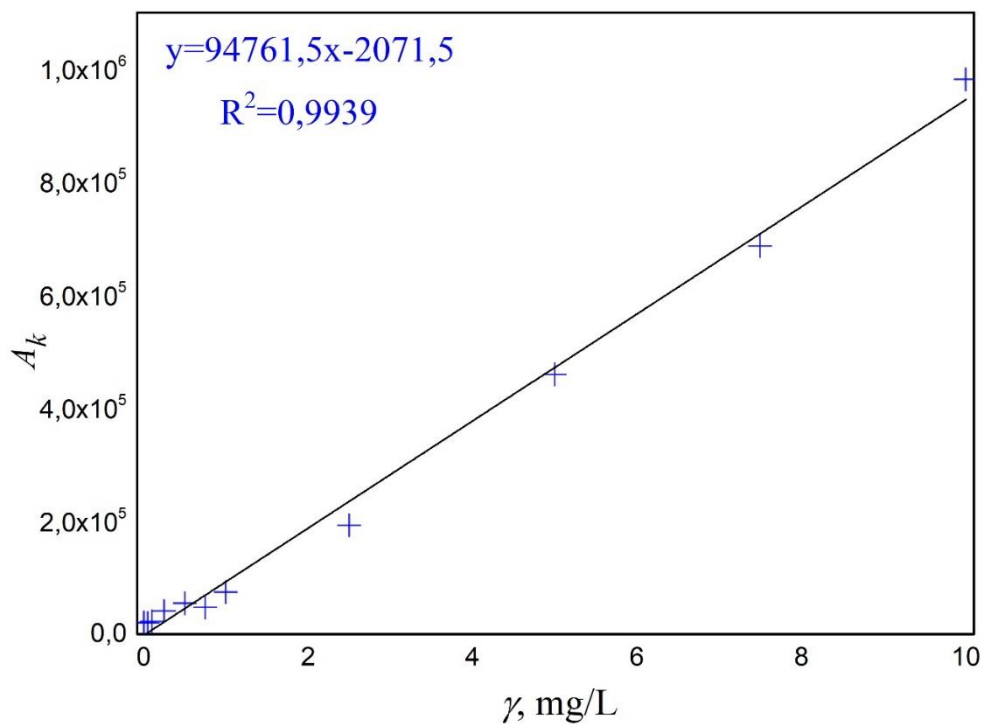
**Tablica 5.** Kriterij prihvatljivosti

<b>Parametar validacije</b>	<b>Kriterij prihvatljivosti</b>
linearnost	$R^2 \geq 0,99$
preciznost: - ponovljivost - međupreciznost	RSD $\leq$ 10% RSD $\leq$ 15%
istinitost	$\pm 15\%$

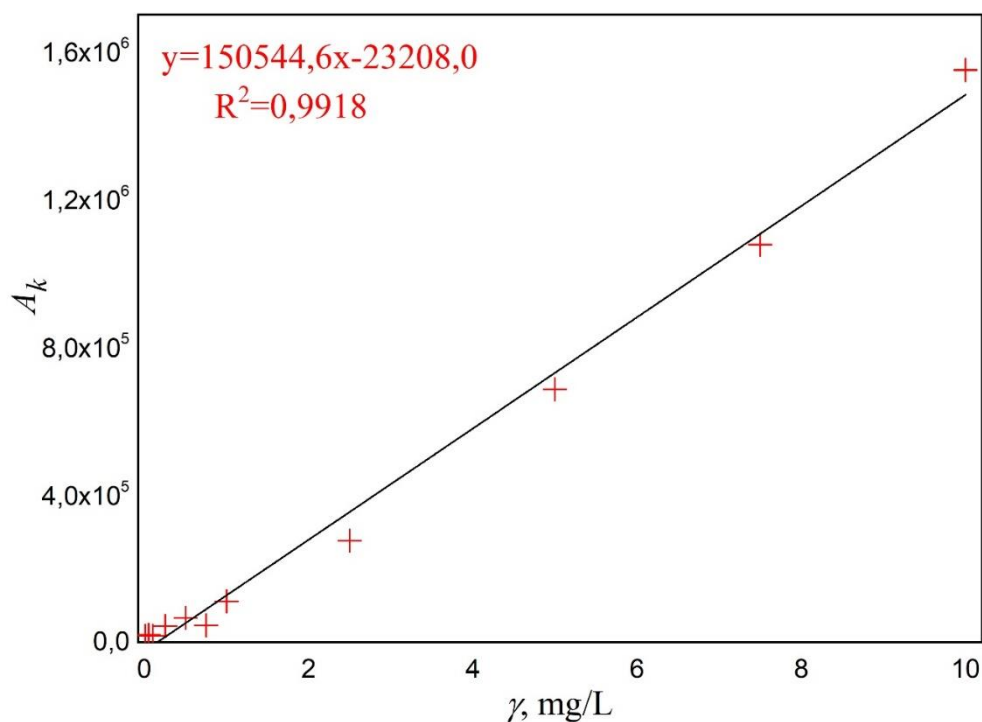
### 4.2.1. Linearnost

Linearno područje metode određeno je izradom umjernog pravca. Postupak umjeravanja proveden je mjerenjem površine ispod kromatografske vrpce ( $A_k$ ) za standardne otopine HCQ različitih koncentracija.

Dobiveni rezultati (tablice P1 i P2) prikazani su grafički (slike 23 i 24) te su regresijskom analizom određene jednadžbe pravaca i koeficijenti determinacije.



**Slika 23.** Umjerni pravac metode HPLC-FLD

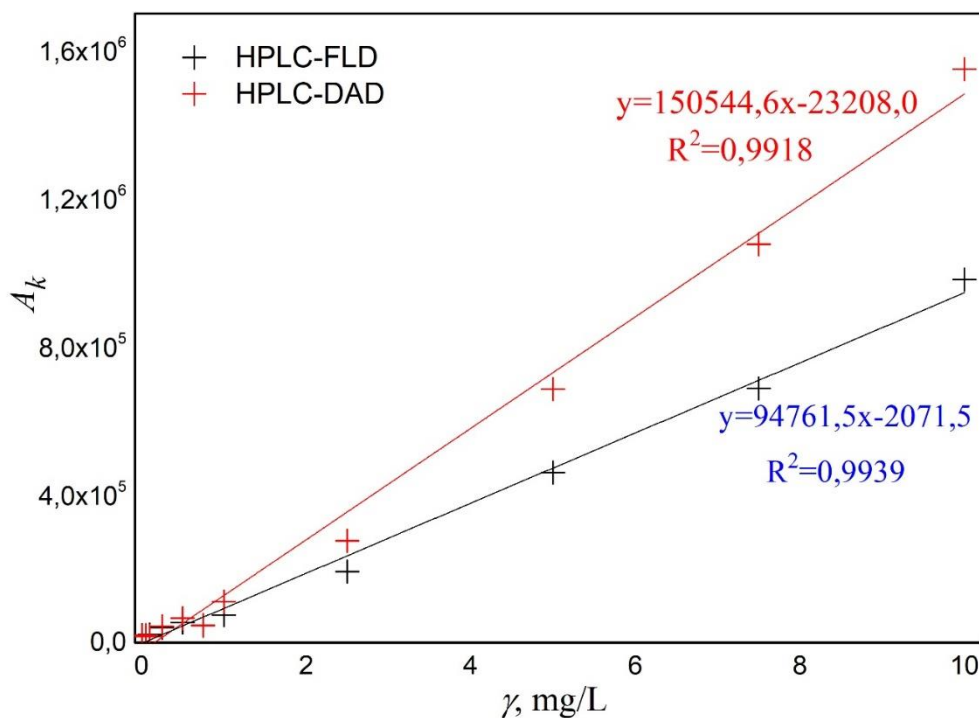


**Slika 24.** Umjerni pravac metode HPLC-DAD

Iz prikazanih vrijednosti koeficijenti determinacije u oba slučaja zadovoljavaju postavljeni kriterija  $R^2 \geq 0,99$ . Obje metode imaju zadovoljavajući  $R^2$ , odnosno linearnost u koncentracijskom području 0,005 mg/L - 10,0 mg/L.

## 4.2.2. Osjetljivost

Osjetljivost metode određuje se iz jednadžbe umjernog pravca i jednaka je nagibu umjernog pravca. Usporedba nagiba umjernih pravaca za metode HPLC-FLD i HPLC-DAD prikazana je na slici 25.



Slika 25. Usporedba nagiba umjernih pravaca

Na slici 25 vidljivo je da se nagibi umjernih pravaca kod metoda HPLC-FLD i HPLC-DAD znatno razlikuju. S obzirom da je nagib umjernog pravca metode HPLC-DAD veći može se zaključiti da je metoda HPLC-DAD osjetljivija od metode HPLC-FLD.

## 4.1.3. Preciznost

Preciznost je izraz slaganja rezultata ponovljenih mjerenja izvedenih iz istog homogenog uzorka pod propisanim uvjetima. U ovom radu preciznost je iskazana kao ponovljivost i međupreciznost.

✓ PONOVLJIVOST

Ispitana je ponovljivost pripreme standardne otopine HCQ u koncentracijama koje su unutar linearnog područja (0,15 mg/L, 4,0 mg/L i 8,0 mg/L). Svaka otopina pripremljena je pet puta i jednom injektirana. Očitane površine ispod pikova prikazane su u tablicama P3 i P4, a rezultati u tablici 6.

**Tablica 6.** Rezultati procjene ponovljivosti

<b>PONOVLJIVOST</b>		
<b><math>\gamma</math>, mg/L</b>	<b>HPLC-FLD</b>	<b>HPLC-DAD</b>
0,15	1,69%	4,33%
4,0	1,87%	5,57%
8,0	1,29%	2,91%

Kao što se može vidjeti iz prikazanih rezultata, za obje ispitivane metode zadovoljen je kriterij prihvatljivosti ( $RSD \leq 10\%$ ) pri svim ispitivanim koncentracijama. Bolji rezultati ponovljivosti odnosno niže RSD vrijednosti, postignuti su metodom HPLC-FLD, što je i očekivano.

✓ MEĐUPRECIZNOST

Međupreciznost je određena iz rezultata ponovljenih mjerenja provedenih u dva različita dana, a rezultati su prikazani u tablici 7.

**Tablica 7.** Rezultati procjene međupreciznosti

<b>MEĐUPRECIZNOST</b>		
<b><math>\gamma</math>, mg/L</b>	<b>HPLC-FLD</b>	<b>HPLC-DAD</b>
0,15	1,96%	20,2%
4,0	7,55%	11,5%
8,0	4,28%	5,72%

Kao što se može vidjeti iz prikazanih rezultata, za obje ispitivane metode zadovoljen je kriterij prihvatljivosti ( $RSD \leq 15\%$ ) pri svim ispitivanim koncentracijama, osim za najnižu

koncentraciju mjerenu metodom HPLC-DAD. Bolji rezultati međupreciznosti postignuti su metodom HPLC-FLD, što je i očekivano.

#### 4.1.4. Istinitost

Istinitost se određuje kao odstupanje srednje vrijednosti niza izmjerenih vrijednosti od prave ili referentne vrijednosti, odnosno poznate koncentracije. U ovom radu istinitost rezultata mjerenja određena je na temelju pet uzastopnih mjerenja standardnih otopina hidroksioklorokina koncentracije 8,0 mg/L, 4,0 mg/L i 0,15 mg/L.

Na temelju dobivenih rezultata izračunato je srednje iskorištenje određivanja hidroksiklorokina u izvorskoj vodi.

Srednje vrijednosti iskorištenja su:

$$\text{HPLC-FLD: } I(0,15 \text{ mg/L}) = 136,2\%$$

$$I(4,0 \text{ mg/L}) = 88,5\%$$

$$I(8,0 \text{ mg/L}) = 99,7 \%$$

$$\text{HPLC-DAD: } I(0,15 \text{ mg/L}) = 88,0\%$$

$$I(4,0 \text{ mg/L}) = 79,7\%$$

$$I(8,0 \text{ mg/L}) = 111,0\%$$

Na temelju postavljenih kriterija prikazanih u tablici 5 može se zaključiti da metoda HPLC-FLD zadovoljava kod koncentracija 4,0 mg/L i 8,0 mg/L, dok pri najmanjoj ispitanoj koncentraciji od 0,15 mg/L iskorištenje je izvan zadanog intervala. Metoda HPLC-DAD zadovoljava kriterij istinitosti za najmanju ispitanu koncentraciju od 0,15 mg/L i najveću ispitanu koncentraciju od 8,0 mg/L, dok pri koncentraciji od 4,0 mg/L iskorištenje je izvan zadanog intervala (85 - 115%).

#### 4.1.5. Granica detekcije i granica kvantifikacije

Granica detekcije i granica kvantifikacije određene su prema jednadžbama (7) - (9) na temelju rezultata ponovljenih mjerenja otopina HCQ koncentracija od 0,10 mg/L (za HPLC-DAD) i 0,05 mg/L (za HPLC-FLD). Pripremljene otopine injektirane su deset puta, očitane su površine ispod pikova, izračunate su vrijednosti  $s_0$  (HPLC-DAD)=0,006 mg/L i  $s_0$  (HPLC-

FLD)=0,002 mg/L te naposljetku granice detekcije i kvantifikacije:

LOD (HPLC-DAD) = 0,019mg/L

LOQ(HPLC-DAD) = 0,059mg/L

LOD (HPLC-FLD) = 0,007mg/L

LOQ (HPLC-FLD) = 0,021 mg/L

Iz dobivenih rezultata metodom HPLC-FLD na nižim vrijednostima može se kvalitativno i kvantitativno detektirati HCQ.

#### **4.1.6. Radno područje**

Radno područje metode definirano je kao raspon između gornje i donje koncentracije analita u uzorku unutar kojega se HCQ može kvantificirati uz zadovoljavajuću linearnosti, preciznost i istinitost. S obzirom na rezultate ponovljivosti pri koncentraciji granice kvantifikacije (za HPLC-FLD RSD=2,54%, za HPLC-DAD RSD=23,1%) te lošije rezultate postignute tijekom procjene istinitosti pri niskoj koncentraciji, za donju granicu radnog područja postavljena je koncentracija je 0,50 mg/L za metodu HPLC-DAD, te 0,25 mg/L za metodu HPLC-FLD.

