UV-fotoliza 17β-estradiola u vodenom mediju

Meheš, Mario

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:786698

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Mario Meheš

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Mario Meheš

UV-fotoliza 17β-estradiola u vodenom mediju

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić

Članovi ispitnog povjerenstva:
izv. prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić
doc. dr. sc. Hrvoje Kušić
prof. dr. sc. Sandra Babić

Zagreb, srpanj 2015.

Sažetak

Farmaceutici po svojoj prirodi više ili manje utječu na prirodno funkcioniranje ljudskog i životinjskog organizma, a njihova sve učestalija pojava u otpadnim vodama predstavlja potencijalnu prijetnju ljudskom i životinjskom zdravlju. Ženski spolni hormon 17β-estradiol spada u grupu farmaceutika koji imaju najjače fiziološko djelovanje, a zbog svoje široke primjene i prirodnog izlučivanja učestalo se nalazi u vodenim sustavima. Stoga se nameće potreba za istraživanjem i primjenom učinkovitih procesa obrade s ciljem njegova uklanjanja iz otpadnih tokova te sprječavanja ulaska u prirodne vodene prijemnike.

U ovom radu ispitivana je fotolitička razgradnja 17β-estradiola u vodenom mediju uz pomoć ultraljubičastog zračenja. Eksperimenti su provedeni u šaržnom fotoreaktoru s vodenim hlađenjem korištenjem izvora monokromatskog zračenja: UVC (254 nm) i UVA (365 nm). Razgradnja 17β-estradiola tijekom procesa fotolize praćena je HPLC analizom s UV-DAD detektorom. Određene su vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenata i dosega kvanta zračenja kao ključnih procesnih parametara koji utječu na učinkovitost procesa fotolize. Utvrđeno je da pod utjecajem UVA zračenja ne dolazi do promjene koncentracije 17β-estradiola. UVC-fotoliza pokazala se vrlo učinkovitom u razgradnji 17β-estradiola u vodi. Nakon 45 minuta provedbe procesa UVC-fotolize razgrađeno je 96,59 % 17β-estradiola. Utvrđeno je da fotolitička razgradnja 17β-estradiola u vodi prati kinetiku pseudo prvoga reda pri čemu konstanta brzine reakcije iznosi 0,0715 min^{-1}. Molarni apsorpcijski koeficijent iznosi 872,73 L mol^{-1} cm^{-1}, a doseg kvanta zračenja 0,1068 mol Ein^{-1}.

Ključne riječi: farmaceutici u vodi, 17β-estradiol, fotoliza, tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Summary

Pharmaceuticals are natural or synthetic compounds, which have an impact on the health of humans and animals. The pharmaceuticals in wastewaters originate from human and animal excretions. Pharmaceuticals in the environment are a danger to health and ecosystem balance. The female sex hormone 17β-estradiol can be commonly found in water systems due to widespread consumption of estradiol containing pharmaceuticals and is present naturally in human and livestock excretions. 17β-estradiol increases cancer occurrence and has a negative impact on reproductive health. Therefore, research and application of efficient treatment processes are important in order to develop methods of removal and prevention of water body contamination.

In this work, photodegradation of 17β-estradiol in aqueous medium was carried out under ultraviolet irradiation. The experiments were performed in a batch photoreactor, cooled by a water jacket, by means of two monochromatic light sources: UVC (254 nm) and UVA (365 nm). The rate of 17β-estradiol photodegradation was monitored by HPLC. The values of the molar absorption coefficient and the quantum yield as crucial process parameters, which affect the efficiency of the photodegradation, were determined. Under UVA degradation 17β-estradiol does not undergo photodegradation. UVC photolysis has shown to be a very efficient process for 17β-estradiol photodegradation in aqueous medium. After 45 minutes of conducting UVC photolysis 97% of 17β-estradiol has been degraded. The molar absorption coefficient of 17β-estradiol at 254 nm is equal to 872.7 L cm^{-1} mol^{-1} while the quantum yield is equal to 0.1068 mol Ein^{-1}. The photocatalytic degradation of 17β-estradiol in aqueous media follows pseudo-first order kinetics with the reaction constant being 0.0715 min^{-1}.

Key words: pharmaceuticals in water, 17β-estradiol, photolysis, high-performance liquid chromatography

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Teorijski dio 2
2.1. Farmaceutici u vodama 2
2.1.1. Endokrini ometači 3
2.2. 17β-Estradiol 5
2.2.1. Obrada komunalnih otpadnih voda 7
2.3. UV-fotoliza 8
2.4. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti 10
3. Eksperimentalni dio 12
3.1. Kemikalije 12
3.2. Priprava vodene otopine 17β-estradiola 12
3.3. Apsorpcijski spektar 12
3.4. Proces fotolize 13
3.5. HPLC analiza 14
3.6. GC analiza 14
4. Rezultati i rasprava 16
4.1. UVC-fotoliza acetonitrila 16
4.2. UVA-fotoliza 17β-estradiola 17
4.3. UVC-fotoliza 17β-estradiola 18
5. Zaključak 23
6. Literatura 24
7. Popis korištenih simbola 26
8. Prilozi 27

1. Uvod

Farmaceutici su prirodne ili sintetske biološki aktivne tvari koje, ispravno primijenjene, imaju pogodan učinak na zdravlje ljudi i životinja. Uslijed konzumacije i izlučivanja farmaceutici dospijevaju u okoliš. Unazad zadnjih par desetljeća raste svijest o negativnom učinku farmaceutika na okoliš[1].

Estrogeni su ženski spolni hormoni, među koje pripada 17β-estradiol te su važni za reguliranje mnogih procesa u tijelu. 17β-estradiol kao fiziološki najutjecajniji estrogen sve je zastupljeniji u otpadnim vodama, ali i u površinskim vodama te posljedično i u pitkoj vodi. Uslijed toga predstavlja potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje i za zdravlje životinja. Štetnost 17β-estradiola očituje se u povećanom riziku od razvoja malignih oboljenja te u poremećajima reproduktivnog sustava[1].

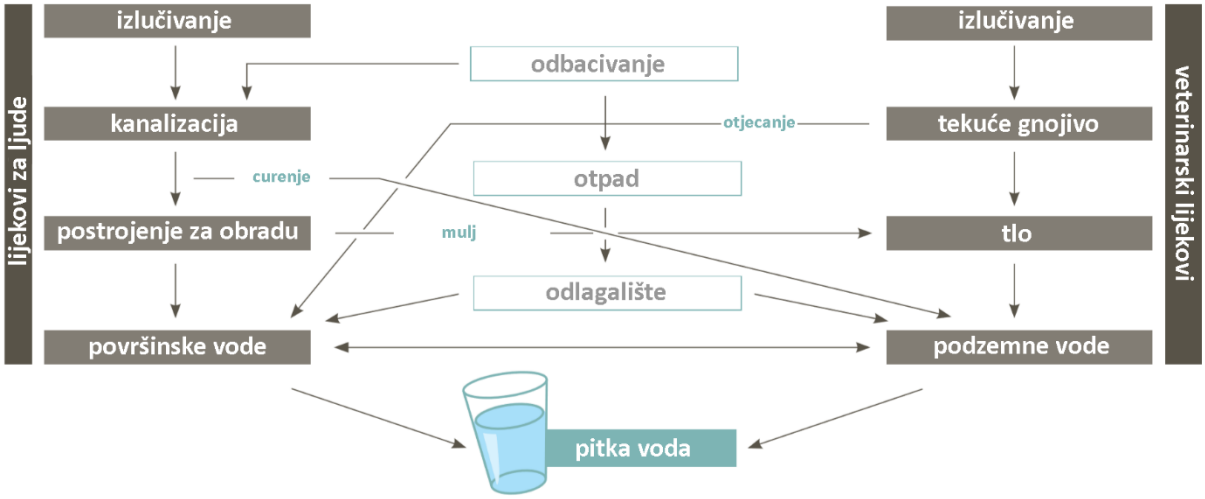
Konvencionalne biološke i fizikalno kemijske metode obrade otpadnih voda najčešće nisu adekvatne za uklanjanje farmaceutika iz komunalnih otpadnih voda. Jedan od mogućih alternativnih načina razgradnje organskih onečišćivala je fotoliza uz pomoć ultraljubičastog zračenja. Onečišćivalo prisutno u vodi može apsorbirati fotone zračenja koji imaju dovoljnu energiju za prevođenje molekule u pobuđeno stanje uslijed čega može doći do homolitičkog cijepanja veza u molekuli.

U ovom radu istraženo je ponašanje 17β-estradiola pod utjecajem UVA i UVC zračenja kako bi se ispitala njihova primjenjivost za uklanjanje, odnosno razgradnju, 17β-estradiola u vodenom mediju.

2. Teorijski dio

2.1. Farmaceutici u vodama

Naziv farmaceutici obuhvaća sve terapijske lijekove namijenjene ljudima te veterinarske lijekove i dodatke prehrani[1]. Razvojem naprednih analitičkih metoda omogućeno je vrlo precizno određivanje kemijskog sastava vode. Pa je i tako brojnim ciljanim istraživanjima ustanovljeno da se u otpadnim, površinskim, podzemnim vodama, u manjoj mjeri i u pitkoj vodi, mogu naći i tragovi farmaceutski aktivnih tvari[2]. Premda su njihove razine daleko ispod preporučene propisane doze i ne izazivaju akutne učinke u ljudima, otkriven je njihov negativan učinak na vodene ekosustave[1]. Do danas je pronađeno dvadesetak farmaceutika u obrađenoj pitkoj vodi diljem svijeta, a još više ih je nađeno u neobrađenim otpadnim vodama, površinskim i podzemnim vodama[2].

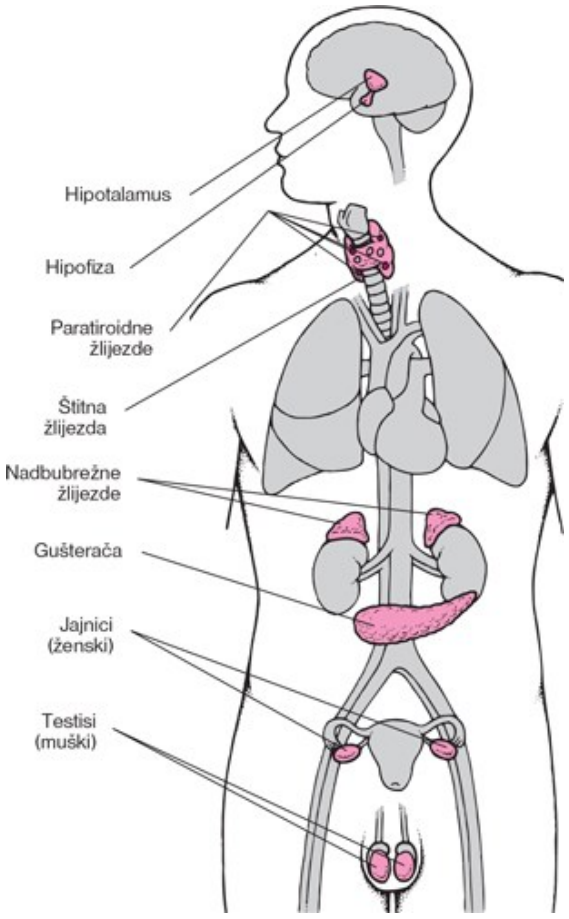


Slika 1. Shematski prikaz dospijevanja farmaceutika u vode[2]

Farmaceutici u okoliš dospijevaju (slika 1) putem ljudskih ili životinjskih fekalija koje završavaju u otpadnim vodama, gubitcima iz kanalizacijskog sustava, muljem dobivenim obradom otpadnih voda, industrijskim otpadom i medicinskim otpadom iz zdravstvenih i veterinarskih ustanova. U konačnici farmaceutici mogu dospjeti do podzemnih voda, koje se potom crpe i distribuiraju kao voda za piće. Estrogeni, antidepresivi, antibiotici i β-blokatori izdvajaju se kao vrlo problematični farmaceutici u okolišu2. 17β-estradiol je prepoznat kao jedan od novih onečišćivala (*engl*. Contaminant of Emerging Concern, CEC) u skupini farmaceutika, kako u Europskoj Uniji tako i u SAD-u[3, 4].

2.1.1. Endokrini ometači

Kemikalije koje ometaju ili za koje se smatra da mogu ometati endokrini sustav tijela (slika 2) i proizvesti negativne razvojne, reproduktivne, neurološke i imunološke učinke kod ljudi i životinja nazivaju se endokrini ometači ili endokrini disruptori. Endokrini ometači mogu biti prirodni i umjetni, a mogu se naći u raznim materijalima i proizvodima. Također mogu biti nusproizvodi koji se stvaraju tijekom proizvodnje ili izgaranja otpada. Mnoge tvari mogu djelovati kao endokrini ometači uključujući postojana organska onečišćivala, pesticide, fitoestrogene, metale, aktivne sastojke u farmaceutskim proizvodima, dodatke u hrani, proizvode za osobnu njegu, kozmetiku, plastiku, tekstile i građevne materijale[5].