HPLC-DAD: donja koncentracija: 0,50 mg/L

gornja koncentracija: 10,0 mg/L

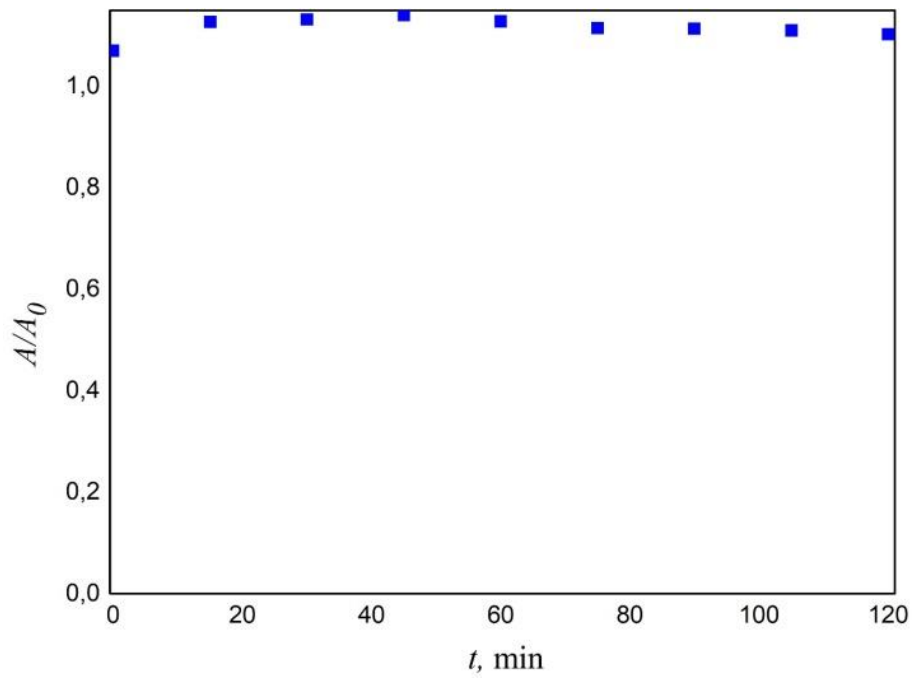
HPLC-FLD: donja koncentracija: 0,25 mg/L

gornja koncentracija: 10,0 mg/L

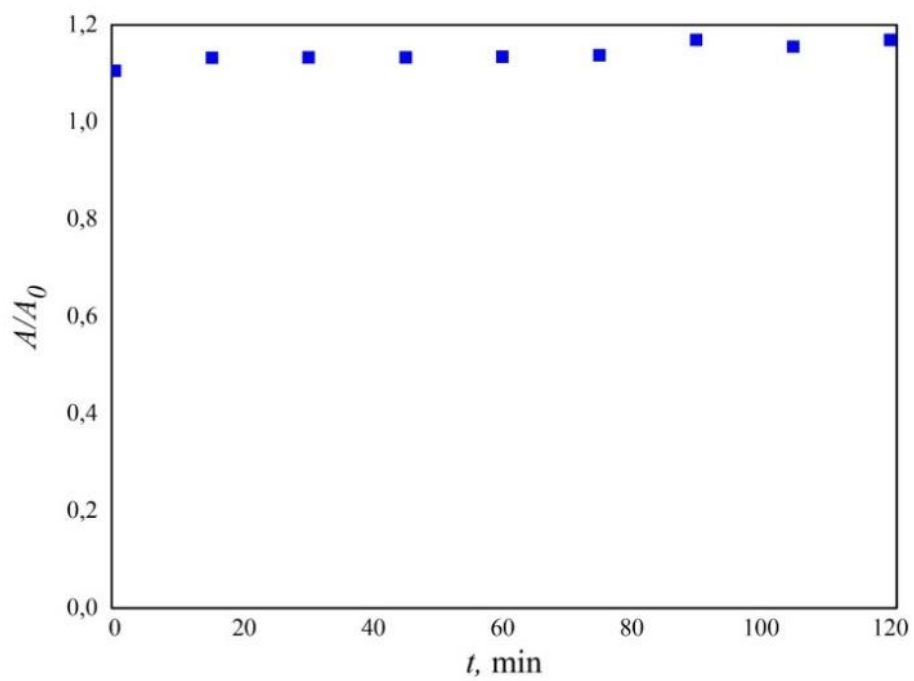
### **4.4. Fotolitička razgradnja hidroksiklorokina**

Fotolitička razgradnja HCQ praćena je osvjetljavanjem svjetiljkom sa zračenjem sličnim Sunčevom, halogenom svjetiljkom te LED svjetiljkama valnih duljina 365 nm i 405 nm. Fotolitička razgradnja praćena je snimanjem apsorpcijskih spektara. Promjena koncentracije hidroksiklorokina prikazana je na slikama 26 - 29 kao omjer  $A/A_0$  u ovisnosti o trajanju izlaganja zračenju, pri čemu je  $A_0$  apsorbanacija početne otopine prije fotolize, a  $A$  je apsorbanacija otopine nakon određenog vremena ( $t$ ) trajanja procesa. Iz dobivenih rezultata uočeno je da se koncentracija HCQ smanjuje tijekom ispitivanih procesa.

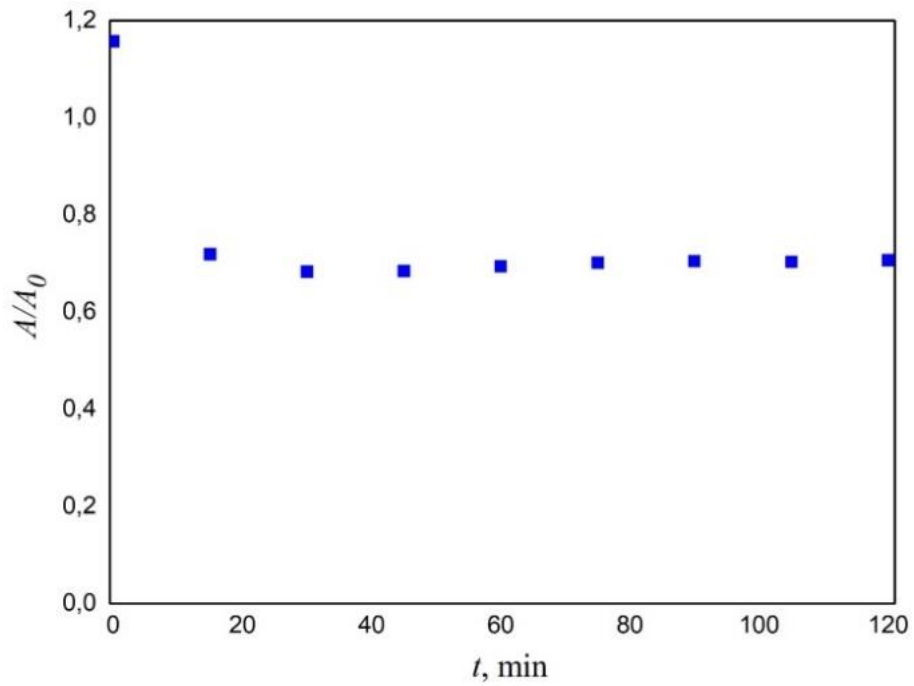




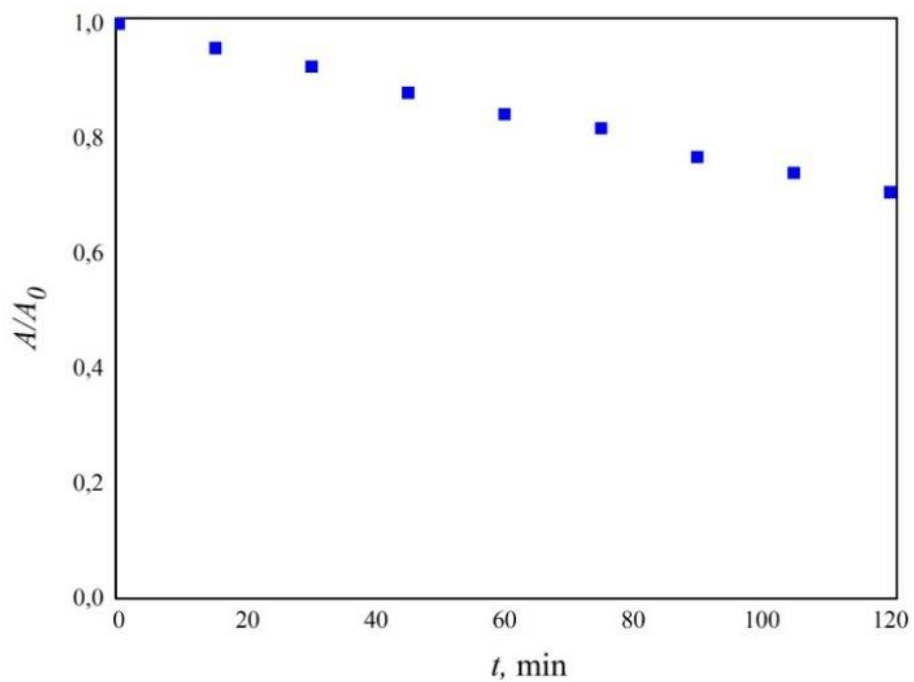
**Slika 26.** Promjena koncentracije HCQ tijekom osvjetljavanja LED svjetiljkom (365 nm)



**Slika 27.** Promjena koncentracije HCQ tijekom osvjetljavanja LED svjetiljkom (405 nm)



**Slika 28.** Promjena koncentracije HCQ tijekom osvjetljavanja halogenom svjetiljkom



**Slika 29.** Promjena koncentracije HCQ tijekom osvjetljavanja svjetiljkom sa zračenjem sličnim Sunčevom

Na slikama 26 i 27 možemo vidjeti da se osvjetljavanjem otopine hidroksiklorokina LED svjetiljkama koje emitiraju zračenje valnih duljina 365 nm i 405 nm u vremenskom periodu od 120 min ne dolazi do razgradnje HCQ. Na slici 28 može se uočiti da osvjetljavanje otopine

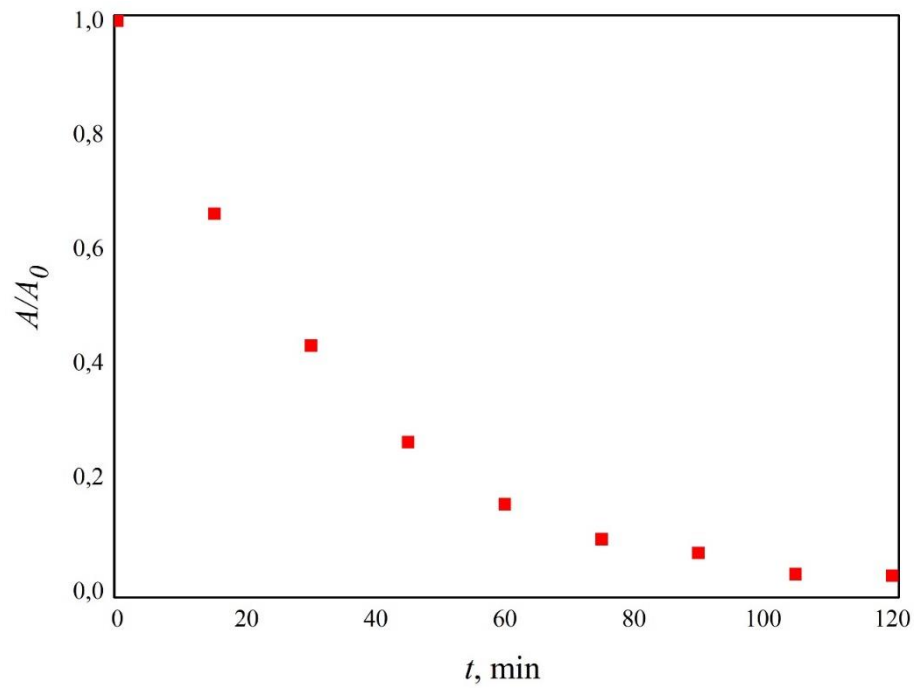
HCQ s halogenom svjetiljkom u prvih 15 minuta osvjetljavanja dolazi do naglog smanjenja koncentracije HCQ (oko 30%). Nastavak osvjetljavanja otopine HCQ halogenom svjetiljkom nije pokazalo daljnje smanjenje koncentracije HCQ. Na slici 29 možemo vidjeti da osvjetljavanje otopine HCQ svjetiljkom sa zračenjem sličnim Sunčevom pokazuje 30%-tno smanjenje početne koncentracije HCQ u vremenskom periodu od 120 minuta.

## **4.5. Fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina**

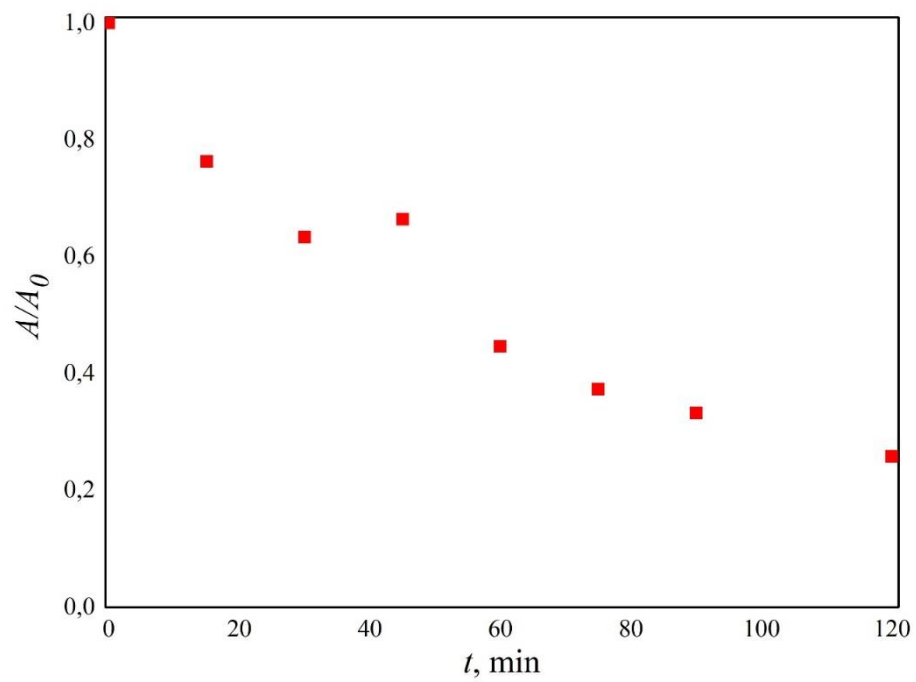
Fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina provedena je s titanijevim dioksidom u suspenziji i u obliku tankog filma. Fotokatalitička razgradnja HCQ praćena je osvjetljavanjem svjetiljkom sa zračenjem sličnim Sunčevom, halogenom svjetiljkom te LED svjetiljkama valnih duljina 365 nm i 405 nm. Fotokatalitička razgradnja praćena je snimanjem apsorpcijskih spektara. Promjena koncentracije hidroksiklorokina praćena je kao omjer  $A/A_0$  u ovisnosti o trajanju izlaganja zračenju, pri čemu je  $A_0$  apsorbancija početne otopine prije fotokatalize, a  $A$  je apsorbancija otopine nakon određenog vremena ( $t$ ) trajanja procesa. Kao što je i očekivano prisutnost fotokatalizatora uzrokovala je razgradnju farmaceutika hidroksiklorokina.

### **4.5.1. Fotokatalitička razgradnja s $TiO_2$ tankim filmom**

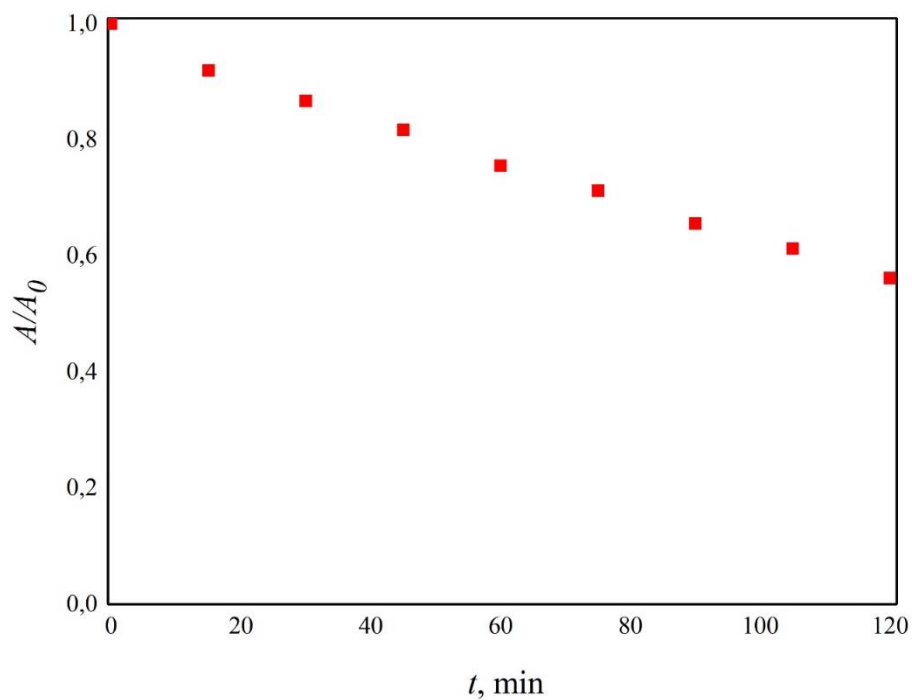
Fotokatalitička razgradnja HCQ provedena je s  $TiO_2$  tankim filmom nanesenim na stakleni prsten. Kod fotolitičkih eksperimenata HCQ se nije razgrađivao. Prisutnost titanijevog dioksida uz primjenu zračenja kao kod fotolize, omogućila je nastajanje hidroksil radikala koji su sudjelovali u razgradnji farmaceutika. Na slikama 30 - 33 prikazana je promjena koncentracije HCQ u ovisnosti o vremenu tijekom fotokatalitičke razgradnje uz tanki film  $TiO_2$  kao fotokatalizator.



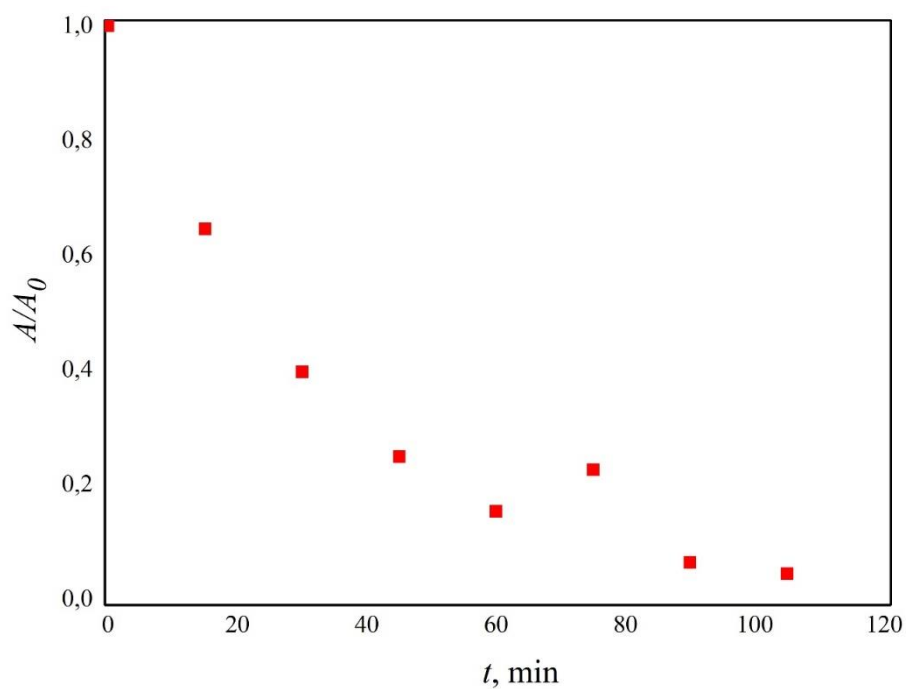
**Slika 30.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 365 nm, TiO<sub>2</sub> film



**Slika 31.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 405 nm, TiO<sub>2</sub> film



**Slika 32.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, halogena svjetiljka, TiO<sub>2</sub> film

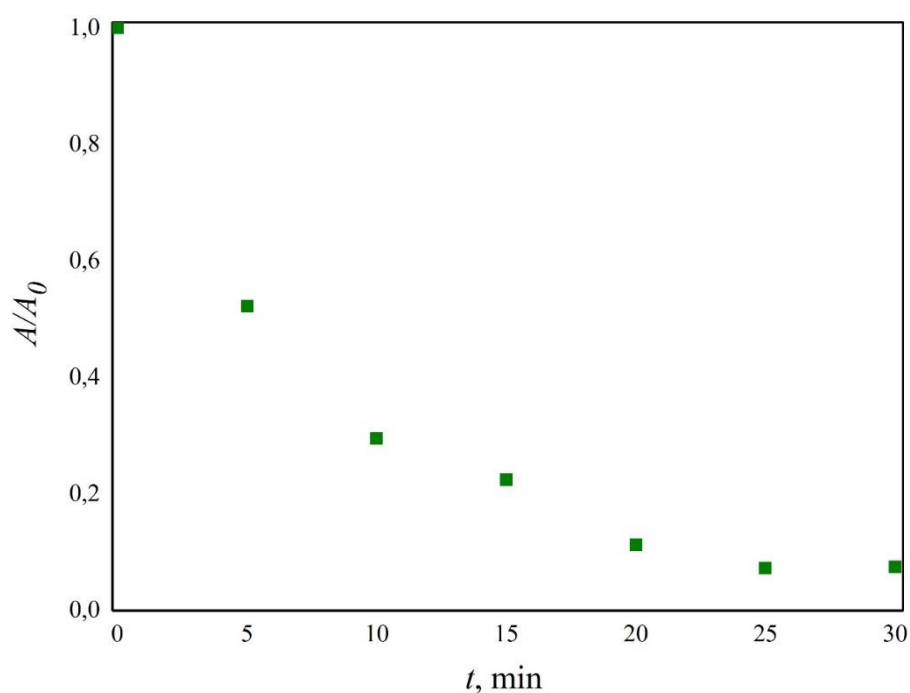


**Slika 33.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom, TiO<sub>2</sub> film

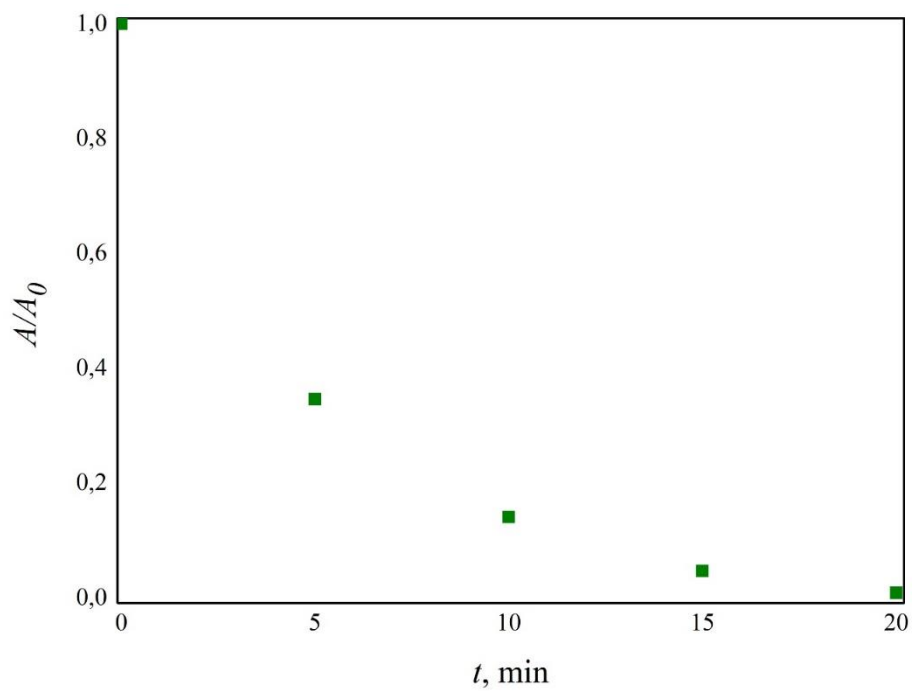
Kao što se može vidjeti iz prikazanih dijagrama na slikama 30 - 33 fotokatalizator TiO<sub>2</sub> ubrzao je razgradnju HCQ. Najbrža razgradnja uočena je uz zračenje LED svjetiljkom 365 nm, a najsporija uz osvjetljavanje halogenom svjetiljkom.

## 4.5.2. Fotokatalitička razgradnja s TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzije

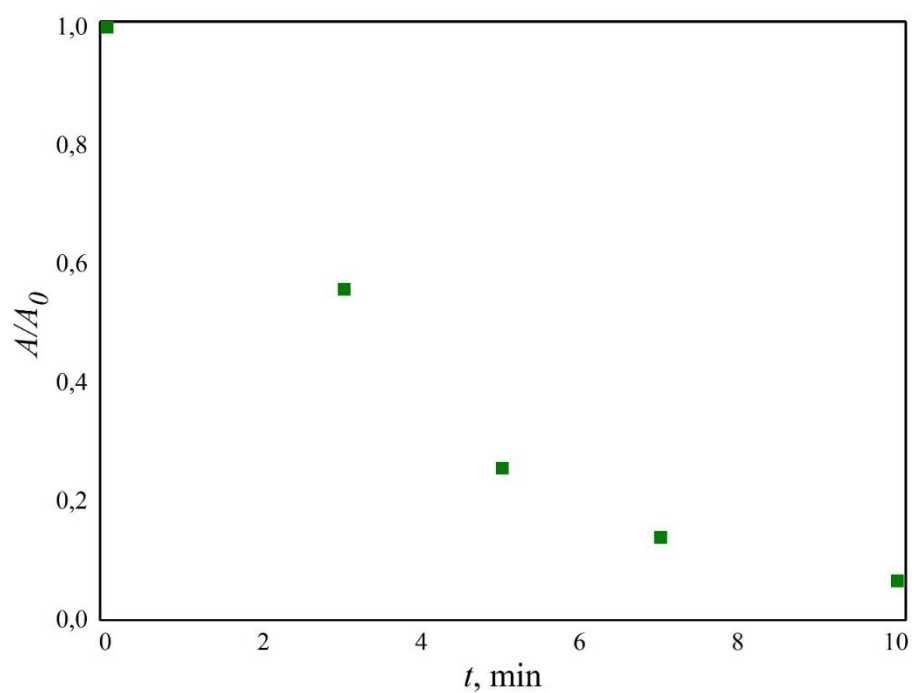
Fotokatalitička razgradnja hidroksiklorokina provedena je s TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzija različitih koncentracija TiO<sub>2</sub> (0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 1 mg/mL i 2 mg/mL). Kako se kod fotokatalitičke razgradnje farmaceutika HCQ pokazalo da zračenje LED svjetiljkom 365 nm daje najbržu razgradnju, daljnja fotokatalitička ispitivanja su provedena uz zračenje LED svjetiljkom 365 nm.



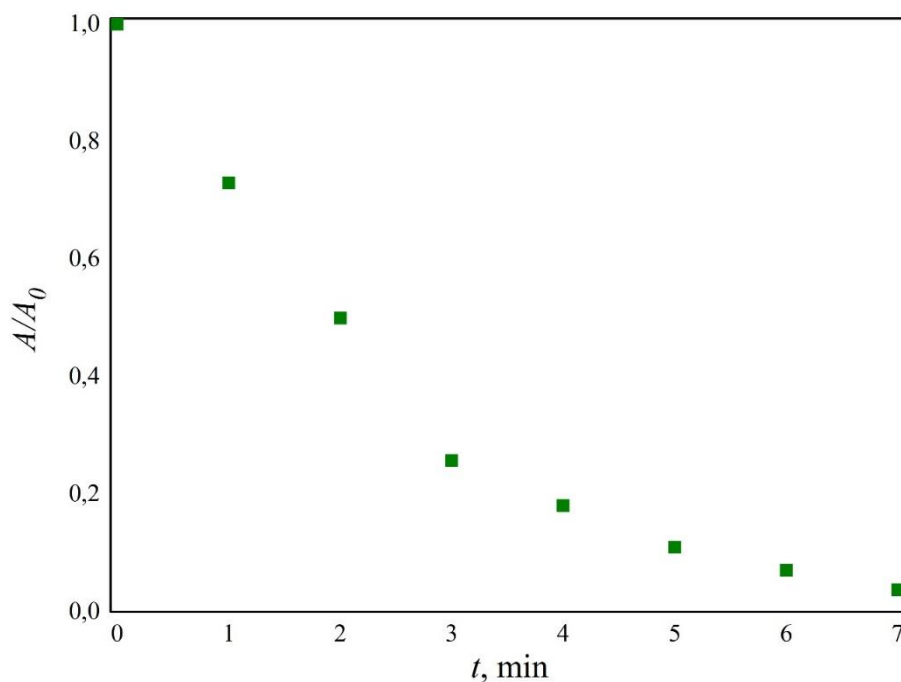
**Slika 34.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 365 nm, 0,10 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 35.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 365 nm, 0,50 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 36.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 365 nm, 1 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 37.** Fotokatalitička razgradnja HCQ, LED 365 nm, 2 mg TiO<sub>2</sub>/mL

Kao što se može vidjeti iz prikazanih dijagrama na slikama 34 - 37 razgradnja farmaceutika HCQ uz prisutnost fotokatalizatora TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzije jako je brza. Uočeno je da se porastom koncentracije TiO<sub>2</sub> skraćuje vrijeme potrebno za potpunu razgradnju farmaceutika HCQ. Najsporija razgradnja uočena je pri koncentraciji 0,10 mg TiO<sub>2</sub>/mL, a najbrža razgradnja HCQ uočena je kod koncentracije 2 mg TiO<sub>2</sub>/mL pri čemu je bilo potrebno samo 7 minuta za potpunu razgradnju HCQ.