Slika 2. Endokrini sustav čovjeka[6]

S obzirom kako su ljudi često u kontaktu s ovim kemikalijama, a u većini slučajeva su slabo poznati njihovi štetni učinci, endokrini ometači postali su važna tema zaštite javnog zdravlja. Dok se dosta istraživanja provodi u medicini i toksikologiji, malo ih se bavi s kontrolom endokrinih ometača u okolišu. Poznata je iznimna postojanost spojeva u okolišu poput diklor-

definil-trikloretana, polikloriranih bifenila te dioksina. Studije su pokazale veliku prisutnost endokrinih ometača u okolišu, odnosno njihovu bioakumulaciju i biomagnifikaciju u ekosustavima. Iako se pitanje endokrinih ometača u istraživanjima okoliša razmatra rastućim problemom, znanstvenici su prepoznali sposobnost prirodnih i umjetnih komponenti ometanja prirodnih hormonskih mehanizama kod životinja prije više od 80 godina[7].

Ženski spolni hormoni i sintetički estrogeni smatraju se najmoćnijim endokrino aktivnim spojevima. Ti spojevi mogu u ribama izazvati estrogenski odziv već u koncentracijama od 0,1 do 1 ng/L, što je niže od koncentracija koje se obično detektiraju u okolišu[1].

Tablica 1 prikazuje izmjerene koncentracije sedam spojeva, svaki sa svojim posebnim djelovanjem na organizam, koje su nađene u pet europskih država u koncentracijama od 5 do 350 ng/L. Kao što se može vidjeti riječ je o vrlo malim koncentracijama i trenutne procjene rizika pokazuju malu vjerojatnost opasnosti od tako niskih koncentracija farmaceutika u pitkoj vodi po ljudsko zdravlje. Saznanja u smislu procjene rizika povezanih s dugotrajnom izloženosti niskim koncentracijama farmaceutika i mogućih međudjelovanja s drugim kemikalijama još nisu dovoljna[2].

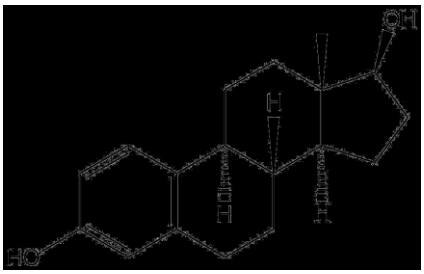
Tablica 1. Koncentracije farmaceutika pronađenih u europskim površinskim vodama[2]

	Median (maksimum) koncentracija (ng/l)				
Spoj	Austrija	Finska	Francuska	Njemačka	Švicarska
Bezafibrat	20 (160)	5 (25)	102 (430)	350 (3100)	-
Carbamazepin	75 (294)	70 (370)	78 (800)	25 (110)	30–150
Diklofenak	20 (64)	15 (40)	18 (41)	150 (1200)	20–150
Ibuprofen	nd	10 (65)	23 (120)	70 (530)	nd (150)
Iopromid	91 (211)	-	7 (17)	100 (910)	-
Roksitromicin	-	9 (37)	< GK (560)	nd	-
Sulfametoksazol*	nd	-	25 (133)	30 (480)	-

GK – granica kvantifikacije; nd – nije detektirano (ispod detekcijske razine)
* Uključuje ljudski metabolit N^4-acetil-sulfamethoksazol

2.2. 17β-Estradiol

Estrogeni su ženski spolni hormoni, po građi steroidi s 18 ugljikovih atoma. Kemijski su karakterizirani aromatskim prstenom i fenolnom hidroksilnom grupom na C-3[8]. U većim količinama luče ih jajnici i posteljica, u malim kora nadbubrežne žlijezde. Glavni estrogeni su estradiol, estron i estriol. U jetri se vežu s glukuronskom i sulfatnom kiselinom i u tom obliku se izlučuju putem žući i mokraće. Estrogeni potiču rast i razvoj ženskih spolnih organa, razvoj dojke, rast i razvoj kostiju. Upotrebljavaju se kod postmenopauznih tegoba, kod raka dojke i prostate, kao oralna kontracepcijska sredstva i dr.[9].



Slika 3. Strukturna formula 17ß-estradiola

17β-estradiol (oznaka E2) je glavni ženski spolni hormon i derivat je glavnoga muškog spolnog hormona testosterona[10]. Pojavljuje se u dva izomerna oblika, alfa i beta. Od svih prirodnih estrogena beta-estradiol ima najveće fiziološko djelovanje dok je alfa oblik prirodni optički izomer i uglavnom se smatra neaktivanim iako nedavna istraživanja pokazuju da ipak ima određen utjecaj na mozak čovjeka[11, 12]. Estradiol je u prvom redu odgovoran za normalan tok genitalnih ciklusa, koji se pojavljuju kao ciklusi parenja (opaženo kod laboratorijskih pokusnih životinja) ili kao menstrualni ciklusi (u majmuna i čovjeka). Mehanizmom retroaktivne kontrole regulira izlučivanje gonadotropina iz hipofize, a u menstrualnom ciklusu sudjeluje zajedno s progesteronom i hormonima hipofize. U općem metabolizmu estradiol uzrokuje smanjenje lipida u krvi i povećanje potkožnih naslaga masti[8].

Fizikalno kemijska svojstva 17β-estradiola prikazana su u tablici 2. Topljivost 17β-estradiola u vodi je vrlo malena, dok je dobro topljiv u polarnim protičnim i aprotičnim otapalima te nepolarnim otapalima. Strukturna formula prikazana je na slici 3.

Tablica 2. Svojstva 17β-estradiola[13]

Ime prema IUPAC nomenklaturi	(8R,9S,13S,14S,17S)-13-metil-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dekahidrociklopenta[a]fenantren-3,17-diol
Molekulska masa	272,38196 g/mol
Molekulska formula	$C_{18}H_{24}O_2$
Boja	Bijela ili blago žuta
Struktura	Mali kristali ili kristalni prah
Miris	Bez mirisa
Topljivost	Jako topljiv u acetonu, etanolu i dioksanu
	U vodi 3,90 mg/L pri 25°C
Apsorpcijski maksimum	UV: 225, 280 nm
	Maseni: 62029
	IC: 5498
Točka tališta	178,5 °C
Tlak para	$6,38 \cdot 10^{-9}$ mm Hg pri 25 °C

Postoji mnoštvo dokaza za kancerogen učinak 17β-estradiola na ljude i životinje, međutim još nije određena otrovna doza. Terapeutska doza, ovisno o namjeni, iznosi od 0,025 mg do 30 mg[14].

Zabilježeno je kako estrogeni uzrokuju promjenu oblika rožnice (keratokonus) što, između ostalog, uzrokuje i neugodnosti pri nošenju kontaktnih leća[14].

Kod pacijenata s povišenim trigliceridima (hipertrigliceridemija) koji primaju estrogensku terapiju, može doći do daljnjeg povišenja triglicerida rezultirajući nastankom upalom gušterače (pankreatitis) i drugim komplikacijama[14].

Podatci studija o pušenju duhana i uporabi visokih doza oralnih kontracepcijskih lijekova koji sadrže estrogene ukazuju na povećan rizik ozbiljnih kardiovaskularnih nuspojava. Rizik se povećava s povećanom upotrebom duhana i s starošću, pogotovo kod žena starijih od 35 godina. Pušenjem se također povećava metabolizam estrogena što rezultira smanjivanjem utjecaja estrogena na organizam[14].

Istraživanja na ženkama laboratorijskih miševa kojima je 19 mjeseci za piće davana otopina od 0,5 mg/L 17β-estradiola pokazala su značajno povećanje pojave tumora[14].

Otkriven je i negativan učinak 17β-estradiola u rasponu koncentracija od 25-100 ng/L

na ribu Zebricu (lat. *Danio rerio*), pri čemu je došlo do poremećaja u ravnoteži ženki i mužjaka u populaciji te inhibicije proizvodnje jajašaca u ovisnosti o koncentraciji[15].

2.2.1. Obrada komunalnih otpadnih voda

Konvencionalna postrojenja za obradu komunalnih otpadnih voda uglavnom temelje se na procesima biološke razgradnje koristeći proces s aktivnim muljem, dok moderna postrojenja imaju procese tercijarne obrade poput reverzibilne osmoze, ozonizacije i naprednih oksidacijskih tehnologija. Efikasnost obrade ovisi o fizikalnim i kemijskim svojstvima onečišćivala, njihovoj koncentraciji i reaktivnosti, o uvjetima procesa obrade i kontroli procesa, kao što su hidraulički režim, vrijeme zadržavanja i temperatura[2].

Zbirni rezultati nekoliko studija za ilustraciju učinkovitosti uklanjanja farmaceutika kod različitih procesa obrade komunalnih otpadnih voda prikazani su u tablici 3. Rezultati su temeljeni na promatranjima procesa obrade u rasponu od jednostavnih procesa do velikih postrojenja za obradu komunalnih otpadnih voda.

Iz tablice 3 se može vidjeti da konvencionalna postrojenja s aktiviranim muljem mogu postići viši stupanj efikasnosti od postrojenja s jednostavnim biološkim filterima. Određeni procesi, poput aktivnog mulja i biološke filtracije imaju širok raspon uklanjanja farmaceutika, što ukazuje na selektivnost metoda prema vrsti farmaceutika, odnosno onečišćivala. Većina konvencionalnih procesa obrade otpadnih voda nije pogodna za uklanjanje 17β-estradiola i drugih estrogena iz voda. Napredni procesi obrade komunalnih otpadnih voda poput ozonizacije, membranske obrade i napredne oksidacije, mogu dostići višu učinkovitost uklanjanja farmaceutika u usporedbi s konvencionalnim procesima[16].

17β-estradiol može se iz vode ukloniti korištenjem UV zračenja[17], naprednim oksidacijskim procesima[18, 19, 20, 21], adsorpcijom na raznim adsorbensima[22, 23], te se može razgraditi i djelovanjem bakterije *Klebsiella sp.* koja je uspješno izolirana iz otpadne vode uzete iz kanalizacijskog kanala Saft Elhena u Egiptu[23].

Tablica 3. Konvencionalne i napredne metode obrade otpadnih voda[2]

	Proces obrade	Učinkovitost uklanjanja farmaceutika, %
Konvencionalni	Aktivni mulj	7-100
	Biološka filtracija	6-71
	Primarno taloženje	3-45
	Koagulacija, filtracija i taloženje	5-36
	Filtracija pijeskom	0-99
Napredni	Ozonizacija	1-100
	Ozonacija/ultrazvuk i sonokataliza	23-45
	Ozonacija i katalitička ozonacija	>9-100
	Fotoliza	29
	Fotooksidacija (UV/H_2O_2)	52-100
	Fotokataliza (UV/TiO_2)	>95
	Biomembrana	23-99
	Mikrofiltracija i reverzibilna osmoza	91-100
	Reverzibilna osmoza	62-97
	Ultrazvuk	24-100

2.3. UV-fotoliza

Atomi, molekule ili ioni čiji je sadržaj energije privremeno povećan apsorbiranim zračenjem odlikuju se povećanom reaktivnošću. Reakcije koje započinju apsorpcijom svjetlost, odnosno kvanta zračenja tj. fotona, i zovu se fotokemijske reakcije. Pojedina molekula apsorbira jedan kvant svjetlosti koji istovremeno može uzrokovati fotokemijsku pretvorbu te molekule[25].

Fotoliza je monomolekulska fotokemijska reakcija kod koje fotoaktivni dio molekule (kromofor) apsorbira svjetlosnu energiju pri čemu dolazi do homolitičkog cijepanja veze i nastajanja slobodnih radikala[10]. UV fotoliza je proces u kojem se ultraljubičasto zračenje (oznaka UV) koristi za ozračivanje vode u svrhu uklanjanja onečišćivala. Onečišćivalo apsorbira UV zračenje što ga dovodi u pobuđeno stanje pri čemu može doći do njegove razgradnje[19]. Ultraljubičastom zračenju pripada područje valnih duljina od 10 nm do 400 nm. Podjela

područja ultraljubičastog zračenja je određena ISO standardom i prikazana je u tablici 4[26]. Grafički prikaz elektromagnetskog spektra zračenja prikazan je na slici 4.