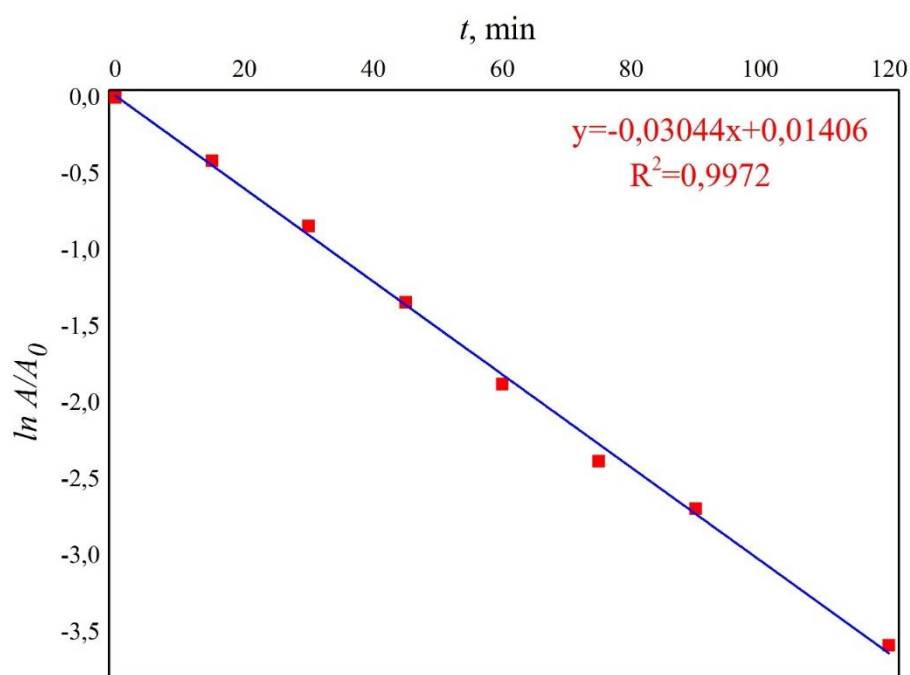
## 4.6. Kinetika razgradnje hidroksiklorokina

Koristeći fotokatalizator TiO<sub>2</sub> (film i suspenzija) uočeno je smanjenje koncentracije HCQ-a uz različite izvore zračenja. Kinetika fotokatalitičke razgradnje HCQ prikazana je grafički kao ovisnost  $\ln(A/A_0)$  o vremenu ( $t$ ). Kinetika fotokatalitičke razgradnje HCQ određena je prema gore navedenim jednadžbama (19) i (20).

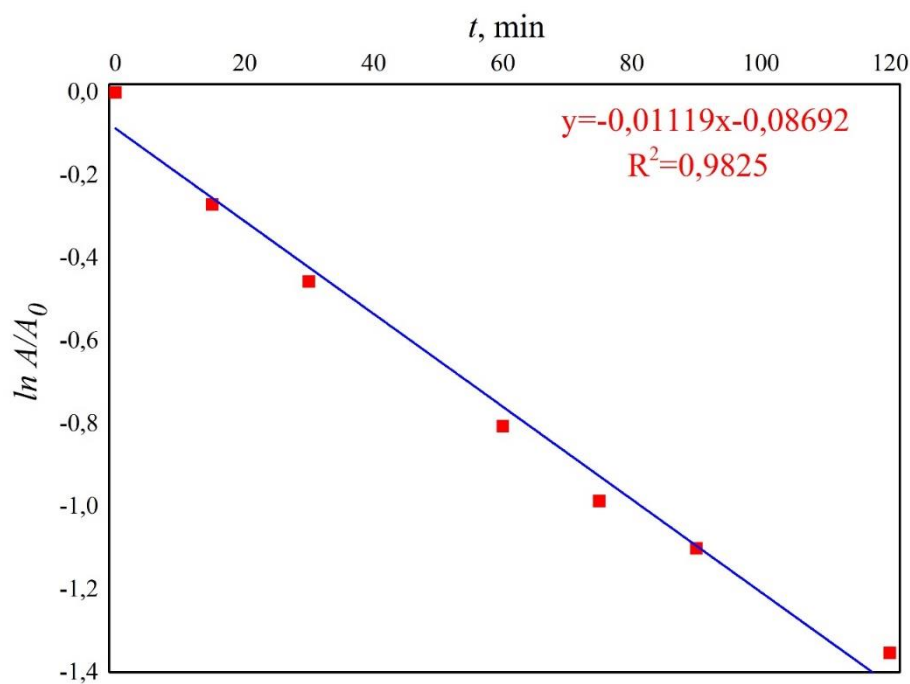
### 4.6.1. Kinetika fotokatalitičke razgradnje s TiO<sub>2</sub> tankim filmom

Kinetika fotokatalitičke razgradnje HCQ s TiO<sub>2</sub> u obliku tankog filma na staklenom prstenu prikazana je na slikama 38 - 41.

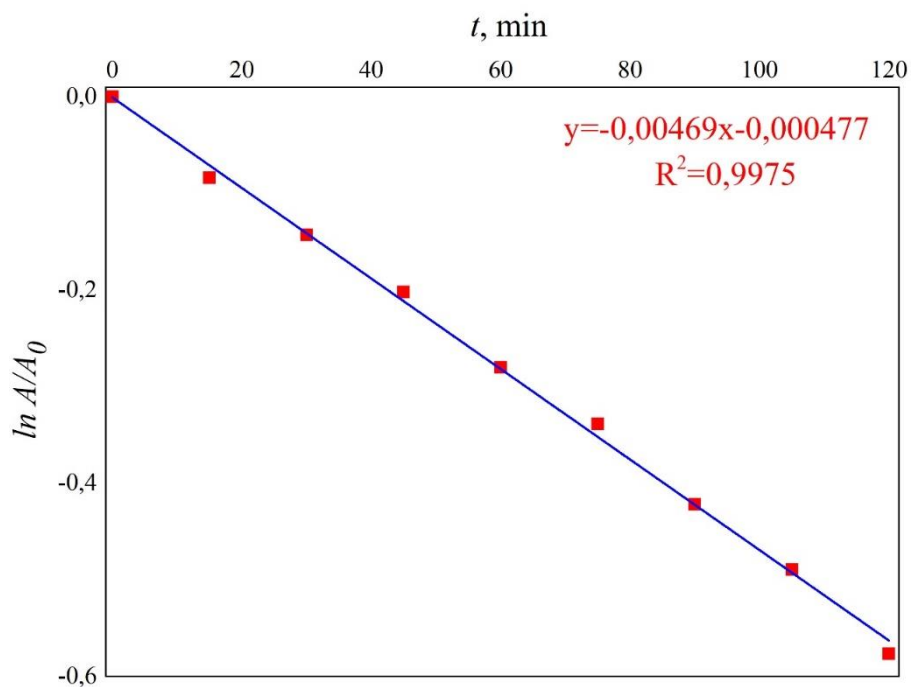




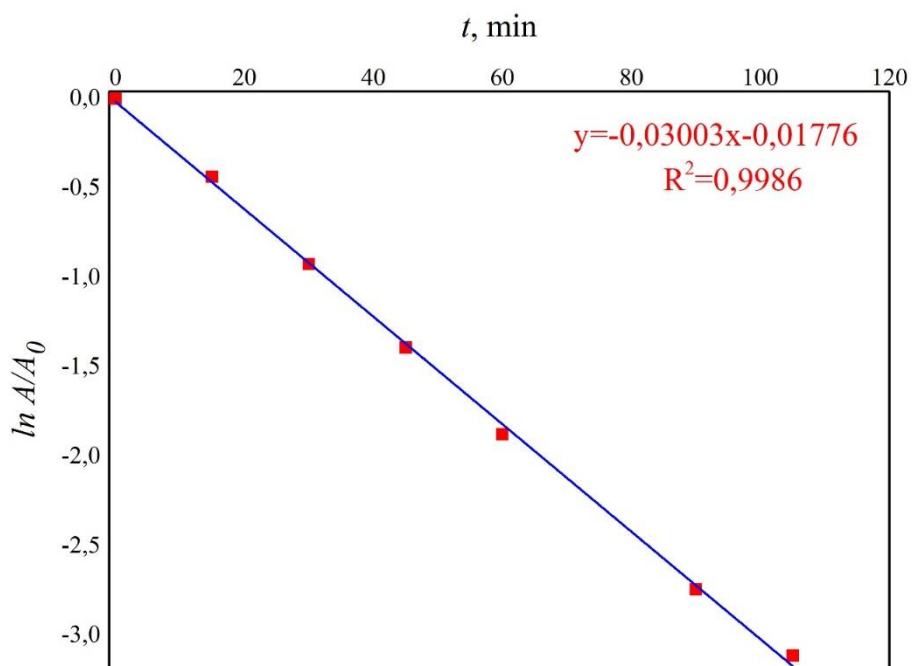
**Slika 38.** Kinetika razgradnje HCQ, LED svjetiljka 365 nm, TiO<sub>2</sub> film



**Slika 39.** Kinetika razgradnje HCQ, LED svjetiljka 405 nm, TiO<sub>2</sub> film



**Slika 40.** Kinetika razgradnje HCQ, halogena svjetiljka, TiO<sub>2</sub> film



**Slika 41.** Kinetika razgradnje HCQ, svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom, TiO<sub>2</sub> film

Izračunate konstante brzine razgradnje ( $k$ ) te vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) HCQ prikazani su u tablici 8.

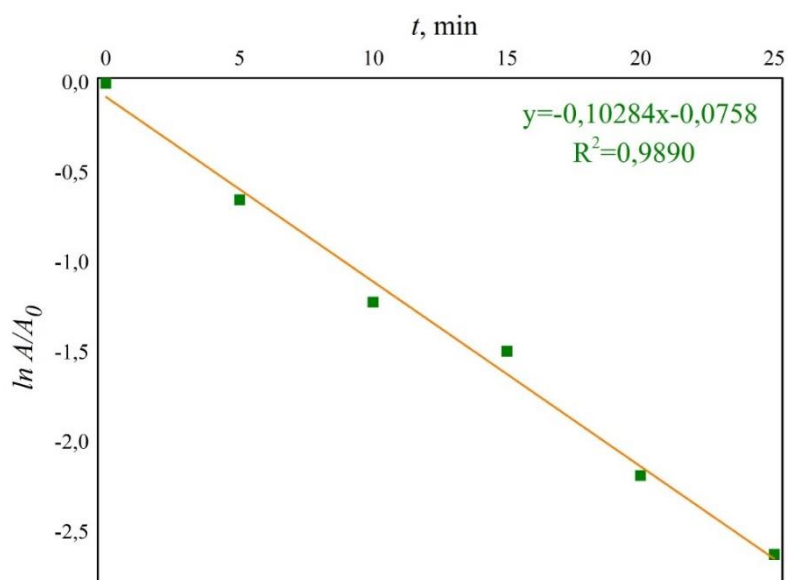
**Tablica 8.** Konstante brzine razgradnje i vremena poluraspada HCQ-a

Izvor zračenja	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (min)
LED svjetiljka 365 nm	0,03044	22,8
Svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom	0,03003	23,1
LED svjetiljka 405 nm	0,01119	61,9
Halogena svjetiljka	0,00469	147,8

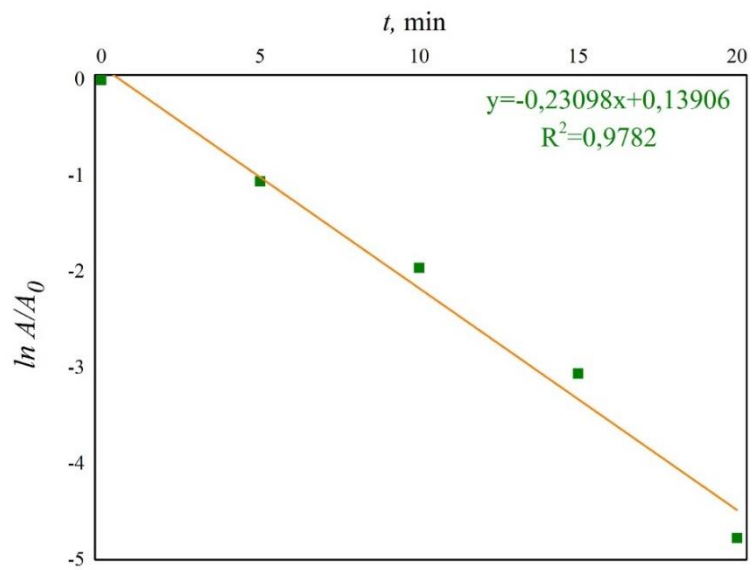
Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da fotokatalitička razgradnja u kojoj je kao fotokatalizator korišten TiO<sub>2</sub> u obliku filma slijedi reakciju prvog reda s koeficijentom determinacije ( $R^2$ ) većim od 0,98. Razgradnja HCQ najbrža je uz zračenje LED svjetiljkom valne duljine zračenja 365 nm dok je nešto sporija razgradnja uočena pri osvjetljavanju svjetiljkom sa zračenjem sličnim Sunčevom. Najsporija razgradnja uočena je pri izlaganju halogenoj svjetiljci.

#### 4.6.2. Kinetika fotokatalitičke razgradnje s TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzije

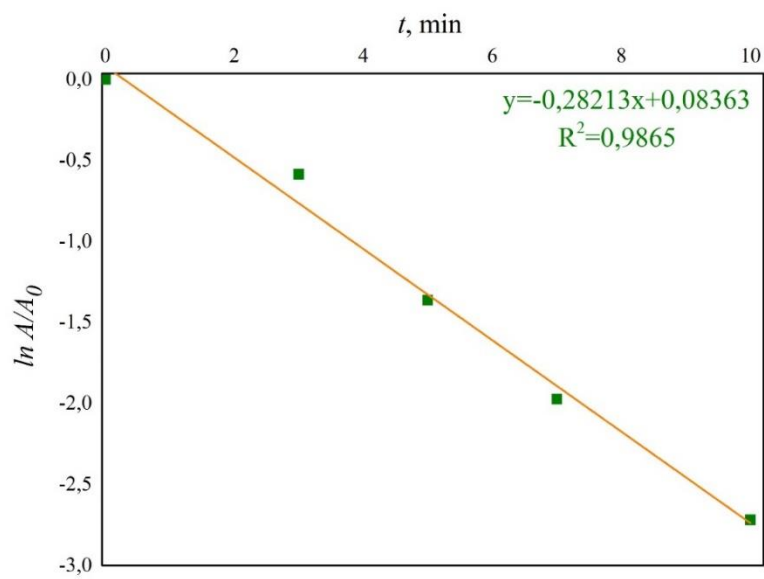
Kinetika fotokatalitičke razgradnje HCQ s TiO<sub>2</sub> fotokatalizatorom u obliku suspenzije prikazana je na slikama 42 - 45.