Tablica 4. Podjela ultraljubičastog zračenja prema normi ISO-21348[26]

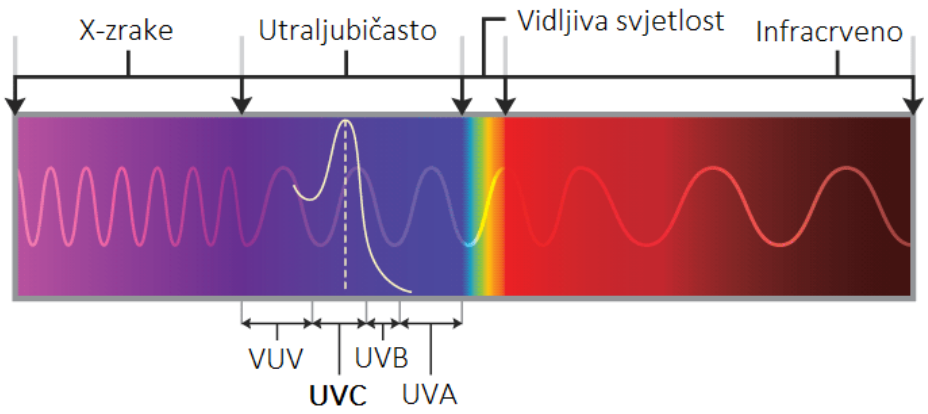
Naziv područja	Kratica	Raspon valnih duljina, nm
Ultraljubičasto	UV	100 - 400
Vakuumsko ultraljubičasto	VUV	10 – 200
Ekstremno ultraljubičasto	EUV	10 – 121
Vodikovo Lyman-alfa	H Lyman-α	121 – 122
Daleko ultraljubičasto	FUV	122 – 200
Ultraljubičasto C	UVC	100 – 280
Srednje ultraljubičasto	MUV	200 – 300
Ultraljubičasto B	UVB	280 – 315
Blisko ultraljubičasto	NUV	300 – 400
Ultraljubičasto A	UVA	315 – 400

Za apsorpciju ultraljubičastog i vidljivog zračenja u organskim molekulama odgovorne su dvije vrste elektrona[27]:

- Zajednički (podijeljeni) elektroni koji izravno sudjeluju u stvaranju veze, te su stoga pridijeljeni više nego jednom atomu.
- Nepodijeljeni vanjski elektroni koji su uglavnom smješteni oko atoma kao što su kisik, halogeni elementi, sumpor i dušik.

Valne duljine pri kojima organska molekula apsorbira zračenje ovise o jakosti kojom su vezani njezini elektroni u kovalentnim vezama. Podijeljeni elektroni u jednostrukim vezama kao što su ugljik-ugljik ili ugljik-vodik su tako čvrsto vezani da njihovo pobuđivanje zahtjeva energije koje odgovaraju valnim duljinama u vakuumskom ultraljubičastom području (ispod 180 nm). Organski spojevi s dvostrukim ili trostrukim vezama imaju relativno slabo vezane elektrone u nezasićenim vezama, te se lako pobuđuju[27]. Kako bi se takve organske molekule pobudile, moraju se ozračiti ultraljubičastim zračenjem valnih duljina između 200 i 400 nm[10]. Za obradu

vode najznačajniji dio ultraljubičastog zračenja je UVC područje, jer većina organskih onečišćivača apsorbira svjetlost unutar tog spektralnog područja[19].



Slika 4. Elektromagnetski spektar zračenja[28]

Najčešći izvori zračenja u UVC području su niskotlačne živine lampe. Ukupno zračenje ovih izvora sastoji se od skupine gotovo monokromatskih zračenja kod nekoliko specifičnih valnih duljina. Najveći intenzitet zračenja, više od 80% ukupnog, je kod 253,7 nm, odnosno 254 nm[29].

2.4. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Kromatografija je metoda odvajanja koja se zasniva na različitom afinitetu komponenti uzorka između dvije faze od kojih je jedna nepokretna (stacionarna) a druga pokretna (mobilna). Nepokretna faza može biti čvrsta ili tekuća, a pokretna tekuća (tekućinska kromatografija) ili plinovita (plinska kromatografija). Komponente se pod utjecajem mobilne faze kreću kroz stacionarnu fazu različitom brzinom i tako se razdvajaju[30].

Za detekciju i kvantifikaciju tvari razdvojenih tekućinskom kromatografijom u praksi najčešće se koriste UV-DAD (engl. *UltraViolet-Diode Array Detector*) i maseni spektrometri. Farmaceutici te drugi spojevi koji se analiziraju tekućinskom kromatografijom mogu se identificirati pomoću retencijskih vremena i apsorpcijski spektara u slučaju UV-DAD detekcije, odnosno pomoću masenih spektara putem masenog spektrometra. Ispitivane tvari kvantificiraju se magnitudom odziva korištenog detektora.

Povećanje prijava detekcija vrlo niskih koncentracija farmaceutika u različitim okolišnim matricama se najviše može pripisati tehnološkim napretkom u osjetljivosti i preciznosti opreme za detektiranje i analitičkim metodama. Plinska kromatografija ili tekućinska kromatografija s masenom spektrometrijom ili dvostrukom masenom spektrometrijom su najčešće korištene napredne metode koje mogu detektirati 17β-estradiol i ostale farmaceutike koncentracije do jednog nanograma po litri u vodi[2]. Te analitičke metode su skupe, dugotrajne i zahtijevaju visoki stupanj znanja. Umjesto njih može se koristiti tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (oznaka HPLC) s ultraljubičastim ili fluorescentnim detektorima, ukoliko praćeno onečišćivalo ima kromofore koji osiguravaju apsorpciju zračenja.

HPLC pomoću visokog tlaka potiskuje otapalo kroz kolone koje sadrže fino usitnjene čestice na kojima se odvija razdvajanje. Razlikujemo kromatografiju na normalnim i obrnutim fazama. Uređaji za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti sastoje se od[27]:

- Spremnika pokretne faze – jedan ili više napravljeni od stakla ili čelika u kojima se nalazi otapalo.
- Sustav za obradu otapala – uklanjaju čvrste čestice i plinove iz tekućina zato što mjehurići i čestice mogu ometati rad detektora.
- Crpke – ostvaruju visoke tlakove i protoke od 0,1 do 10 mL/min. Upotrebljavaju se crpke s vijčanim pogonom, recipročna pumpa i pneumatske crpke.
- Sustav za unošenje uzorka – uzorak se u kolonu najčešće unosi putem plinskog ventila uz kojeg se nalazi više izmjenjivih petlji kojima se u kolonu mogu unositi količine uzorka od 5 do 500 µL.
- Kolone – najčešće su izrađene od čeličnih cijevi, ali mogu biti od stakla ili plastike. Cijevi su napunjene zrnima promjera od 3 do 10 µm s 40 000 do 100 000 tavana/m. Kao punilo se najčešće upotrebljavaju se mikroporozne čestice silikagela. Upotrebljavaju se i punila koja sadrže glinicu, porozne polimere i ionske izmjenjivače.
- Detektor – detektorski sustav ovisi o prirodi uzorka. Najčešće se upotrebljavaju detektori koji se temelje na apsorpciji ultraljubičastog ili vidljivog zračenja.

3. Eksperimentalni dio

3.1. Kemikalije

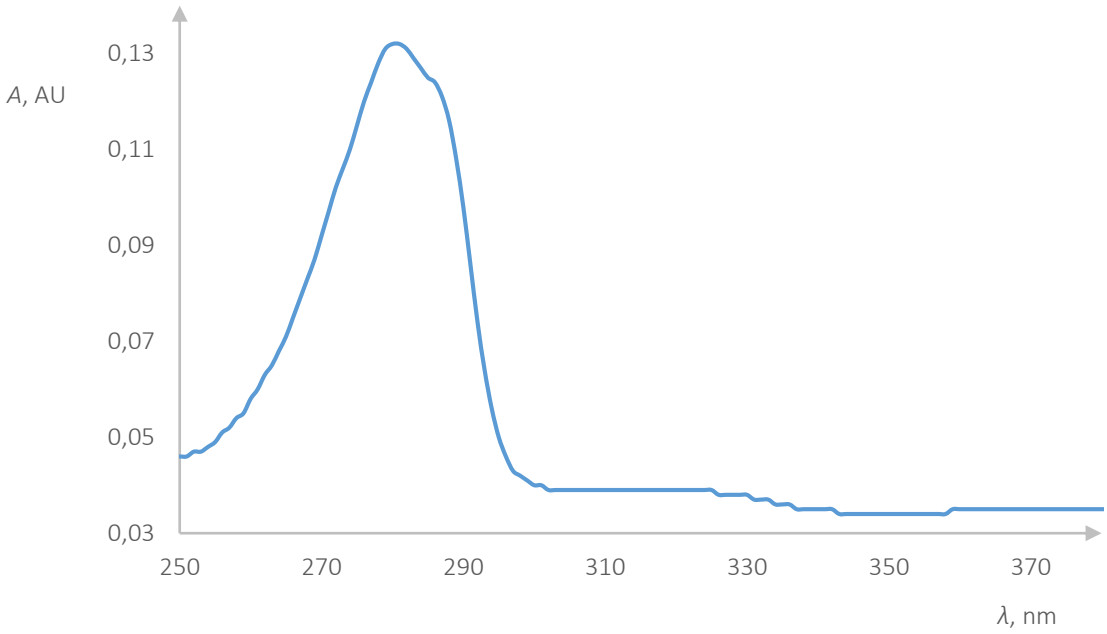
U radu je korišten 17β-estradiol (w = 98%) tvrtke Acros Organics (Njemačka) bez dodatnog pročišćavanja. Za razrjeđivanje je korištena deionizirana voda dobivena s uređajem Hach Millipore Direct-Q 3 UV. Organsko otapalo acetonitril je HPLC čistoće tvrtke J.T. Baker (SAD). Za neutralizaciju uzorka je korištena razrijeđena sumporna kiselina i natrijev hidroksid (Kemika, Jugoslavija).

3.2. Priprava vodene otopine 17β-estradiola

Acetonitril je razrijeđen destiliranom vodom do volumnog udjela od 38%. Odvaga od 14,9 mg 17β-estradiola otopljena je u acetonitrila, a potom je razrijeđena vodom do oznake u tikvici. Za provedbu reakcije 80 mL uzorka je preneseno u reaktor. Kiselost otopine je izmjerena pH-metrom (Schott Handylab pH/LB 12) i Ag/AgCl pH elektrodom (SI Analytics pH-Electrode BlueLine 24 pH). Početna kiselost uzorka iznosila je pH = 6,1 koja je pomoću razrijeđenih otopina sumporne kiseline (c < 0,5 g/dm^3) i natrijevog hidroksida (c < 0,25 g/dm^3) korigirana na vrijednost pH = 7. Pripremljena otopina 17β-estradiola koncentracije c_0 = 55 µmol dm^{-3} korištena je u eksperimentima UVC i UVA fotolize.

3.3. Apsorpcijski spektar

Apsorpcijski spektar otopine 17β-estradiola snimljen je pomoću Shimadzu UV-1650 PC spektrofotometra s kvarcnim kivetama duljine optičkog puta od 1 cm. Spektar je prikazan na slici 5. u području od 250 do 380 nm. Apsorpcijski spektar u području od 190 do 760 nm dan je u prilogu 2. Iz snimljenog spektra vidljivo je kako 17β-estradiol ima apsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 280 nm što odgovara literaturnim vrijednostima.

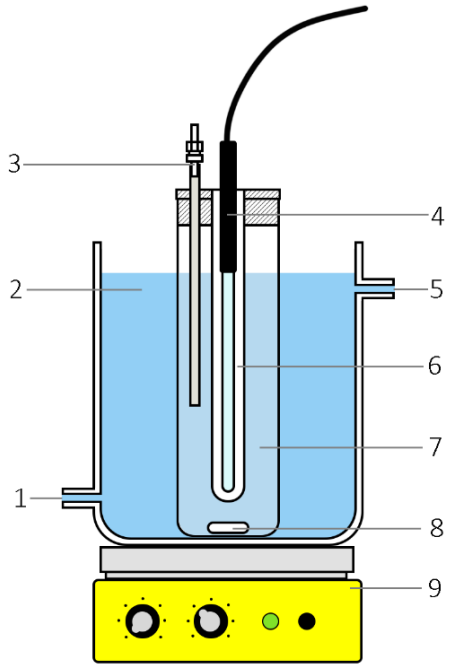


Slika 5. Apsorpcijski spektar 17β-estradiola

3.4. Proces fotolize

UV-fotoliza 17β-estradiola u vodenoj otopini provedena je korištenjem UVC lampe (UVP Pen-Ray, λ_{maks} = 254 nm) i UVA lampe (UVP Pen-Ray, λ_{maks} = 365 nm) pri atmosferskom tlaku. Reaktor je valjkastog oblika dimenzija 37,4x110 mm, s kvarcnom kivetom za prihvat izvora zračenja dimenzija 16,0x86,5 mm, koja prolazi geometrijskom sredinom lampe. Reaktor je smješten u protočnoj vodenoj kupelji. U reaktor je preneseno 80 mL pripremljene otopine 17β-estradiola. Otopina je stalno miješana magnetskom miješalicom. Cijela aparatura (slika 6) smještena je u digestoru kako bi se smanjila izloženost ozonu koji se stvara pod utjecajem UVC zračenja.

Prije uključivanja UV izvora uzima se prvi uzorak jednokratnom sterilnom štrcaljkom tako da se štrcaljka s podignutim klipom spoji na gumenu cjevčicu. Tri puta se pritisne i povuče klip kako bi se izbacila otopina u cjevčici i kako bi se bolje homogenizirala otopina u reaktoru prije uzimanja uzorka. Zatim se uzme oko 1 mL uzoraka i preko 0,45 µm filtra za štrcaljke se stavi u Eppendorf epruvetu s označenom minutom kada je uzorak uzet iz reaktora. Izvor UV zračenja uključi se par minuta neposredno prije početka reakcije kako bi izvor postigao ujednačeni intenzitet. Umetanjem u kvarcnu kivetu započinje reakcija i simultano se pokreće stoperica. Zatim se uzorak uzima nakon 5, 15, 30 i 45 minuta nakon čega se reakcija prekida.



Slika 6. Shematski prikaz aparature za fotolizu: 1. ulaz rashladne vode, 2. vodena kupelj, 3. gumena cjevčica za uzimanje uzorka, 4. UV lampa, 5. izlaz rashladne vode, 6. kvarcna kiveta, 7. reaktor, 8. magnetić za miješanje, 9. magnetska miješalica

Kako je 17β-estradiol otopljen u vodi uz dodatak acetonitrila, potrebno je provjeriti dolazi li i do razgradnje acetonitrila pod utjecajem UVC zračenja. Postupak je identičan kao i za 17β-estradiol.

3.5. HPLC analiza

Tijekom procesa UVA i UVC fotolize koncentracija 17β-estradiola u uzorku određivala se pomoću Shimadzu modularnog HPLC sustava (slika 7) koji se sastoji od kontrolne jedinice (SCL-10A VP), pumpi (LC-10AD VP), otplinjača (DGU-14A), automatske jedinice za uzimanje uzorka (SIL-10AF), fotodiodnog detektora (SPD-M10A VP) i Waters XBridge C18 kolone (3,5 µm, 4,6x150 mm). Softver instrumenta je Shimadzu CLASS-VP 6.14. Mobilna faza je 38% otopina acetonitrila s protokom 1 mL/min. S obzirom na apsorpcijski spektar (slika 5) kromatograf je postavljen za rad pri 282 ± 8 nm.

3.6. GC analiza

Količina acetonitrila tijekom zasebne reakcije fotolize određena je u plinskom kromatografu (slika 8) s FID detektorom (PerkinElmer AutoSystem XL) i elektrolizerom (Shandong Saikesaisi Hydrogen Energy QL-300A). Kolona (MEGA) je duljine 30 m i promjera 320

µm s MEGA-DAI 1 stacionarnom fazom. Volumen injektiranja je 1 µL, temperatura injektora 120 °C, temperatura kolone 38 °C, temperatura detektora 250 °C, a protok plina nosioca (N_2) 0,4 mL/min. Signal se obrađivao u računalnom programu TotalChrom Navigator 6.2.1. Kako je plinska kromatografija vrlo osjetljiva, bilo je potrebno dodatno razrijediti otopinu acetonitrila u omjeru 1:10 000 (1µL na 100 mL).



Slika 7. Shimadzu modularni HPLC sustav



Slika 8. PerkinElmer AutoSystem XL kromatograf

4. Rezultati i rasprava

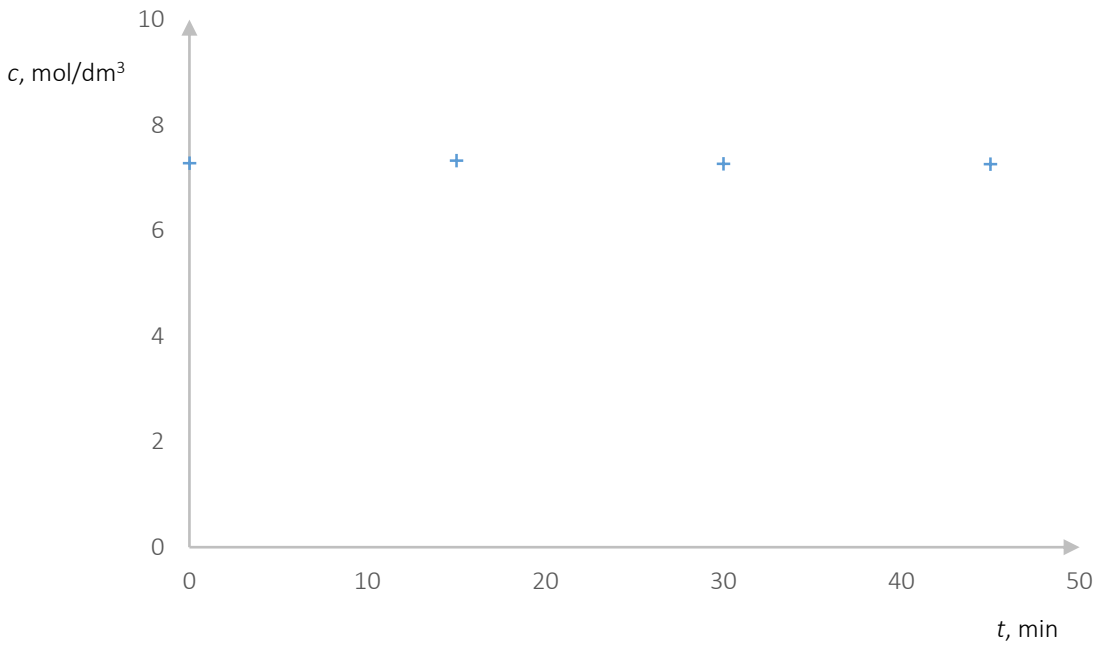
4.1. UVC-fotoliza acetonitrila

U HPLC analizi smjesa acetonitrila i vode je pokretna faza i također se koristi za otapanje 17β-estradiola. Potrebno je koristiti smjesu acetonitrila i vode, s obzirom kako je početna koncentracija 17β-estradiola otopljenog isključivo u vodi vrlo malena i nepogodna za praćenje. Zadana početna koncentracija 17β-estradiola u smjesi volumnog udjela acetonitrila 5% i 10% taloži se nakon 8-12 sati mirovanja smjese. Taloženjem 17β-estradiola nastajali su mali igličasti kristali. U pokretnoj fazi ne dolazi do taloženja stoga se koristila kao otapalo za provedbu fotolize. Otapanjem 17β-estradiola u smjesi acetonitrila u vodi većeg volumnog udjela od 38% imalo bi nepogodan učinak na oblik pikova kromatograma, odnosno došlo bi do distorzije pikova.

Prije početka fotolize 17β-estradiola bilo je potrebno ustanoviti dolazi li i do fotolize acetonitrila kao komponente smjese, što bi smanjilo doprinos kvanta zračenja u fotolizi 17β-estradiola te posljedično uzrokovalo smanjenje efikasnosti procesa fotolize. Iz rezultata prikazanih na tablici 5 i slici 9 može se vidjeti da ne dolazi do razgradnje acetonitrila pod utjecajem UVC zračenja. Promjene koncentracije acetonitrila su vrlo male i iznose -0,07 ± 0,33% što se može pripisati eksperimentalnoj pogrešci. Ovi rezultati su u skladu s očekivanjima obzirom kako acetonitril ne apsorbira zračenje većih valnih duljina 190 nm[31]. U prilogu 3 dan je plinski kromatogram analize acetonitrila.

Tablica 5. Promjena koncentracije acetonitrila tijekom UVC fotolize

t, min	$c_{razr.}$, mmol dm^{-3}	c, mol dm^{-3}	Konverzija, %
0	0,72800	7,28	0,00
15	0,72109	7,33	-0,69
30	0,71452	7,27	0,14
45	0,71416	7,26	0,27



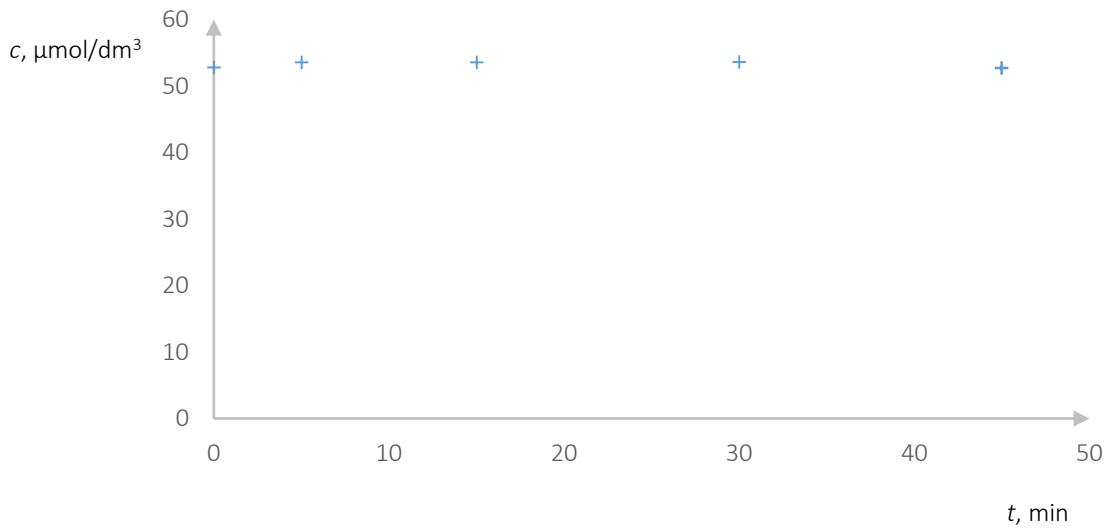
Slika 9. Promjena koncentracije acetonitrila tijekom UVC fotolize

4.2. UVA-fotoliza 17β-estradiola

HPLC kromatogrami uzoraka 17β-estradiola prikupljenih tijekom UVA-fotolize dani su u prilozima 4-8. Tijekom UVA-fotolize promjena koncentracije 17β-estradiola iznosi -0,81 ± 0,79% (tablica 6), što se može pripisati eksperimentalnoj pogrešci. Na slici 10 koja prikazana je promjena koncentracije 17β-estradiola s vremenom. I jasno se vidi da nakon 45 minuta provedbe reakcije nije došlo do razgradnje. Na apsorpcijskom spektru (slika 5), vidljivo je kako je apsorbancija17β-estradiola u UVA području znatno manja u odnosu na UVC, stoga ne dolazi do mjerljive promjene koncentracije u ispitivanom trajanju UVA-fotolize.

Tablica 6. Promjena koncentracije 17β-estradiola tijekom UVA fotolize

t, min	*c*, µmol dm^{-3}	Konverzija, %
0	52,829	0,00
5	53,591	-1,44
15	53,594	-1,45
30	53,652	-1,56
45	52,710	0,23



Slika 10. Promjena koncentracije 17β-estradiola tijekom UVA fotolize

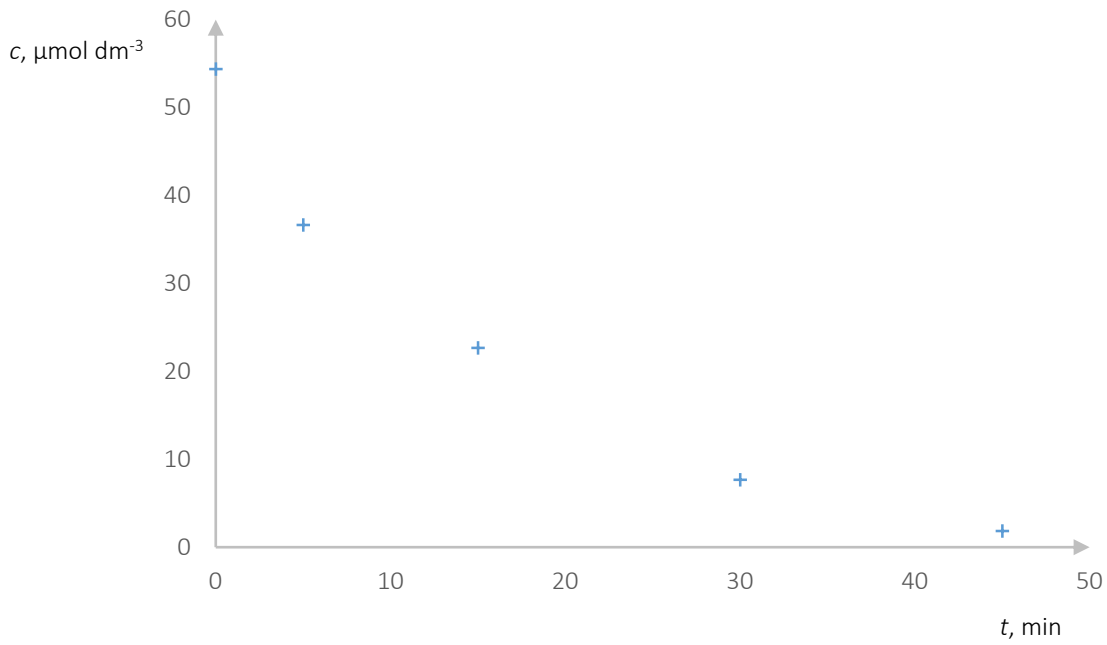
Rezultati UVA-fotolize ukazuju kako bi fotoliza 17β-estradiola pod utjecajem Sunčeva zračenja bila spor i neučinkovit proces. Malen udio ukupne energije Sunčevog zračenja otpada na UV zračenje, od čega svega 6,3% otpada na UVA. R. Chowdhury[18] pokazao je kako u solarnom simulatoru intenziteta zračenja 100 mW cm^{-2} i valnih duljina 290-700 nm dolazi do fotorazgradnje 17β-estradiola. 17β-estradiol ima apsorpcijski maksimum na 280 nm dok je apsorpcija u području 300-350 nm slabo izražena. Stoga je zabilježena 50% konverzija nakon 10 sati provedbe fotolize.