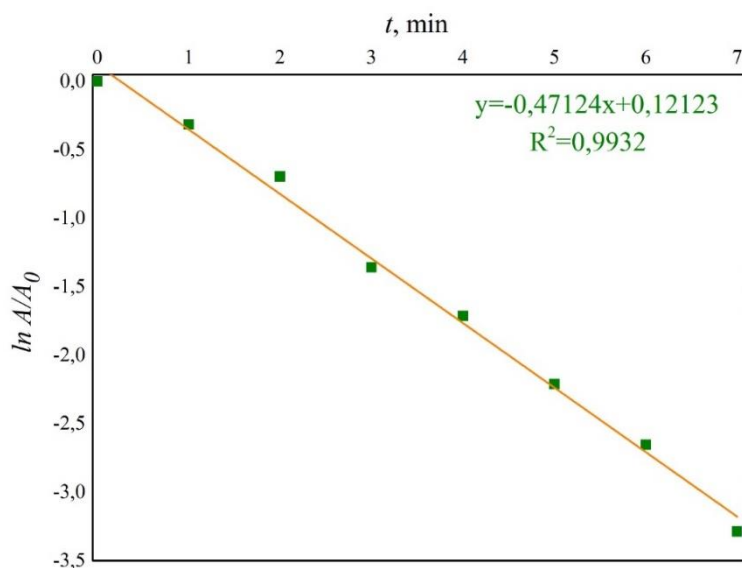
**Slika 42.** Kinetika razgradnje HCQ-a, LED 365 nm, 0,10 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 43.** Kinetika razgradnje HCQ, LED 365 nm, 0,5 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 44.** Kinetika razgradnje HCQ, LED 365 nm, 1 mg TiO<sub>2</sub>/mL



**Slika 45.** Kinetika razgradnje HCQ, LED 365 nm, 2 mg TiO<sub>2</sub>/mL

Izračunate konstante brzine razgradnje ( $k$ ) te vremena poluraspada ( $t_{1/2}$ ) HCQ prikazani su u tablici 9.

**Tablica 9.** Konstante brzine razgradnje i vremena poluraspada HCQ-a

koncentracija TiO <sub>2</sub> (mg)	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (min)
0,1	0,10284	6,74
0,5	0,23098	3,00
1,0	0,28213	2,46
2,0	0,47124	1,47

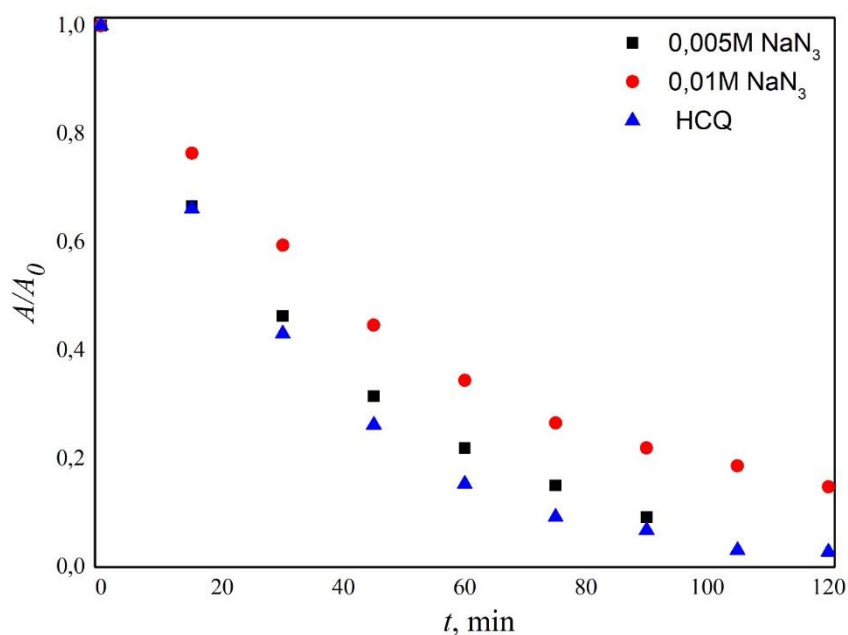
Fotokatalitička razgradnja HCQ uz fotokatalizator TiO<sub>2</sub> u obliku suspenzije slijedi reakciju prvog reda. Na temelju vrijednosti konstanti brzine razgradnje i vremena poluraspada, prikazanih u tablici 9, može se zaključiti da je razgradnja HCQ najbrža pri najvećoj koncentraciji TiO<sub>2</sub>, a sa smanjenjem koncentracije TiO<sub>2</sub> brzina razgradnje se usporava.

### 4.6.3. Mehanizam fotokatalitičke razgradnje hidroksiklorokina

Razgradnja organskih komponenata zasniva na radikalskom mehanizmu napada na dvostruke C-C veze. Slobodni radikali mogu biti atomi, molekule ili ioni koji sadrže barem jedan nesporeni elektron u vanjskom elektronskom omotaču, zbog čega su vrlo reaktivni, nestabilni

i imaju visok energetski potencijal. Dearomatizacija komponenata je brz postupak. Alifatska veza na aromatskom prstenu lako puca. Mineralizacija do  $\text{CO}_2$  je vrlo spor proces, jer dolazi do nastajanja vrlo stabilnih intermedijera. Radikali koji potječu od kisika predstavljaju najznačajniju vrst slobodnih radikala, a najčešći su hidroksil, peroksil i superoksid radikal te singletni kisik.

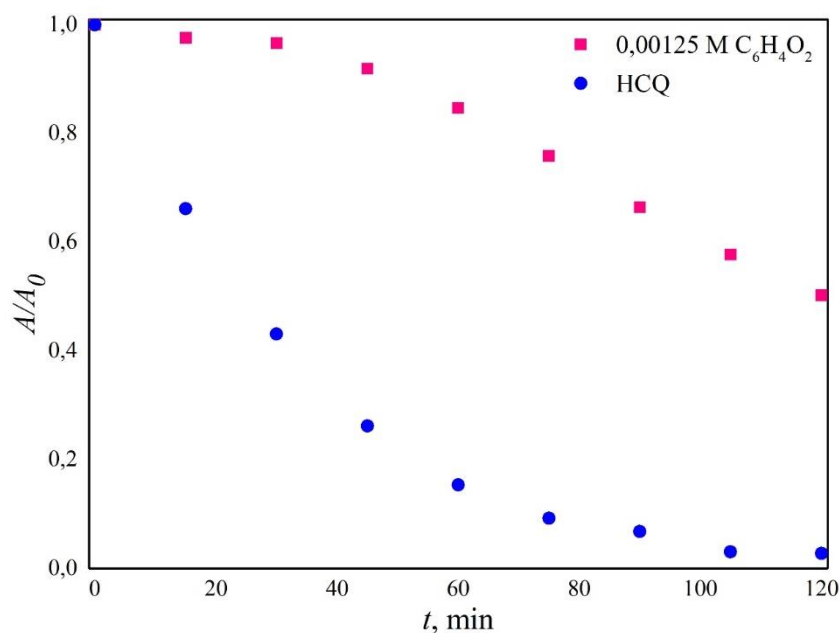
Kako bi se utvrdio mehanizam fotokatalitičke razgradnje farmaceutika HCQ-a uz prisutnost  $\text{TiO}_2$ , proučavan je utjecaj triju „hvatača“ elektrona, tj. radikala (metanol, benzokinon i natrijev azid) na fotokatalitičku razgradnju hidroksiklorokina.



**Slika 46.** Fotokatalitička razgradnja HCQ bez i uz  $\text{NaN}_3$

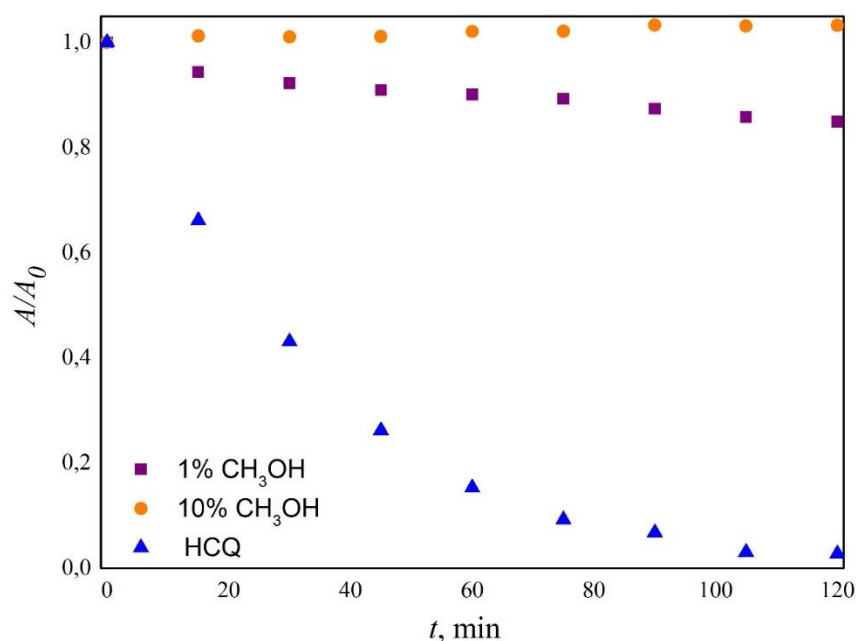
Natrijev azid korišten je kao „hvatač“ singletnog kisika ( $^1\text{O}_2$ ). Singletni (aktivirani) oblici kisika nastaju u fotokemijskim ili termičkim reakcijama premještanjem jednog nesparenog elektrona iz nevezne  $\pi^*$  orbitale molekula kisika, imaju visok sadržaj energije i veoma lako mogu započeti slobodne radikalne reakcije.

Na slici 46 prikazana je ovisnost  $A/A_0$  o vremenu osvjjetljavanja otopine HCQ sa i bez  $\text{NaN}_3$ . Natrijev azid usporava razgradnju HCQ pri višim koncentracijama. Uspoređujući profile razgradnje HCQ bez i uz 0,005 M  $\text{NaN}_3$  uočeno je usporavanje razgradnje pri većoj koncentraciji natrijevog azida što upućuje na zaključak da singletni kisik ima ulogu u fotokatalitičkoj razgradnji HCQ.



**Slika 47.** Fotokatalitička razgradnja HCQ bez i uz C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

Benzokinon je korišten kao „hvatač“ superoksid radikala (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>). Superoksid radikal (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) nastaje jednoelektronskom redukcijom molekula kisika ili oksidacijom H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na različite načine. Na slici 47 uočavamo brže opadanje apsorbancije bez prisutnosti benzokinona. Prisutnost benzokinona u reaktoru značajno usporava brzinu razgradnje farmaceutika hidrosiklorokina. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da superoksid radikal igra važnu ulogu u razgradnji farmaceutika HCQ.



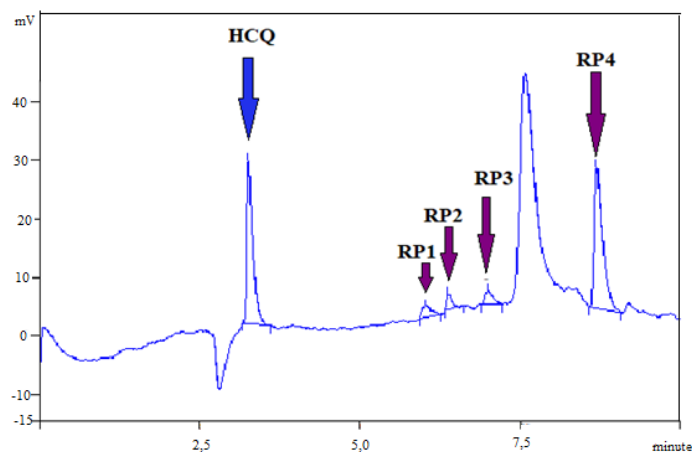
**Slika 48.** Fotokatalitička razgradnja HCQ bez i uz 1% i 10% MeOH

Pobuđivanjem fotokatalizatora,  $\text{TiO}_2$  dolazi do pobude elektrona i njegovog prelaska iz valentne u vodljivu vrpcu koji za sobom ostavlja šupljinu. Nastala šupljina, u nedostatku reducirajuće vrste, pretvara površinski adsorbiranu vodu ili hidroksilni ion u hidroksil radikal. Zbog njegove velike reaktivnosti i kratkog životnog vijeka, teško ga je dokazati. Hidroksil radikal  $\text{OH}^\bullet$  je najaktivniji i najtoksičniji reducirani oblik kisika. Uloga hidroksil radikala u fotokatalitičkoj razgradnji određena je pomoću metanola, „hvatača“ hidroksil radikala. Na slici 48 uočavamo da dodatak 1% i 10% metanola u radnu otopinu hidrksiklorokina dolazi do bitnog usporavanja fotokatalitičke razgradnje hidrksiklorokina, što upućuje na značajnu ulogu hidroksil radikala u razgradnji HCQ-a.

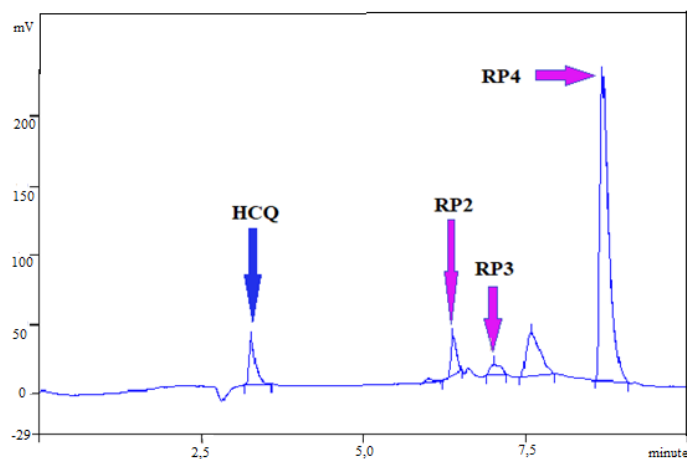
## **4.7. Produkti fotokatalitičke razgradnje**

Razvijene i validirane metode HPLC-FLD i HPLC-DAD korištene su za analizu uzoraka fotokatalitičke razgradnje HCQ osvijetljavani LED svjetiljkama 365 nm i 405 nm. Nakon provedene kromatografske analize, na kromatogramima (slike 49, 50 i 53) uočeni su novi pikovi, što je ukazivalo na pojavu novih spojeva - fotorazgradnih produkata.

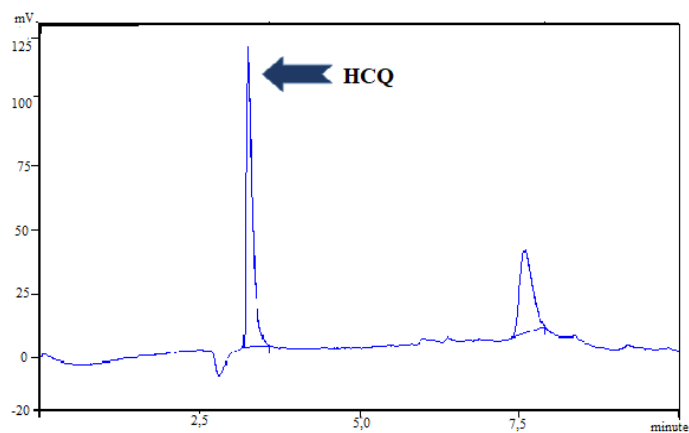




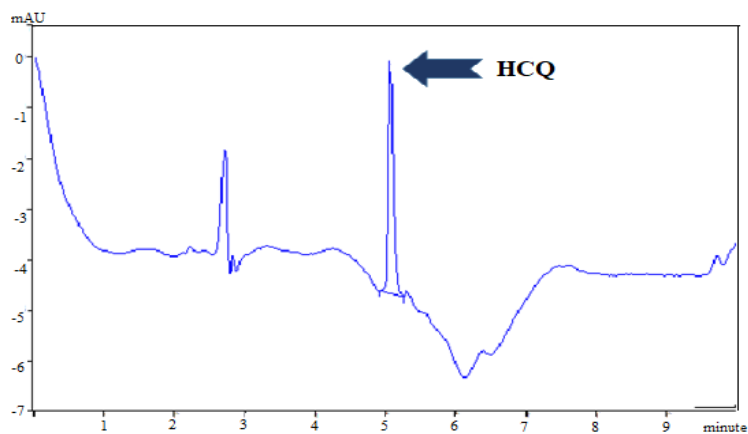
**Slika 49.** HPLC-FLD kromatogram HCQ s potencijalnim razgradnim produktima  
(LED 365 nm, TiO<sub>2</sub> tanki film, 120 min)



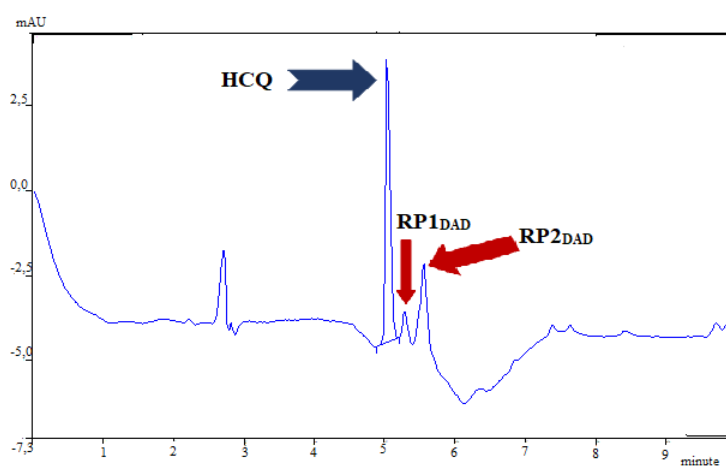
**Slika 50.** HPLC-FLD komatogram HCQ s potencijalnim razgradnim produktima  
(LED 405 nm, TiO<sub>2</sub> tanki film, 120 min)



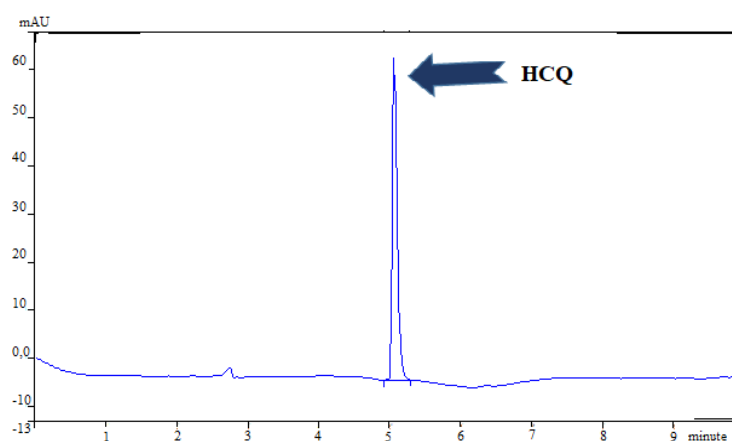
**Slika 51.** HPLC-FLD komatogram HCQ prije osvjetljavanja



**Slika 52.** HPLC-DAD kromatogram HCQ (LED 365 nm, TiO<sub>2</sub> tanki film, 120 min)



**Slika 53.** HPLC-DAD kromatogram HCQ (LED 405 nm, TiO<sub>2</sub> tanki film, 120 min)



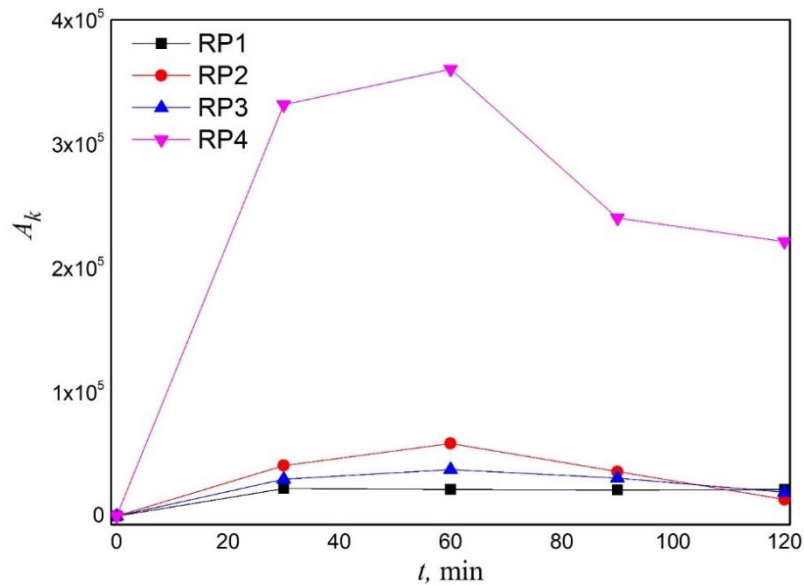
**Slika 54.** HPLC-DAD kromatogram HCQ prije osvjetljavanja

U tablici 10 prikazana su vremena zadržavanja HCQ i detektiranih razgradnih produkata.

**Tablica 10.** Vremena zadržavanja validirane kromatografske metode

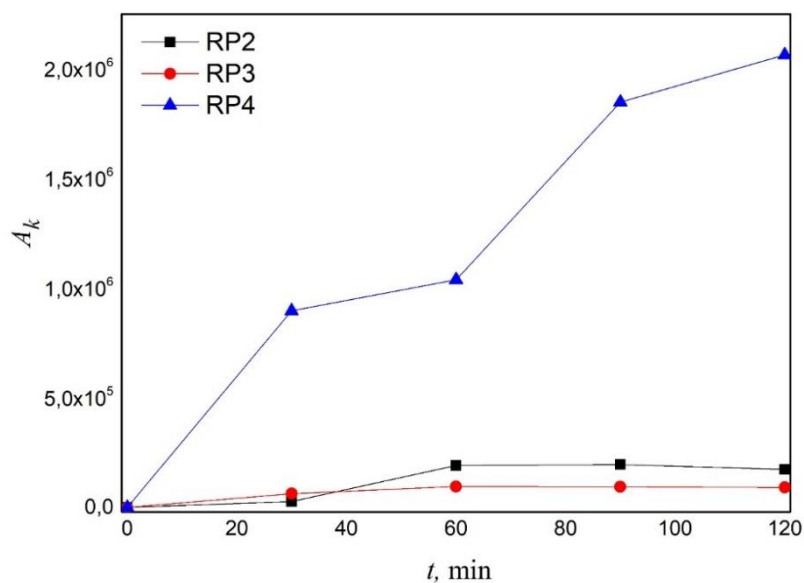
Izvor zračenja	$t_R$ (HCQ), min	$t_R$ (RP), min
<b>HPLC-FLD</b>		
LED svjetiljka 365 nm	3,2	RP1 6,0 RP2 6,4 RP3 7,0 RP4 8,7
LED svjetiljka 405 nm	3,2	RP2 6,4 RP3 7,0 RP4 8,7
<b>HPLC-DAD</b>		
LED svjetiljka 365 nm	5,03	-
LED svjetiljka 405 nm	5,05	RP1 5,3 RP2 5,5

Validiranom metodom HPLC-FLD u uzorcima nakon kod fotokatalitičke razgradnje uz LED svjetiljku 365 nm uočena su četiri razgradna produkta. Najveći odziv uočen je kod razgradnog produkta RP4, dok ostali razgradni produkti imaju manji maksimum odziva. Razgradni produkt RP4 maksimum odziva ima nakon 60 min osvjetljavanja te se zatim ubrzano počinje smanjivati. Ostalim razgradnim produktima maksimum odziva također se javlja kod 60 minute, ali se nastavkom osvjetljavanja kontinuirano smanjuje prema nuli. Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkta tijekom fotokatalitičkog procesa uz LED svjetiljku 365 nm, praćen kroz povećanje i smanjenje površine ispod kromatografskog pika ( $A_k$ ), prikazan je na slici 55.



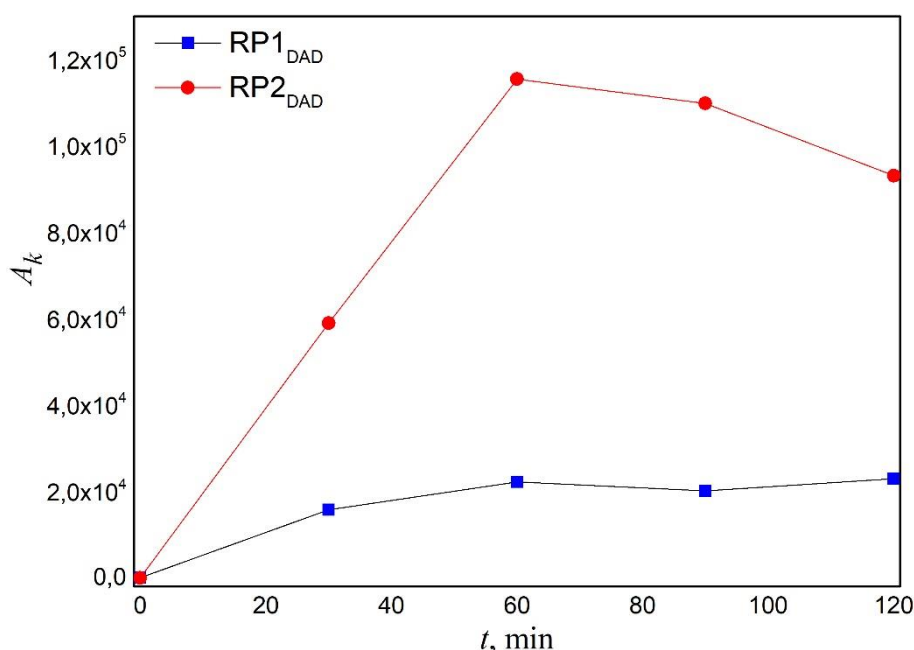
**Slika 55.** Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkata (TiO<sub>2</sub> film, LED 365 nm,  $t_R(\text{RP1})=6,0$  min,  $t_R(\text{RP2})=6,4$  min,  $t_R(\text{RP3})=7,0$  min,  $t_R(\text{RP4})=8,7$  min)

Validiranom metodom HPLC-FLD u uzorcima nakon fotokatalitičke razgradnje uz LED svjetiljku 405 nm uočena su tri razgradna produkta (RP2, RP3 i RP4). Razgradni produkt RP4 kontinuirano raste te u 120 minuti ima najveći odziv. Ostali razgradni produkti kontinuirano rastu do maksimalnog odziva koji se javlja pri 60 min nakon čega im se koncentracija ne smanjuje. Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkata tijekom fotokatalitičkog procesa uz LED svjetiljku 405 nm, praćen kroz povećanje i smanjenje površine ispod kromatografskog pika, prikazan je na slici 56.



**Slika 56.** Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkata (TiO<sub>2</sub> film, LED 405 nm,  $t_R(\text{RP2})=6,4$  min,  $t_R(\text{RP3})=7,0$  min i  $t_R(\text{RP4})=8,7$  min)

Validiranom metodom HPLC-DAD u uzorcima nakon razgradnje LED svjetiljkom 405 nm uočena su dva razgradna produkta. Najveći odziv uočen je kod razgradnog produkta RP2, dok razgradni produkt RP1 ima manji maksimum odziva. Razgradni produkt RP2 maksimum odziva ima kod 60 minute osvjetljavanja te se zatim počinje smanjivati. Kod razgradnog produkta RP1 odziv kontinuirano raste do 60 min nakon čega nema znatnijih promjena. Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkata tijekom fotokatalitičkog procesa uz LED svjetiljku 405 nm, praćen kroz povećanje i smanjenje površine ispod kromatografskog pika, prikazan je na slici 57.



**Slika 57.** Profil nastajanja i razgradnje razgradnih produkata (TiO<sub>2</sub> film, LED 405 nm,  $t_R(\text{RP1}_{\text{DAD}})=5,3$  min,  $t_R(\text{RP2}_{\text{DAD}})=5,5$  min)

Usporedbom rezultata kromatografskih analiza uzoraka nakon fotokatalitičke razgradnje može se reći da su metodom HPLC-FLD detektirani razgradni produkti u uzorcima nakon oba fotokatalitička procesa, dok su metode HPLC-DAD uočeni razgradni produkti samo nakon fotokatalitičke razgradnje uz LED svjetiljku 405 nm.

Usporedbom profila razgradnih produkata HCQ detektiranih validiranom metodom HPLC-FLD pri 365 nm i 405 nm može se reći da je pri 365 nm nastaje 4 RP, dok pri 405 nm nije uočeno nastajanje RP1 koji ima najveći odziv pri 365 nm. Najveći odziv pri 405 nm ima RP4, čiji je odziv pri 365 nm za red veličine manji. Razgradni produkti RP2 i RP3 nastaju u približno jednakim količinama u oba promatrana fotokatalitička procesa. Nadalje, pri 365 nm

uočena je razgradnja nastalih razgradnih produkata nakon 60 min osvjetljavanja, dok pri 405 nm ne dolazi do smanjenja količine nastalih RP.

Usporedbom profila razgradnih produkata HCQ validiranom metodom HPLC-DAD pri 365 nm i 405 nm može se reći da je pri 405 nm nastaju dva razgradna produkta, dok pri 365 nm nije uočeno nastajanje razgradnih produkata.

## **5. ZAKLJUČAK**

U ovom radu razvijene su i validirane metode HPLC-FLD i HPLC-DAD za praćenje HCQ. Validacijom je potvrđeno da su obje metode primjenjive za analizu HCQ u uzorcima vode. Metoda HPLC-FLD pokazala se uspješnijom tijekom detekcije razgradnih produkata u uzorcima nakon fotokatalitičke razgradnje.

Na temelju rezultata fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje HCQ može se zaključiti sljedeće:

- ✓ HCQ nije podložan fotolitičkoj razgradnji unutar 120 minuta.
- ✓ Dodatkom katalizatora  $\text{TiO}_2$  uočeno je smanjenje koncentracije HCQ.
- ✓ Fotokatalitička razgradnja brža je kada je fotokatalizator  $\text{TiO}_2$  prisutan u obliku suspenzije u odnosu na  $\text{TiO}_2$  tanki film.
- ✓ Kinetika fotokatalitičke razgradnje HCQ slijedi kinetiku prvog reda.