4.3. UVC-fotoliza 17β-estradiola

HPLC kromatogrami uzoraka 17β-estradiola prikupljenih tijekom UVC-fotolize dani su u prilozima 9-13. Koncentracije 17β-estradiola u uzorcima (tablice 7) grafički su prikazane na slici 11. Vidljivo je da se fotoliza 17β-estradiola pod UVC zračenjem odvija brzo. Konverzija 17β-estradiola nakon 45 minuta UVC-fotolize iznosi 96,59%.

Tablica 7. Promjena koncentracije 17β-estradiola tijekom UVC fotolize

t, min	*c*, µmol dm^{-3}	Konverzija, %
0	54,385	0,00
5	36,666	32,58
15	22,685	58,29
30	7,669	85,90
45	1,855	96,59



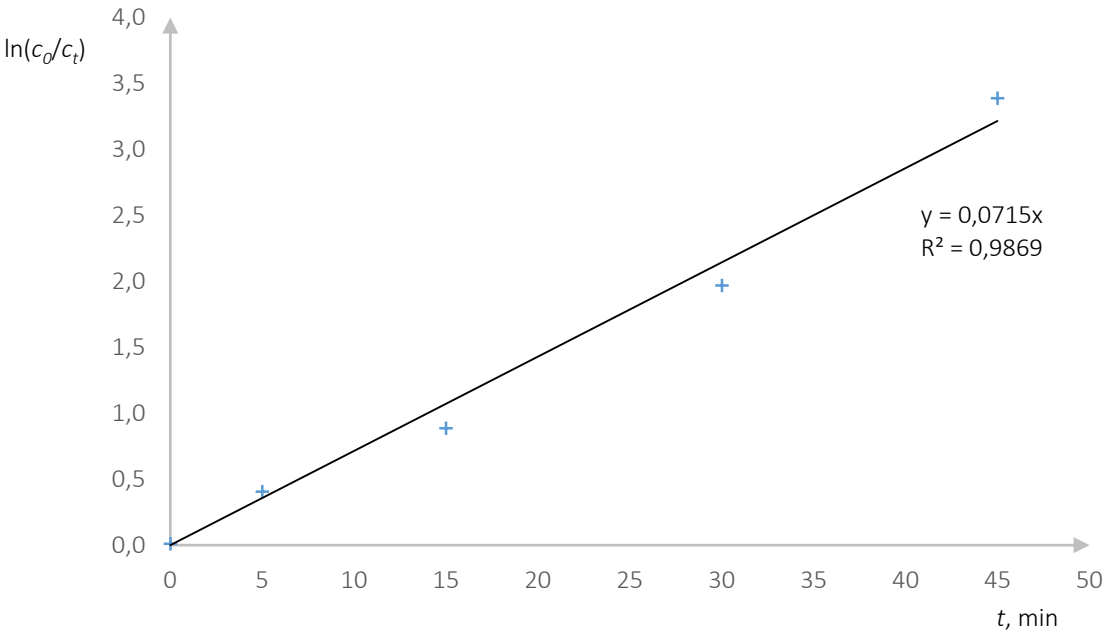
Slika 11. Promjena koncentracije 17β-estradiola tijekom UVC fotolize

Reakcija UVC-fotolize 17β-estradiola može se prikazati jednadžbom (1):

$$\mathrm{E2} \xrightarrow{h\upsilon} \text{razgradni produkti} \qquad (1)$$

Pri čemu je $\mathrm{E2}$ 17β-estradiol, h Planckova konstanta, a υ frekvencija zračenja (s^{-1}).

Slika 12 prikazuje linearnu ovisnost $\ln(c_0/c_t)$ o vremenu, zbog čega se UVC-fotoliza 17β-estradiola u vodenom mediju može opisati kinetikom pseudo prvog reda.



Slika 12. Grafičko određivanje konstante brzine reakcije UVC fotolize 17β-estradiola

Konstanta brzine reakcije pseudo prvog reda, k (min^{-1}), može se izračunati pomoću jednadžbe (2):

$$\ln\frac{c_0}{c_t} = kt \quad (2)$$

Pri čemu je c koncentracija 17β-estradiola u vremenu 0 i vremenu t (μmol/dm^3), a t je vrijeme reakcije (min). Konstanta brzine reakcije iznosi 0,0715 min^{-1}. Liu i Liu[3] su eksperimentalno odredili konstantu brzinu reakcije fotolize jednaku 0,016 min^{-1} za otopinu 17β-estradiola koncentracije 13 mg/dm. Međutim, u navedenom radu, 17β-estradiol je prvotno otopljen na etanolu koji apsorbira UV zračenje te je apsorbirao dio fotona i posljedično smanjio brzinu reakcije fotolize 17β-estradiola[17].

Vrijeme potrebno za smanjenje početne koncentracije 17β-estradiola na 50% početne vrijednosti može se izračunati pomoću jednadžbe (3):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

Pri čemu je k konstanta brzine reakcije pseudo prvog reda (min^{-1}) te iznosi 9,69 min.
Molarni apsorpcijski (ekstinkcijski) koeficijent ε_λ (L mol^{-1} cm^{-1}) 17β-estradiola pri λ = 254 nm je izračunat preko Lambert-Beerovog zakona (4):

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot b \cdot c_0 \quad (4)$$

Pri čemu je A_λ apsorbancija 17β-estradiola pri λ = 254 nm,b duljina optičkog puta kivete (cm), a c_0 početna koncentracija 17β-estradiola (mol L^{-1})te iznosi 872,73 L mol^{-1} cm^{-1}.
Doseg kvantnog zračenja (Φ) je važan parametar za mjerenje učinkovitosti fotorazgradnje i definiran je omjerom broja pretvorenih molekula i broja apsorbiranih kvanta svjetlosti (5)[25]:

$$\Phi = \frac{\text{broj kemijski pretvorenih molekula}}{\text{broj apsorbiranih kvanta svjetlosti}} \quad (5)$$

Taj omjer naziva se kvantno iskorištenje fotokemijske reakcije. Kod monokromatskog zračenja, teoretska vrijednost kvantnog prinosa fotolize računa se prema jednadžbi (6)[18]:

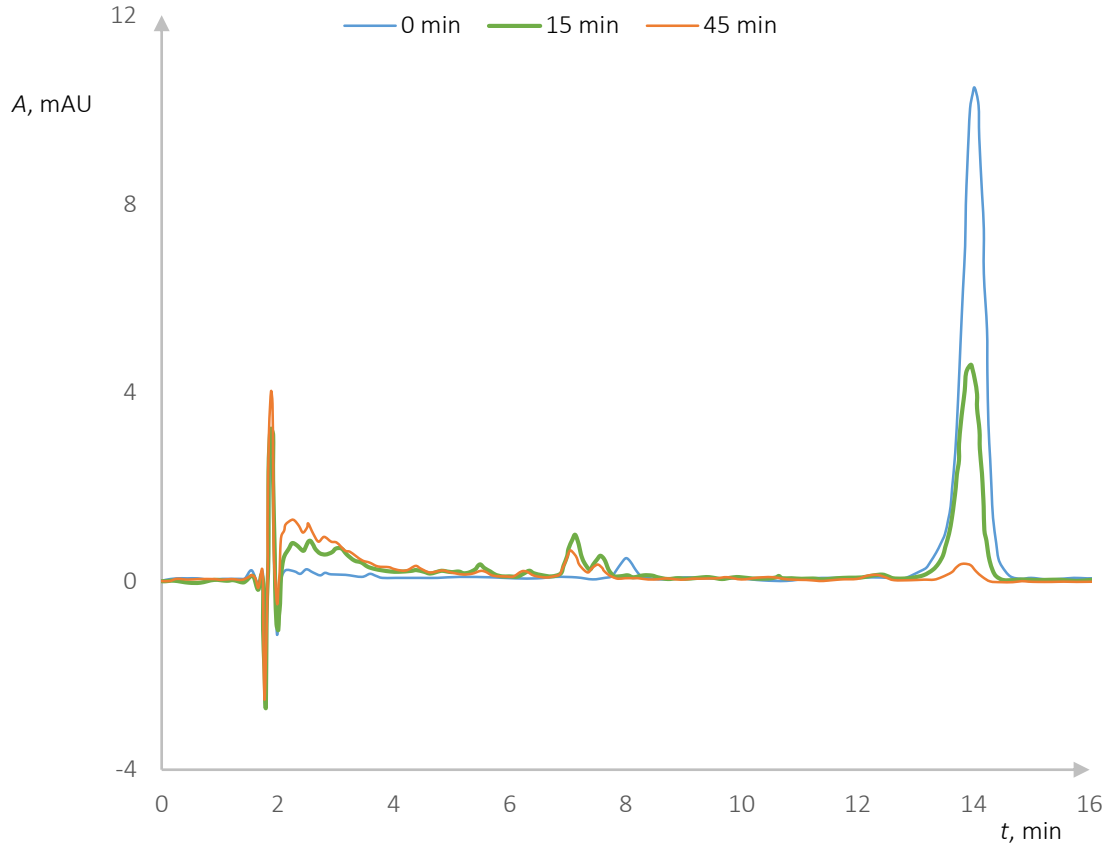
$$\Phi_\lambda = \frac{k}{2{,}303 \cdot I_{0,\lambda} \cdot \varepsilon_\lambda \cdot z} \quad (6)$$

Pri čemu je $k$konstanta brzine reakcije pseudo prvog reda (min^{-1}), $I_{0,\lambda}$ fluks fotona pri valnoj duljini λ (Ein L^{-1} s^{-1}), a z duljina optičkog puta reaktora (cm).

Uz jednadžbu (6) doprinos kvanta zračenja može se izračunati pomoću još jedne jednadžbe, a njihova usporedba je dana u prilogu 14.

Fluks fotona je eksperimentalno izmjeren i iznosi 5,19 · 10^{-6}Ein L^{-1} s^{-1}. Dobiveni doseg kvanta zračenja UVC fotolize iznosi 0,1068 mol Ein^{-1} te je veći u odnosu na 0,067 mol Ein^{-1} koliko su odredili Mazellier i suradnici[32].

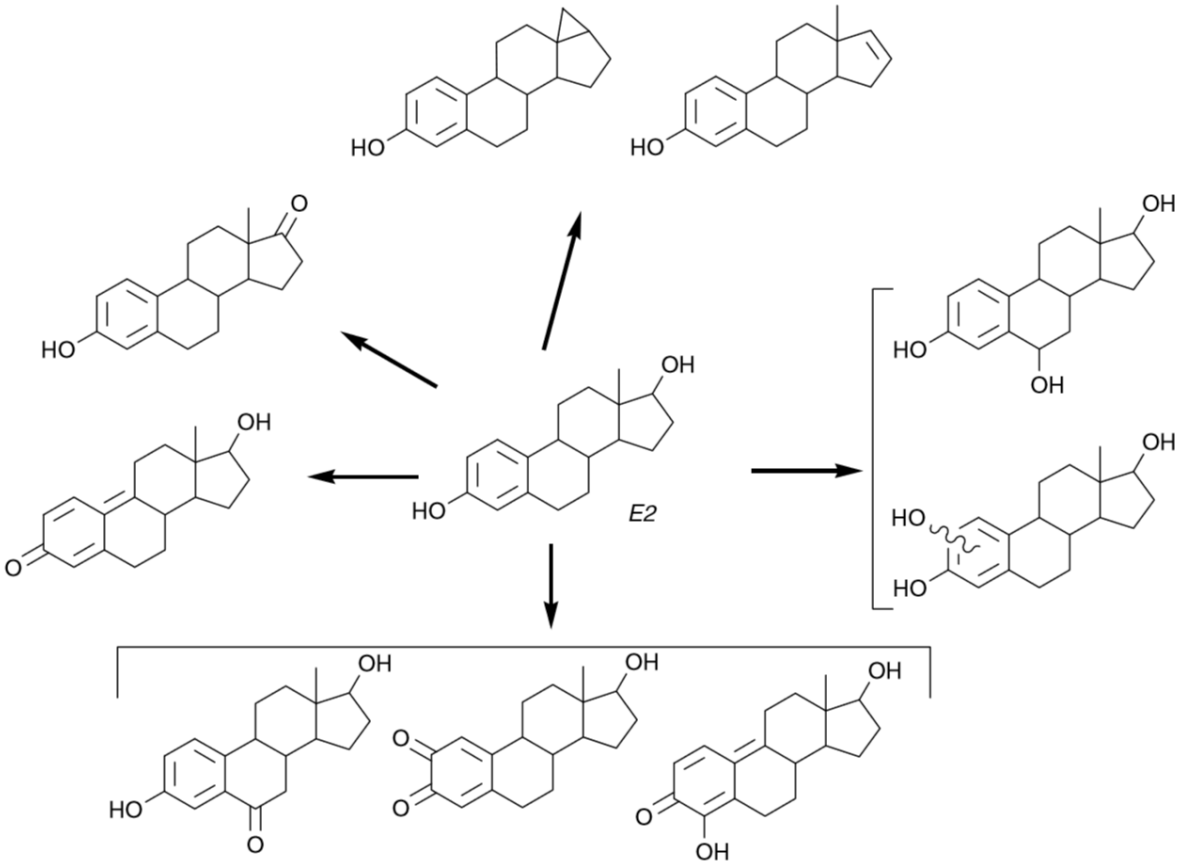
Na slici 13 je prikazan kromatogram uzorka vodene otopine 17β-estradiola u vremenu *t*= 0 i uzoraka nakon provedene UVC fotolize. Retencijsko vrijeme 17β-estradiola iznosi 14,04 ± 0,17 min. Vidljivo je smanjenje koncentracije 17β-estradiola s vremenom provedbe fotolize. Nakon 45 minuta provedbe fotolize, koncentracija 17β-estradiola smanjila se s početnih 54,385 µmol dm^{-3} na 1,855 µmol dm^{-3}. Također je vidljivo nastajanje određenih fotoprodukata, što se očituje u nastanku novih pikova na kromatogramu s manjim retencijskim vremenima od 17β-estradiola.



Slika 13. Usporedba kromatograma UVC fotolize u vremenu 0 i 45 min

Pri ispitivanim uvjetima provedbe procesa UVC-fotolize ostvaren je visok stupanj konverzije uz nastanak razgradnih produkata. Dobiveni rezultati ukazuju da bi UVC-fotoliza i na njoj temeljeni napredni oksidacijski procesi mogli biti učinkovite metode za uklanjanje 17β-estradiola iz vode.

P. Mazellier i suradnici[32] u svom radu su koristeći LC/MS analizu ukazali na spojeve koji nastaju tijekom fotokatalitičke razgradnje (slika 14).



Slika 14. Fotoprodukti UVC-fotolize 17β-estradiola[32]

Radi se o kinon-metid i 1,2-kinon derivatima, ciklo-monohidroksilatni fotoprodukti i fotoprodukti nastali hidroksilacijom na zasićeni prsten povezan s aromatskim prstenom.

5. Zaključak

Na temelju rezultata ustanovljeno je kako je smjesa acetonitrila i vode pogodno otapalo za provedbu ispitivanja fotolize 17β-estradiola.

Pod utjecajem UVA zračenja nije došlo do fotolize 17β-estradiola u ispitivanom trajanju fotolize od 45 min.

Reakcija pod djelovanjem UVC zračenja je brza i koncentracija 17β-estradiola opada eksponencijalno, pri čemu se nakon 45 minuta smanjila za 96,59%.

Vrijeme potrebno za razgradnju 17β-estradiola na 50% početne koncentracije u vodenom mediju pod utjecajem UVC zračenja iznosi 9,69 min.

Fotoliza 17β-estradiola može se opisati kinetikom pseudo-prvoga reda, pri čemu konstanta brzine reakcije iznosi 0,0715 min^{-1}.

Molarni apsorpcijski koeficijent pri 254 nm iznosi 872,73 L mol^{-1} cm^{-1} a doseg kvanta zračenja 0,1068 mol Ein^{-1}.

Dobiveni rezultati ukazuju da bi UVC-fotoliza i na njoj temeljeni napredni oksidacijski procesi mogli biti učinkovite metode za uklanjanje 17β-estradiola iz vode.

6. Literatura

1. Kaštelan-Macan, M., Petrović, M. ur., Analitika okoliša, HINUS, Zagreb, 2013., str. 75-85.
2. World Health Organisation, Pharmaceuticals in drinking-water, WHO, 2012., str. 2-29.
3. http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/ppcp/ [10.7.2015.]
4. Chemicals and the Water Framework Directive: Draft Environmental Quality Standads. 17β-Estradiol, SCHER, European Union, 2011.
5. Rujnić-Sokele, M., Bisfenol A – kemikalija oko koje se lome koplja, Polimeri, 33 (2012.) 130.
6. http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/hormonski-poremecaji/endokrini-sustav-i-hormoni/endokrine-zlijezde [1.7.2015.]
7. Chowdhury, R. R., Solar degradation of estrone and 17β-estradiol, University of Western Ontario, 2009., str. 6.
8. Karlson, P., Biokemija za studente kemije i medicine, 8. izd., Školska knjiga, Zagreb, 1993., str. 340.
9. http://medicinski.lzmk.hr/estrogeni/ [1.6.2015.]
10. Pine, S. H., Organska kemija, 3. izd., Školska knjiga, Zagreb, 1994., str. 883-1030
11. Lewis, R.J. Sr., Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 15. izd., John Wiley & Sons, New York, 2007., str. 512.
12. Toran-Allerand, C. D. et al., 17α-Estradiol: A Brain-Active Estrogen?, Endocrinology, 2005., 146 (9): 3843-3850.
13. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5757 [1.6.2015.]
14. http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+3589 [1.6.2015.]
15. Brion, F. et al., Impacts of 17β-estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in zebrafish (*Danio rerio*), Aquatic Toxicology, 68 (2004.) 193-217.
16. Silva, C.P., Otero, M., Esteves, V., Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review, Environmental Pollution, 165 (2012.) 38-58.
17. Liu, B., Liu, X., Direct photolysis of estrogens in aqueous solutions, Science of the Total Environment 320 (2004.) 269-274.

18. Chowdhury, R. R., Solar Degradation of Estrone and 17β-Estradiol, doktorski rad, University of Western Ontario, 2010.
19. Harvey, M., The impacts of UV direct photolysis and UV/H_2O_2 advanced oxidation processes on the formation of nitrosamines and organic chloramines from subsequent chlor(am)ination, magistarski rad, University of Toronto, 2009.
20. Zhang, Y., Zhou, J. L., Ning, B., Photodegradation of estrone and 17 estradiol in water, Water research, 41 (2007) 19-26
21. Linden, K. G. et al., UV and UV/H_2O_2 degradation and subsequent toxicity of endocrine disrupting chemicals in water, istraživanje, Duke University, 2002.
22. Fukuhara, T. et al., Adsorbability of estrone and 17β-estradiol in water onto activated carbon, Water research, 40 (2006.) 241-248.
23. Zhang, Y., Zhous, J. L., Removal of estrone and 17β-estradiol from water by adsorbtion, Water research, 39 (2005.) 3991-4003.
24. Elnwishy, N. et al., A Potential 17- β Estradiol degrader Bacterium Isolated from Sewage water, Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 2012., 4 (1): 27- 34.
25. Brdička, R., Osnove fizikalne kemije, Zagreb: Školska knjiga, 1969., str. 850.
26. ISO 21348:2007 Space environment (natural and artificial) - Process for determining solar irradiances
27. Skoog, D. A., West D. M., Holler F. J., Osnove analitičke kemije, Zagreb: Školska knjiga, 1999., str. 544, 692-700.
28. http://www.h2odistributors.com/how-ultraviolet-purification-works.asp [23.6.2015.]
29. Ljubas, D., Tehnološka primjena sunčeva zračenja za razgradnju organskih tvari površinskih voda, magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, 2000., str. 11.
30. http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=kromatografija (zadnja izmjena teksta: 22. veljače 2015.)
31. Bruno, T. J., Svoronos, P. D. N., CRC Handbook of Basic Tables for Chemical Analysis, 3 izd., CRC Press, Boca Raton, 2010.
32. Mazellier, P., Méité, L., De Laat J., Photodegradation of the steroid hormones 17β-estradiol (E2) and 17α-ethinylestradiol (EE2) in dilute aqueous solution, Chemosphere 73 (2008.) 1216-1223.

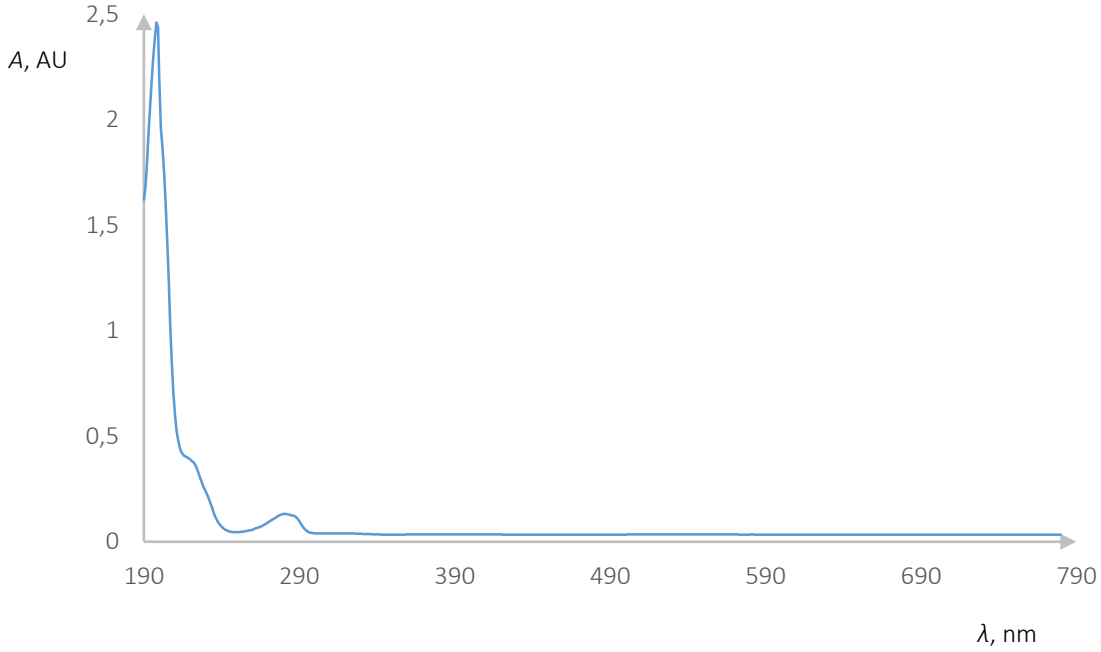
7. Popis korištenih simbola

Simbol	Mjerna jedinica	Opis
λ_{maks}	nm	Najviša vrijednost valne duljine koju molekula apsorbira
w	%	Maseni udio
c	µmol dm^{-3}	Masena koncentracija
k	min^{-1}	Konstanta brzine reakcije
$t_{1/2}$	min	Poluživot
t	min	Vrijeme
b	cm	Duljina optičkog puta kivete za spektrofotometar
z	cm	Duljina optičkog puta UV zračenja u reaktoru
A	-	Apsorbancija
I_0	Ein L^{-1} s^{-1}	Protok fotona
Φ	mol Ein^{-1}	Kvantni prinos
λ	nm	Valna duljina
ε	mol Ein^{-1}	Molarni apsorpcijski (ekstinkcijski) koeficijent