Ispitivanjem mehanizma fotokatalitičke razgradnje HCQ utvrđeno je da hidroksilni, superoksidni radikali i singletni kisik imaju značajnu ulogu u razgradnji farmaceutika HCQ-a. Validiranom metodom HPLC-FLD uočeno je nastajanje četiri razgradna produkta u uzorcima nakon fotokatalitičke razgradnje LED svjetiljkom 365 nm, odnosno tri razgradna produkta u uzorcima nakon fotokatalitičke razgradnje uz osvjetljavanje LED svjetiljkom 405 nm. Validiranom metodom HPLC-DAD detektirana su dva razgradna produkta u uzorcima nakon fotokatalitičke razgradnje uz osvjetljavanje LED svjetiljkom 405 nm, dok u uzorcima osvjetljavaanim LED svjetiljkom 365 nm nisu detektirani razgradni produkti.



## **6. LITERATURA**

- [1.] K. Kümmerer, Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I, *Chemosphere*, 75 (2009) 417-434.
- [2.] K. Kümmerer, Pharmaceuticals in the Environment - A Brief Summary, u K. Kümmerer (ur.), *Pharmaceuticals in the Environment*, Springer, Berlin, 2008., str. 3-22.
- [3.] URL: <https://zdravlje.eu/2010/12/08/metabolizam-i-eliminacija-lijekova/>, (pristup 29. 08. 2018.)
- [4.] S. Webb, T. Ternes, M. Gibert, K. Olejniczak, Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water, *Toxicology Letters*, 142 (2003)157-167.
- [5.] Hydroxychloroquine, PubChem  
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/hydroxychloroquine#section=Top>, (pristup 29. 08. 2018.)
- [6.] Hyeong-Seok Lim, Jeong-Soo Im, Joo-Youn Cho, Kyun-Seop Bae, Terry A. Klein, Joon-Sup Yeom, Tae-Seon Kim, Jae-Seon Choi, In-Jin Jang, Jae-Won Park, Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and its clinical implications in chemoprophylaxis against malaria, caused by plasmodium vivax, antimicrobia, agents and chemotherapy, *Vol 53 (4) (2009) 1468 - 1475*.
- [7.] M. Kostopoulou, A. Nikolau, Analytical problems and the need for sample preparation in the determination of pharmaceuticals and their metabolites in aqueous environmental matrices, *Trends in Analytical Chemistry*, 27 (2008) 1023-1035.
- [8.] M.S. Díaz-Cruz, M.J. López de Alda, D. Barceló, Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge, *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (2003) 340-351.
- [9.] URL:[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop\\_pmc/tileshop\\_pmc\\_inline.html?title=Click%20on%20image%20to%20zoom&p=PMC3&id=3653125\\_fm1cb-04-00096-g0001.jpg](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/tileshop_pmc_inline.html?title=Click%20on%20image%20to%20zoom&p=PMC3&id=3653125_fm1cb-04-00096-g0001.jpg), (pristup 30. 08. 2018.)
- [10.] F. Bonvin, Spatio-Temporal Presence of Micropollutants and their Metabolites in Lake Geneva and Susceptibility to Direct and Indirect Photodegradation Processes, disertacija, École polytechnique fédérale de Lausanne, Lausanne, 2013., [https://infoscience.epfl.ch/record/184714/files/EPFL\\_TH5677.pdf](https://infoscience.epfl.ch/record/184714/files/EPFL_TH5677.pdf), (pristup 30. 08. 2018.)
- [11.] M. Kaštelan-Macan, *Kemijska analiza u sustavu kvalitete*, Zagreb, 2003, str 217-235.

- [12.] S. Luterotti, Uvod u kemijsku analizu, Zagreb, 2002., [http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana\\_Luterotti/](http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/), (pristup 07. 09. 2018.)
- [13.] A. Antišić, HPLC analiza polifenola u samoniklim jestivim biljnim vrstama Dalmacije, diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2017., <https://repozitorij.pharma.unizg.hr/islandora/object/pharma%3A706/datastream/PDF/view> (pristup 12.09. 2018.)
- [14.] R.P.W. Scott, Liquid chromatography detectors, 2.izdanje, Elsevier, Amsterdam, 1986., 1237-1256.
- [15.] T. Bolanča, Š. Ukić, Ionska kromatografija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013., 79.
- [16.] Diode Array Detector Settings - 5 minutes to change your chromatography forever, <https://www.crawfordscientific.com/technical/chromatography-technical-tips/hplc-chromatography-tips/diode-array-detector-settings>, (pristup 13. 09. 2018.)
- [17.] J. W. Dolan, How Does It Work? Part V: Fluorescence Detectors, LCGC North America, 34 (9) (2016) 710-719.
- [18.] Fluorescence detectors, [http://hplc.chem.shu.edu/NEW/HPLC\\_Book/Detectors/det\\_flur.html](http://hplc.chem.shu.edu/NEW/HPLC_Book/Detectors/det_flur.html), (pristup 30.08.2018.)
- [19.] International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM), 3. izdanje, JCGM, 2012.
- [20.] D. Ljubas, Tehnološka primjena sunčeva zračenja za razgradnju organskih tvari površinskih voda, magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2000.
- [21.] R. Sellappan, Mechanisms of Enhanced Activity of Model TiO<sub>2</sub>/Carbon and TiO<sub>2</sub>/Metal Nanocomposite Photocatalysts, disertacija, Göteborg, Švedska, 2013.
- [22.] D. Vujević, Uklanjanje organskih tvari iz obojenih otpadnih voda primjenom naprednih oksidacijskih procesa, disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2007.
- [23.] Petrovic M, Perez S, Barcelo D, Pharmaceuticals in the environment: sources and their management - Analysis, Removal, Effects and Risk of Pharmaceuticals in the Water Cycle, Elsevier , 2. izdanje, UK, 2007., 37-64.
- [24.] Lončarić Božić, A., Obrada industrijskih otpadnih voda, (predavanja), Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2015.

- [25.] Y. Ji, Theoretical Studies on the Molecular Mechanisms of Photo-Catalytic Reactions on TiO<sub>2</sub> surfaces, disertacija, Stockholm, Švedska, 2014.
- [26.] V. Tomašić, F. Jović, Heterogena fotokataliza: osnove i primjena za pročišćavanje zraka, *Kemija u industriji*, 60 (7-8) (2011) 387-403.
- [27.] D. Ljubas, Mogućnosti primjene magnetičnih fotokatalizatora u tehnologiji pripreme pitke vode, disertacija, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, 2004.
- [28.] T. V. Gerven, G. Mul, J. Moulijn, A. Stankiewicz, A review of intensification of photocatalytic processes, *Chemical Engineering and Processing*, 46 (2007) 781-789.
- [29.] M. Umar, H. A. Aziz, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water – Chapter in *Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment*, Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment, IntechOpen, Egypt, (2013) 196 - 206
- [30.] S. Kurajica, Određivanje zabranjene zone poluvodiča metodom UV-Vis difuzne refleksijske spektroskopije, predavanja, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2018.
- [31.] H. Choi, S. R. Al-Abed, D. D. Dionysiou, E. Stathatos, P. Lianos, TiO<sub>2</sub>-Based Advanced Oxidation Nanotechnologies for water Purification and Reuse, *Sustainability Science and Engineering*, 2 (2010) 229-254
- [32.] K. Vrbat, Fotokatalitička razgradnja abendazola, diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
- [33.] J. M. Herrmann, Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water, *Catalysis Today*, 53 (1999) 115-129
- [34.] Q. Wang, Z. Jiang, Y. Wang, D. Chen, D. Yang, Photocatalytic properties of porous doped TiO<sub>2</sub> and Ag/C-doped TiO<sub>2</sub> nanomaterials by eggshell membrane templating, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2) (2008) 375-384
- [35.] J. Inamdar, S. K. Singh, Photocatalytic Detoxification Method for Zero Effluent Discharge in Dairy Industry, *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, 4 (2008)160-164

## **7. ŽIVOTOPIS**

████████████████████ Nakon završene osnovne škole u Maču, 2008. upisujem Klasičnu gimnaziju u Zagrebu. Nakon položene državne mature, 2012. upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, preddiplomski studij Kemija i inženjerstvo materijala. Na trećoj godini preddiplomskog studija odradila sam stručnu praksu na Zavodu za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar na Zavodu za predmete opće uporabe. Preddiplomski studij završila sam 2016. obranom završnog rada pod nazivom „*Fotolitička razgradnja nitrofurantoina*“ uz mentorstvo prof. dr. sc. Sandre Babić. Sudjelovala sam na XII. Susretu mladih kemijskih inženjera održanog 2018. na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu s dva postera: „*Usporedba validiranih kromatografskih metoda za određivanje farmaceutika hidroksiklorokina u vodi*“ te „*Mehanokemijska sinteza bakrova bizmutata*“.

U okviru ERASMUS+ programa odradila sam stručnu praksu na Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal. Tijekom višemjesečnog boravka (19. veljača - 31. srpanj 2018.) radila sam na pripremi i karakterizaciji novih nanohibridnih materijala te praćenje fotokatalitičke razgradnje boja i farmaceutika.

Govorim njemački, talijanski i engleski jezik.

Tijekom godina formalnog edukacijskog procesa, volontiram u Taizé zajednici.

## **8. PRILOG**

**Tablica P1.** Rezultati HPLC-FLD analize standardnih otopina HCQ za umjerni pravac

$\gamma$ (mg/L)	A	$\bar{A}$	$RSD_{\bar{A}}$ (%)	$t_R$ (min)	$\bar{t}_R$ (min)
0,005	20315			3,462	
0,005	20011	20339,67	1,68	3,455	3,458
0,005	20693			3,458	
0,05	19510			3,455	
0,05	19377	19351,67	0,89	3,438	3,450
0,05	19168			3,458	
0,1	22099			3,462	
0,1	22933	22387,67	2,11	3,462	3,460
0,1	22131			3,455	
0,25	40284			3,462	
0,25	40269	40609,67	1,42	3,465	3,463
0,25	41276			3,462	
0,5	53498			3,525	
0,5	54970	54414,00	1,47	3,455	3,479
0,5	54774			3,458	
0,75	46461			3,462	
0,75	47368	47023,00	1,04	3,468	3,464
0,75	47240			3,462	
1	74514			3,468	
1	74315	74245,67	0,42	3,462	3,463
1	73908			3,458	
2,5	194453			3,445	
2,5	194463	192346,3	1,90	3,467	3,459
2,5	188123			3,465	
5	463055			3,517	
5	456723	459357,0	0,72	3,436	3,475
5	458293			3,471	
7,5	682947			3,467	
7,5	687366	686469,3	0,46	3,470	3,469
7,5	689095			3,470	
10	983832			3,497	
10	988251	981305,0	0,87	3,456	3,470
10	971833			3,458	



**Tablica P2.** Rezultati HPLC-DAD analize standardnih otopina HCQ za umjerni pravac

$\gamma$ (mg/L)	<i>A</i>	$\bar{A}$	<i>RSD</i> $\bar{A}$ (%)	<i>t</i> <sub>R</sub> (min)	$\bar{t}$ <sub>R</sub> (min)
0,005	16957			5,107	
0,005	17821	17345,00	2,89	5,107	5,098
0,005	16957			5,080	
0,05	20421			5,080	
0,05	20602	20300,33	1,86	5,080	5,080
0,05	19878			5,080	
0,1	17440			5,080	
0,1	17898	17638,67	1,33	5,110	5,090
0,1	17578			5,080	
0,25	44155			5,080	
0,25	44582	44380,67	0,48	5,053	5,071
0,25	44405			5,080	
0,5	66787			5,107	
0,5	66124	66377,33	0,54	5,080	5,080
0,5	66221			5,053	
0,75	45659			5,053	
0,75	45659	45989,00	1,24	5,080	5,071
0,75	46649			5,080	
1	110474			5,053	
1	111299	110593,7	0,59	5,053	5,053
1	110008			5,053	
2,5	275216			5,053	
2,5	276211	274819,7	0,59	5,080	5,062
2,5	273032			5,053	
5	683384			5,080	
5	689373	685233,3	0,52	5,080	5,080
5	682943			5,080	
7,5	1075296			5,053	
7,5	1079664	1076181	0,29	5,053	5,053
7,5	1073582			5,053	
10	1555557			5,053	
10	1557194	1549265	0,79	5,053	5,062
10	1535045			5,080	

**Tablica P3.** Podaci za procjenu ponovljivosti mjerenja standardnih otopina HCQ, HPLC-FLD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,15	21577	3,445	4,0	332253	3,488	8,0	765557	3,443
2	0,15	21153	3,438	4,0	331820	3,488	8,0	763980	3,438
3	0,15	21982	3,446	4,0	339229	3,488	8,0	762825	3,445
4	0,15	21365	3,448	4,0	347296	3,428	8,0	755314	3,442
5	0,15	21082	3,442	4,0	337240	3,435	8,0	741921	3,452
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>21431,8</b>	<b>3,444</b>		<b>337567,6</b>	<b>3,465</b>		<b>757919,4</b>	<b>3,444</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>1,69</b>	<b>0,11</b>		<b>1,87</b>	<b>0,90</b>		<b>1,29</b>	<b>0,15</b>

**Tablica P4.** Podaci za procjenu ponovljivosti mjerenja standardnih otopina HCQ, HPLC-DAD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,15	42133	5,160	4,0	464056	5,213	8,0	1366182	5,187
2	0,15	45656	5,187	4,0	491029	5,240	8,0	1391029	5,240
3	0,15	40704	5,240	4,0	500514	5,240	8,0	1391029	5,240
4	0,15	43949	5,267	4,0	535570	5,240	8,0	1294731	5,267
5	0,15	43013	5,080	4,0	523356	5,267	8,0	1355374	5,293
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>43091</b>	<b>5,187</b>		<b>502905</b>	<b>5,240</b>		<b>1359669</b>	<b>5,245</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>4,33</b>	<b>1,41</b>		<b>5,57</b>	<b>0,36</b>		<b>2,91</b>	<b>0,75</b>

**Tablica P5.** Podaci za procjenu međupreciznosti, HPLC-DAD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,15	22685	5,053	4,0	489411	5,080	8,0	990795	5,053
2	0,15	23946	5,053	4,0	539038	5,080	8,0	1101054	5,027
3	0,15	22492	5,053	4,0	525271	5,053	8,0	1127567	5,027
4	0,15	20546	5,053	4,0	386051	5,080	8,0	1178682	5,053
5	0,15	23724	5,053	4,0	458274	5,080	8,0	1129254	5,053
6	0,15	11651	5,027	4,0	452361	5,027	8,0	1131718	5,053
7	0,15	16869	5,027	4,0	382917	5,000	8,0	1136992	5,027
8	0,15	19326	5,053	4,0	501812	5,053	8,0	1133176	5,053
9	0,15	16861	5,027	4,0	511388	5,027	8,0	1125354	5,027
10	0,15	16920	5,027	4,0	456261	5,027	8,0	989294	5,053
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>19502</b>	<b>5,043</b>		<b>470278,4</b>	<b>5,051</b>		<b>1104389</b>	<b>5,043</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>20,22</b>	<b>0,27</b>		<b>11,47</b>	<b>0,58</b>		<b>5,72</b>	<b>0,27</b>