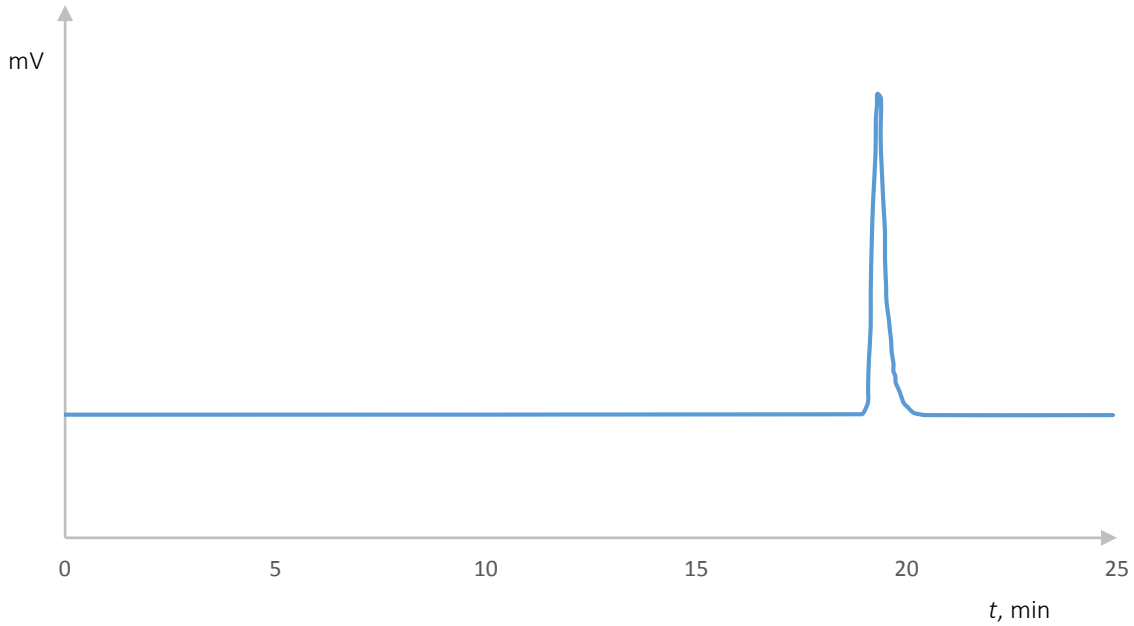
8. Prilozi

Prilog 1. CD-R disk

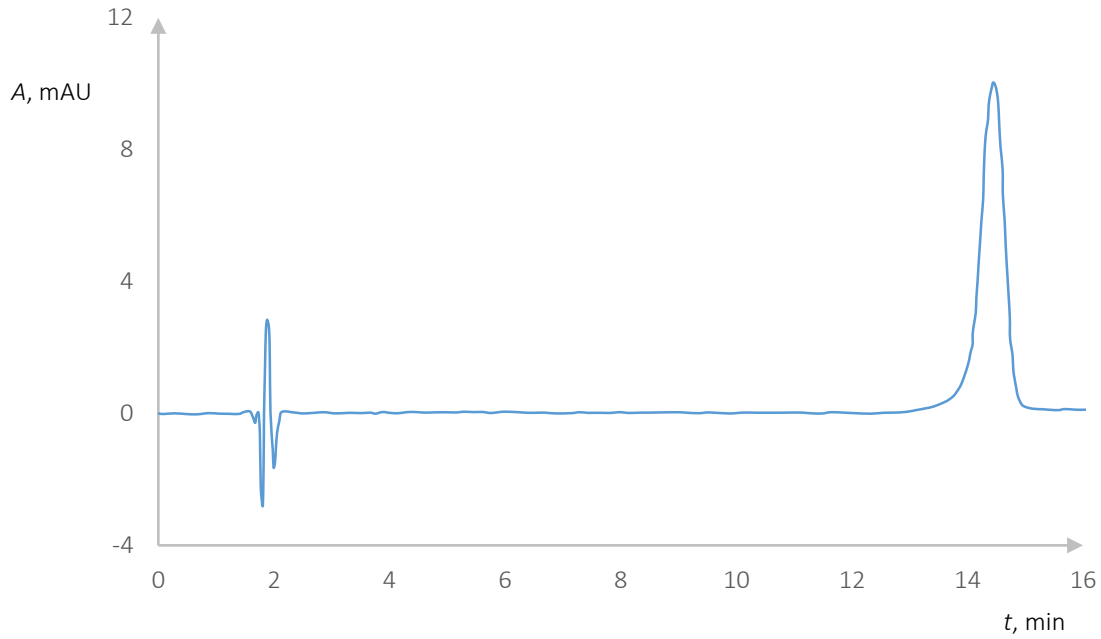
Prilog 2. Apsorpcijski spektar 17β-estradiola koncentracije 50 μg/dm^3 u 38% CH_3CN u području valnih duljina od 190-790 nm



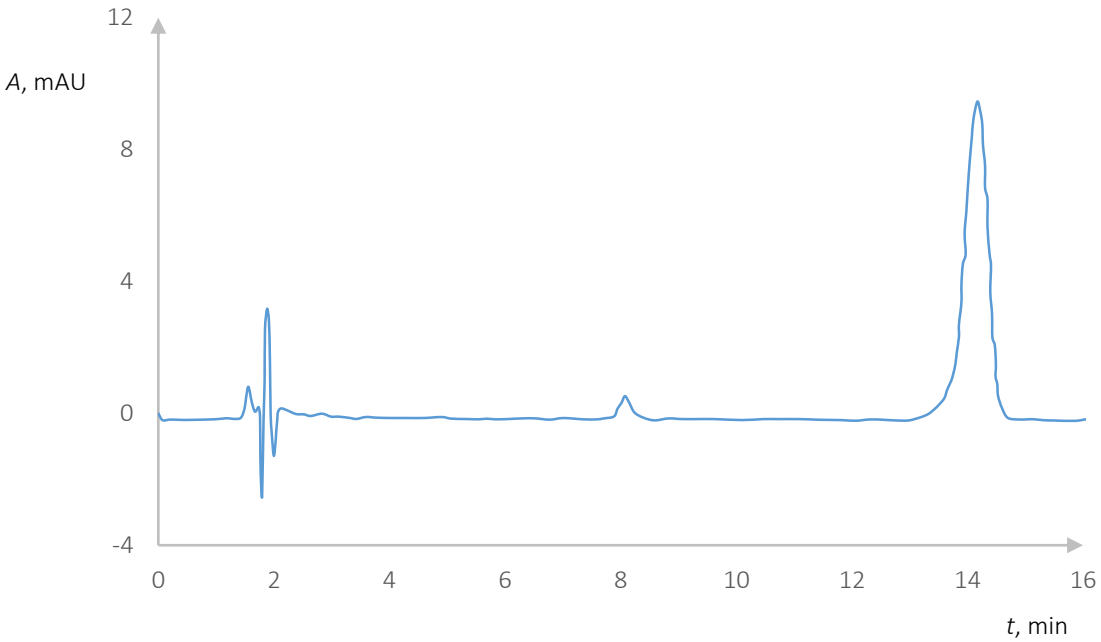
Prilog 3. GC kromatogram UVC fotolize acetonitrila



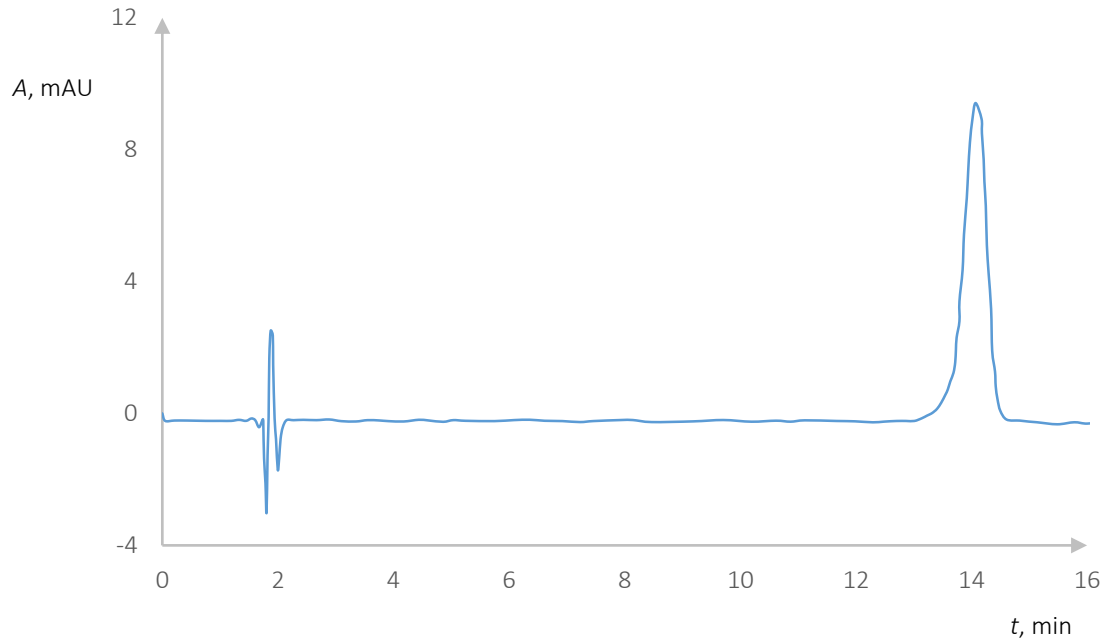
Prilog 4. HPLC kromatogram UVA-fotolize 17β-estradiola u vremenu $t = 0$



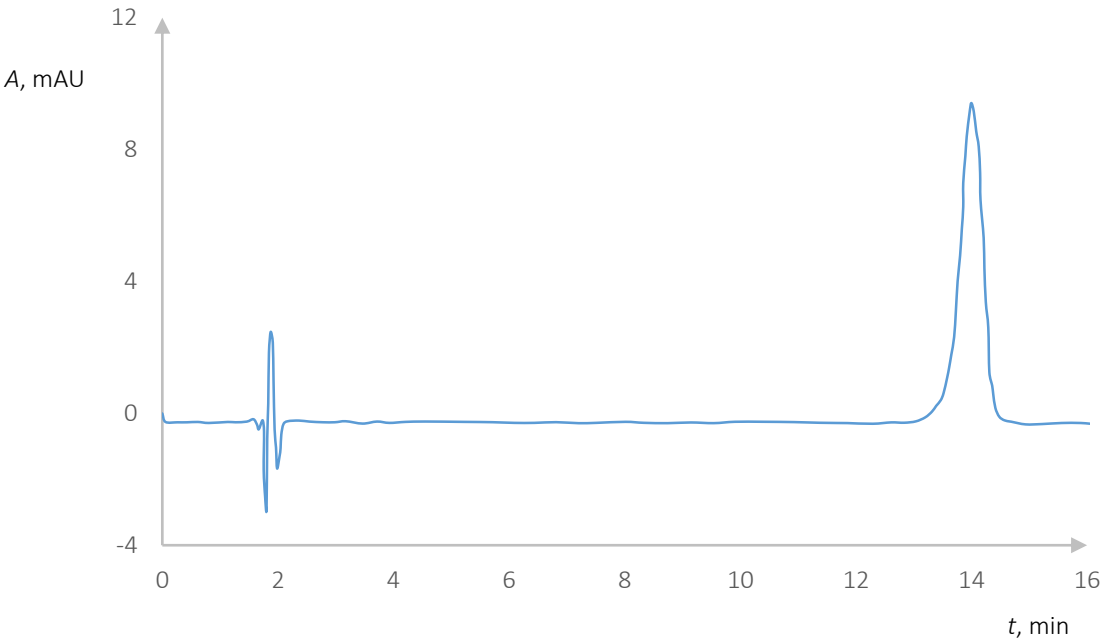
Prilog 5. HPLC kromatogram UVA-fotolize 17β-estradiola nakon 5 min provedbe fotolize



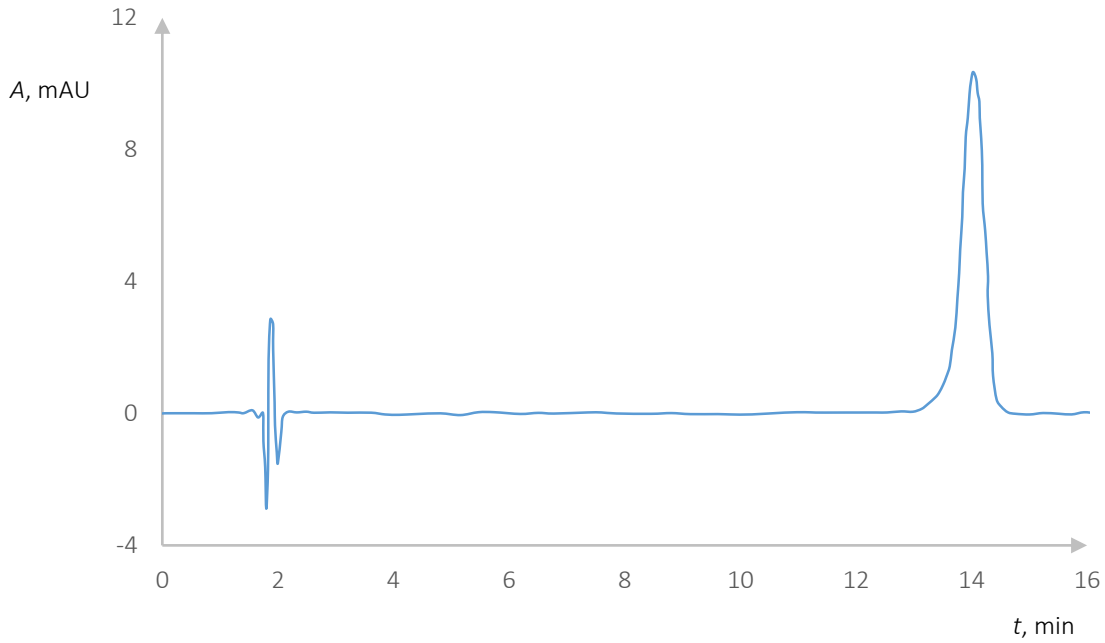
Prilog 6. HPLC kromatogram UVA-fotolize 17β-estradiola nakon 15 min provedbe fotolize