**Tablica P6.** Podaci za procjenu međupreciznosti, HPLC-FLD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,15	21577	3,445	4,0	332253	3,488	8,0	765557	3,443
2	0,15	21153	3,438	4,0	331820	3,488	8,0	763980	3,438
3	0,15	21982	3,446	4,0	339229	3,488	8,0	762825	3,445
4	0,15	21365	3,448	4,0	347296	3,428	8,0	755314	3,442
5	0,15	21082	3,442	4,0	337240	3,435	8,0	741921	3,452
6	0,15	21323	3,458	4,0	281169	3,462	8,0	761148	3,472
7	0,15	21515	3,448	4,0	283426	3,472	8,0	761541	3,466
8	0,15	21716	3,458	4,0	342238	3,465	8,0	763046	3,450
9	0,15	22199	3,452	4,0	348991	3,468	8,0	729025	3,465
10	0,15	22299	3,465	4,0	321216	3,508	8,0	661869	3,465
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>21621,1</b>	<b>3,450</b>		<b>326487,8</b>	<b>3,470</b>		<b>746622,6</b>	<b>3,454</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>1,96</b>	<b>0,24</b>		<b>7,55</b>	<b>0,71</b>		<b>4,28</b>	<b>0,35</b>

**Tablica P7.** Podaci za određivanje granica detekcije i kvantifikacije, HPLC-DAD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,1	48710	5,107
2	0,1	48195	5,107
3	0,1	46003	5,133
4	0,1	52266	5,160
5	0,1	51805	5,240
6	0,1	51542	5,213
7	0,1	51936	5,213
8	0,1	47357	5,187
9	0,1	52598	5,187
10	0,1	54992	5,160
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>50540,4</b>	<b>5,171</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>5,56</b>	<b>0,88</b>

**Tablica P8.** Podaci za određivanje granica detekcije i kvantifikacije, HPLC-FLD

Uzorci	$\gamma$ (mg/L)	A	$t_R$ (min)
1	0,05	25657	3,375
2	0,05	27236	3,362
3	0,05	27450	3,375
4	0,05	27674	3,388
5	0,05	27682	3,395
6	0,05	27320	3,365
7	0,05	27822	3,345
8	0,05	27063	3,355
9	0,05	27333	3,355
10	0,05	27893	3,358
<b>Srednja vrijednost</b>		<b>27313</b>	<b>3,367</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>2,34</b>	<b>0,47</b>

**Tablica P9.** Izmjerene vrijednosti apsorbancija pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotolitičku razgradnju uz LED svjetiljku 365 nm

$t, \text{ min}$	$A$	$A_0/A$	$\ln A_0/A$	$A/A_0$	$\ln A/A_0$
0	0,3954	0,934522	-0,06772	1,070066	0,067720
15	0,41641	0,887371	-0,11949	1,126925	0,119493
30	0,41825	0,883467	-0,12390	1,131904	0,123902
45	0,42164	0,876364	-0,13197	1,141079	0,131974
60	0,41681	0,886519	-0,12045	1,128007	0,120453
75	0,41201	0,896847	-0,10887	1,115017	0,108870
90	0,41140	0,898177	-0,10739	1,113366	0,107388
105	0,41028	0,900629	-0,10466	1,110335	0,104662
120	0,40738	0,907040	-0,09757	1,102487	0,097569

**Tablica P10.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotolitičku razgradnju uz LED svjetiljku 405 nm

$t, \text{ min}$	$A$	$A_0/A$	$\ln A_0/A$	$A/A_0$	$\ln A/A_0$
0	0,40838	0,904819	-0,10002	1,105193	0,100020
15	0,41833	0,883298	-0,12409	1,132121	0,124093
30	0,41856	0,882813	-0,12464	1,132743	0,124642
45	0,41856	0,882813	-0,12464	1,132743	0,124642
60	0,41904	0,881801	-0,12579	1,134042	0,125789
75	0,42021	0,879346	-0,12858	1,137209	0,128577
90	0,43198	0,855387	-0,15620	1,169062	0,156201
105	0,42688	0,865606	-0,14433	1,155260	0,144325
120	0,43174	0,855862	-0,15565	1,168412	0,155646

**Tablica P11.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotolitičku razgradnju uz svjetiljku sa zračenjem sličnim Sunčevom

$t, \text{ min}$	$A$	$A_0/A$	$\ln A_0/A$	$A/A_0$	$\ln A/A_0$
0	0,36951	1	0	1	0
15	0,35396	1,043932	0,042994	0,957917	-0,04299
30	0,34185	1,080913	0,077806	0,925144	-0,07781
45	0,32509	1,136639	0,128076	0,879787	-0,12808
60	0,31128	1,187066	0,171485	0,842413	-0,17148
75	0,30229	1,222369	0,200791	0,818083	-0,20079
90	0,28389	1,301596	0,263591	0,768288	-0,26359
105	0,27365	1,350301	0,300328	0,740575	-0,30033
120	0,26122	1,414555	0,346815	0,706936	-0,34681

**Tablica P12.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotolitičku razgradnju uz halogenu svjetiljku

$t, \text{ min}$	$A$	$A_0/A$	$\ln A_0/A$	$A/A_0$	$\ln A/A_0$
0	0,42760	0,864149	-0,146010	1,157208	0,14601
15	0,26543	1,392118	0,330827	0,718330	-0,33083
30	0,25237	1,464160	0,381282	0,682986	-0,38128
45	0,25270	1,462248	0,379975	0,683879	-0,37997
60	0,25629	1,441765	0,365868	0,693594	-0,36587
75	0,25894	1,427010	0,355581	0,700766	-0,35558
90	0,26033	1,419391	0,350228	0,704528	-0,35023
105	0,25983	1,422122	0,352150	0,703174	-0,35215
120	0,26101	1,415693	0,347619	0,706368	-0,34762

**Tablica P13.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film i LED svjetiljku 365 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	ln <i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	<i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>	ln <i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>
0	0,42958	1	0	1	0
15	0,27528	1,511443	0,413065	0,661619	-0,41306
30	0,17935	2,319877	0,841514	0,431057	-0,84151
45	0,10900	3,817156	1,339506	0,261975	-1,33951
60	0,06383	6,518408	1,874630	0,153412	-1,87463
75	0,03845	10,82107	2,381495	0,092412	-2,38149
90	0,02824	14,73336	2,690114	0,067873	-2,69011
105	0,01271	32,73564	3,488464	0,030548	-3,48846
120	0,01152	36,11719	3,586769	0,027688	-3,58677

**Tablica P14.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film i LED svjetiljku 405 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	ln <i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	<i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>	ln <i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>
0	0,41938	1	0	1	0
15	0,31998	1,310644	0,270519	0,762983	-0,27052
30	0,26558	1,579110	0,456861	0,633268	-0,45686
45	0,27857	1,505474	0,409108	0,664242	-0,40911
60	0,18740	2,237887	0,805532	0,446850	-0,80553
75	0,15641	2,681286	0,986297	0,372955	-0,98630
90	0,13951	3,006093	1,100641	0,332658	-1,10064
120	0,10830	3,872392	1,353872	0,258238	-1,35387

**Tablica P15.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film i halogenu svjetiljku

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	ln <i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	<i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>	ln <i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>
0	0,41713	1	0	1	0
15	0,38359	1,087437	0,083824	0,919593	-0,08382
30	0,36167	1,153344	0,142666	0,867044	-0,14267
45	0,34077	1,224081	0,202190	0,816940	-0,20219
60	0,31516	1,323550	0,280317	0,755544	-0,28032
75	0,29738	1,402683	0,338387	0,712919	-0,33839
90	0,27359	1,524654	0,421767	0,655887	-0,42177
105	0,25564	1,631709	0,489628	0,612855	-0,48963
120	0,23432	1,780172	0,576710	0,561743	-0,57671



**Tablica P16.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film i svjetiljka sa zračenjem sličnim Sunčevom

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A/A<sub>0</sub></i>	ln <i>A/A<sub>0</sub></i>	ln <i>A<sub>0</sub>/A</i>	<i>A<sub>0</sub>/A</i>
0	0,423970	1	0	0	1
15	0,273800	0,64580	-0,43726	0,437265	1,548466
30	0,168140	0,396585	-0,92487	0,924866	2,521530
45	0,105550	0,248956	-1,39048	1,390478	4,016769
60	0,064922	0,153129	-1,87648	1,876476	6,530452
75	0,095782	0,225917	-1,48759	1,487588	4,426406
90	0,027280	0,064344	-2,74351	2,743509	15,54142
105	0,018867	0,044501	-3,11225	3,112248	22,47151

**Tablica P17.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> suspenziju 0,1 mg/L i LED 365 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A<sub>0</sub>/A</i>	ln <i>A<sub>0</sub>/A</i>	<i>A/A<sub>0</sub></i>	ln <i>A/A<sub>0</sub></i>
0	0,384870	1	0	1	0
5	0,201130	1,913539	0,648954	0,522592	-0,64895
10	0,113750	3,383473	1,218903	0,295554	-1,21890
15	0,086517	4,448490	1,492565	0,224795	-1,49256
20	0,043328	8,882709	2,184107	0,112578	-2,18411
25	0,027924	13,78277	2,623419	0,072554	-2,62342
30	0,028763	13,38073	2,593816	0,074734	-2,59382

**Tablica P18.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> suspenziju 0,5 mg/L i LED 365 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A<sub>0</sub>/A</i>	ln <i>A<sub>0</sub>/A</i>	<i>A/A<sub>0</sub></i>	ln <i>A/A<sub>0</sub></i>
0	0,352120	1	0	1	0
5	0,122060	2,884811	1,059459	0,346643	-1,05946
10	0,049638	7,093759	1,959215	0,140969	-1,95922
15	0,016484	21,36132	3,061582	0,046814	-3,06158
20	0,002976	118,3239	4,773426	0,008451	-4,77343

**Tablica P19.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> suspenziju 1 mg/L i LED 365 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	ln <i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	<i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>	ln <i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>
0	0,340450	1	0	1	0
3	0,189910	1,792691	0,583718	0,557821	-0,58372
5	0,087250	3,902006	1,361491	0,256278	-1,36149
7	0,047345	7,190833	1,972807	0,139066	-1,97281
10	0,022493	15,13582	2,717064	0,066068	-2,71706

**Tablica P20.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> suspenziju 2 mg/L i LED 365 nm

<i>t</i> , min	<i>A</i>	<i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	ln <i>A</i> <sub>0</sub> / <i>A</i>	<i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>	ln <i>A</i> / <i>A</i> <sub>0</sub>
0	0,366220	1	0	1	0
1	0,267180	1,370686	0,315312	0,729561	-0,31531
2	0,182990	2,001312	0,693803	0,499672	-0,69380
3	0,094254	3,885458	1,357241	0,257370	-1,35724
4	0,066073	5,542657	1,712474	0,180419	-1,71247
5	0,040246	9,099538	2,208224	0,109896	-2,20822
6	0,025849	14,16767	2,650962	0,070583	-2,65096
7	0,013688	26,75482	3,286715	0,037376	-3,28671

**Tablica P21.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film, LED 365 nm, 0,005 M NaN<sub>3</sub>

<i>t</i> , min	<i>A</i> (1)	<i>A</i> (2)	$\bar{A}$	$\bar{A}/\bar{A}_0$	ln $\bar{A}/\bar{A}_0$
0	0,37057	0,41738	0,393975	1	0
15	0,25440	0,2708	0,262600	0,666540	-0,40566
30	0,17677	0,18862	0,182695	0,463722	-0,76847
45	0,11489	0,13328	0,124085	0,314957	-1,15532
60	0,07892	0,09381	0,086365	0,219214	-1,51770
75	0,05385	0,06469	0,059270	0,150441	-1,89418
90	0,02679	0,04554	0,036165	0,091795	-2,38820
105	0,07479	0,03698	0,055885	0,141849	-1,95299
120	0,05383	0,03002	0,041925	0,106415	-2,24041

**Tablica P22.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343nm  
za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film, LED 365 nm, 0,01 M NaN<sub>3</sub>

<i>t</i> , min	A(1)	A(2)	$\bar{A}$	$\bar{A}/\bar{A}_0$	$\ln \bar{A}/\bar{A}_0$
0	0,38225	0,40045	0,391350	1	0
15	0,31408	0,28426	0,299170	0,764456	-0,26859
30	0,25418	0,21115	0,232665	0,594519	-0,52000
45	0,20264	0,14692	0,174780	0,446608	-0,80607
60	0,15971	0,11006	0,134885	0,344666	-1,06518
75	0,12817	0,08014	0,104155	0,266143	-1,32372
90	0,11173	0,06028	0,086005	0,219765	-1,51520
105	0,08879	0,05744	0,073115	0,186828	-1,67757
120	0,073018	0,04253	0,057774	0,147627	-1,91306

**Tablica P23.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film, LED 365 nm, 0,00125 M C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

<i>t</i> , min	A(1)	A(2)	$\bar{A}$	$\bar{A}/\bar{A}_0$	$\ln \bar{A}/\bar{A}_0$
0	0,47321	0,49195	0,482580	1	0
15	0,45203	0,48963	0,470830	0,975652	-0,02465
30	0,44561	0,48674	0,466175	0,966006	-0,03459
45	0,41074	0,47585	0,443295	0,918594	-0,08491
60	0,37982	0,43753	0,408675	0,846854	-0,16623
75	0,33289	0,39916	0,366025	0,758475	-0,27645
90	0,28737	0,35370	0,320535	0,664211	-0,40916
105	0,24761	0,30955	0,278580	0,577272	-0,54944
120	0,21291	0,27191	0,242410	0,502321	-0,68852

**Tablica P24.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film, LED 365 nm, 1% CH<sub>3</sub>OH

<i>t</i> , min	A	A/A <sub>0</sub>	$\ln A/A_0$
0	0,43851	1	0
15	0,41377	0,943582	-0,05807
30	0,40444	0,922305	-0,08088
45	0,39862	0,909033	-0,09537
60	0,39498	0,900732	-0,10455
75	0,39156	0,892933	-0,11324
90	0,38313	0,873709	-0,13501
105	0,37618	0,857860	-0,15331
120	0,37224	0,848875	-0,16384

**Tablica P25.** Izmjerene vrijednosti apsorbancije pri valnoj duljini od 343 nm  
za fotokatalizu uz TiO<sub>2</sub> tanki film, LED 365 nm, 10% CH<sub>3</sub>OH

<b><i>t</i>, min</b>	<b><i>A</i></b>	<b><i>A/A<sub>0</sub></i></b>	<b><i>ln A/A<sub>0</sub></i></b>
0	0,41913	0,955805	-0,04520
15	0,42419	0,967344	-0,03320
30	0,42342	0,965588	-0,03502
45	0,42376	0,966363	-0,03422
60	0,42784	0,975668	-0,02463
75	0,42800	0,976032	-0,02426
90	0,43294	0,987298	-0,01278
105	0,43223	0,985679	-0,01442
120	0,43269	0,986728	-0,01336