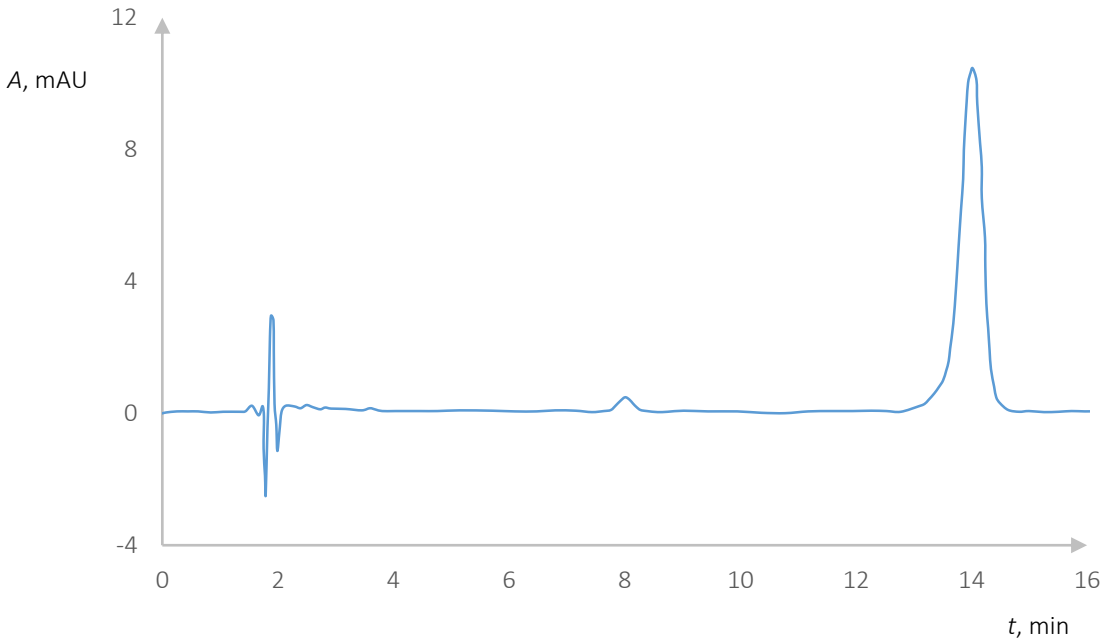
Prilog 7. HPLC kromatogram UVA-fotolize 17β-estradiola nakon 30 min provedbe fotolize



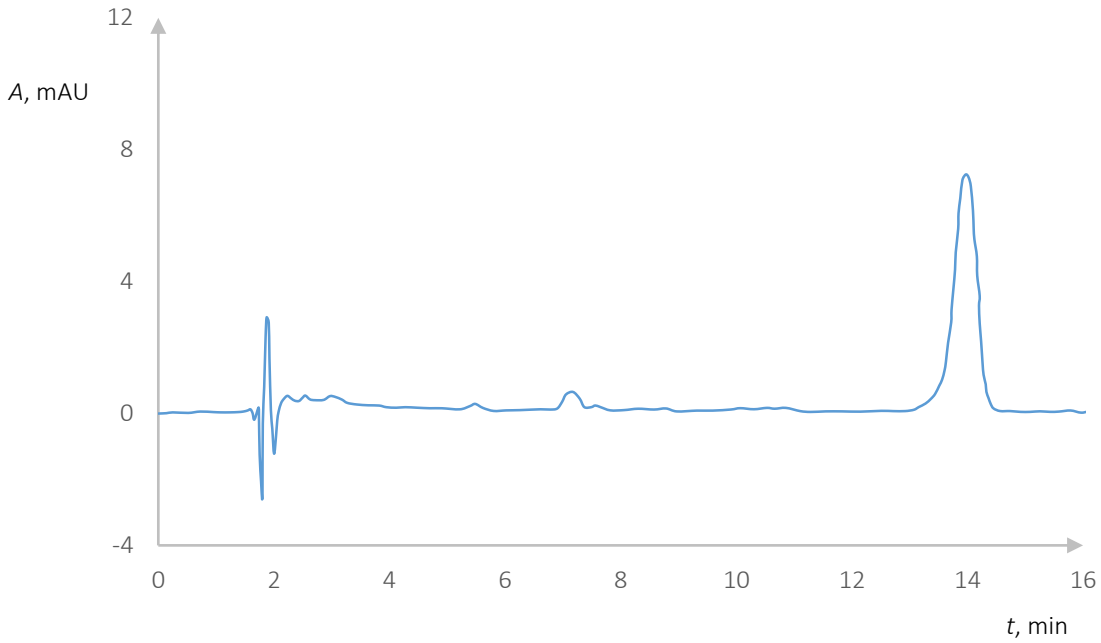
Prilog 8. HPLC kromatogram UVA-fotolize 17β-estradiola nakon 45 min provedbe fotolize



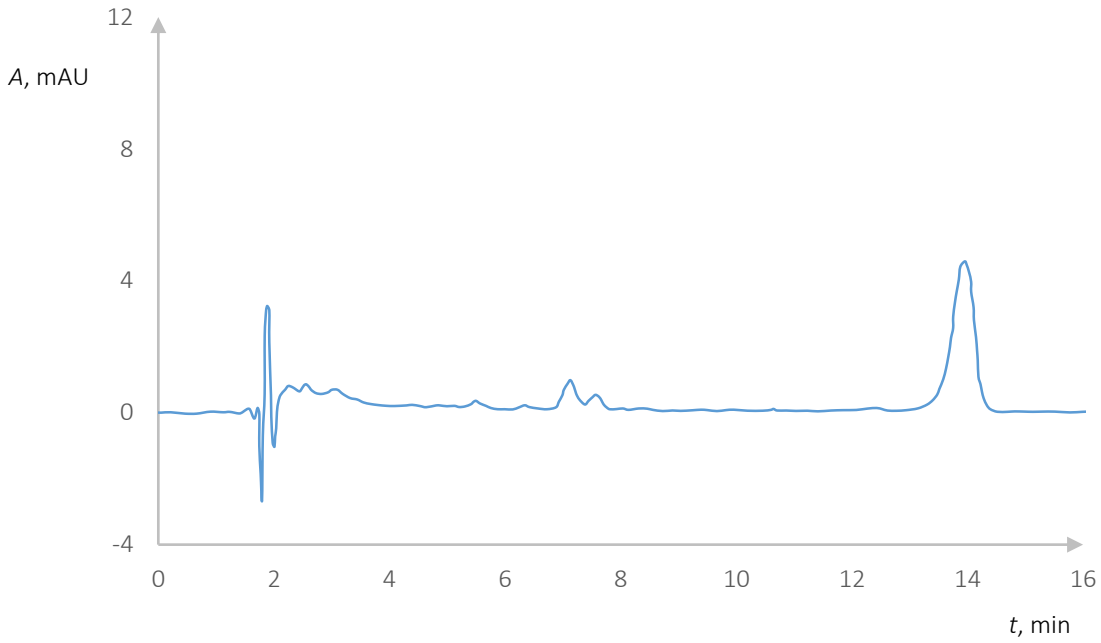
Prilog 9. HPLC kromatogram UVC-fotolize 17β-estradiola u vremenu *t* = 0



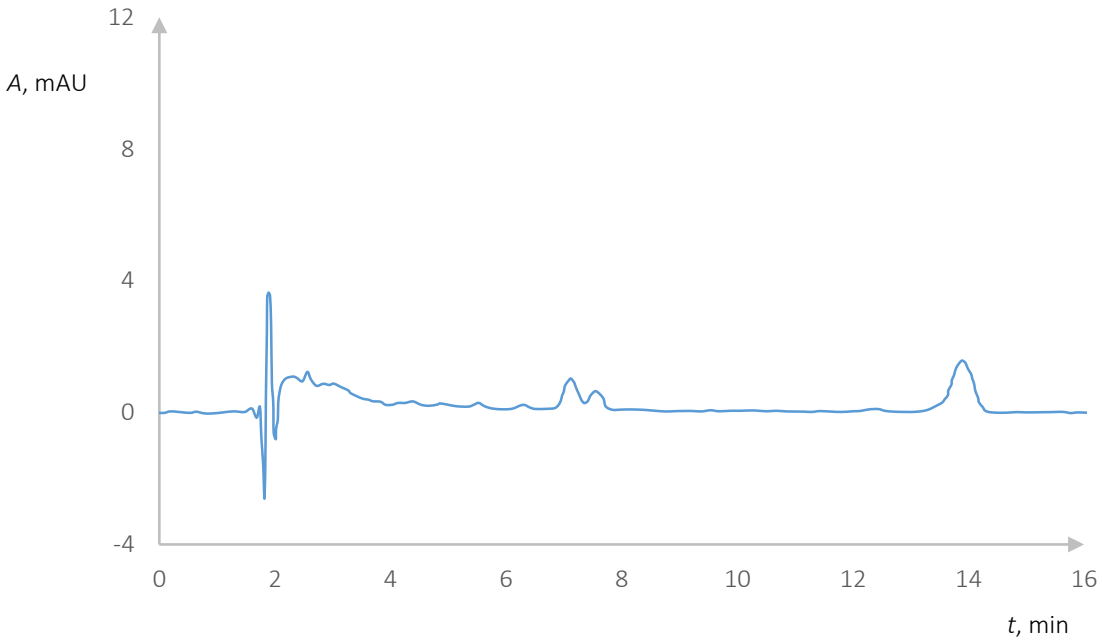
Prilog 10. HPLC kromatogram UVC-fotolize 17β-estradiola nakon 5 min provedbe fotolize



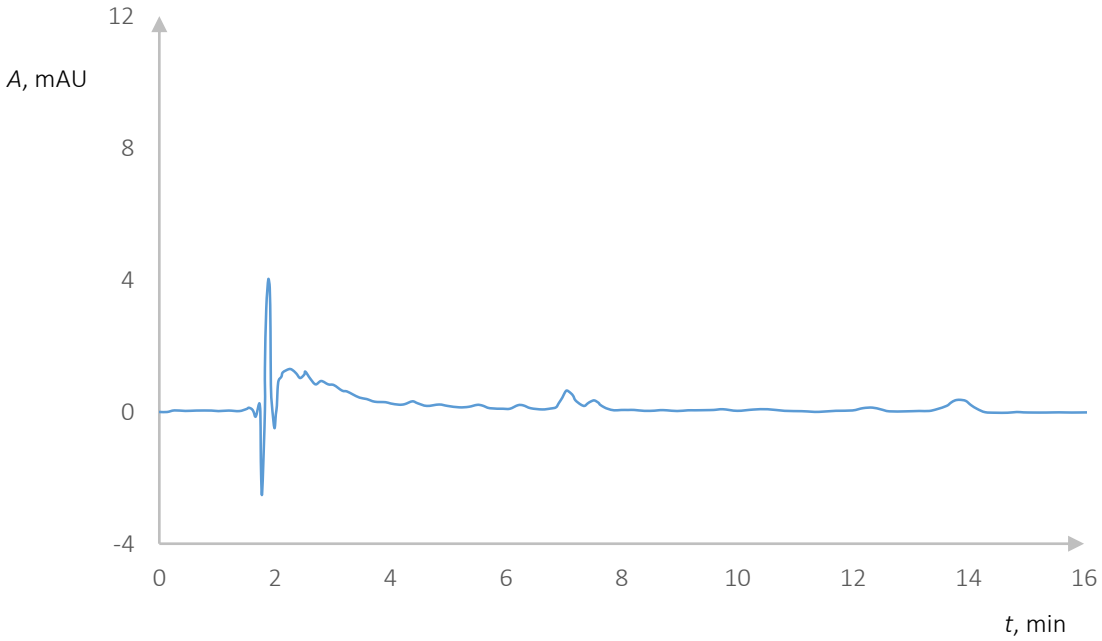
Prilog 11. HPLC kromatogram UVC-fotolize 17β-estradiola nakon 15 min provedbe fotolize



Prilog 12. HPLC kromatogram UVC-fotolize 17β-estradiola nakon 30 min provedbe fotolize



Prilog 13. HPLC kromatogram UVC-fotolize 17β-estradiola nakon 45 min provedbe fotolize

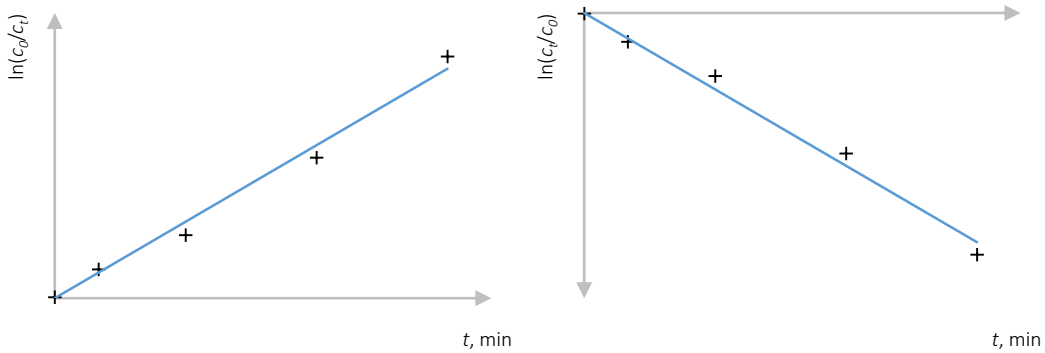


Prilog 14. Usporedba dviju jednadžbi za izračunavanje kvantnog dosega zračenja koje se mogu pronaći u literaturi.

Za izračunavanje kvantnog dosega zračenja potrebno je prvo izračunati konstantu pseudo prvog reda reakcije koja se računa prema dvije slične jednadžbe (2) i (6):

$$\ln\frac{c_0}{c_t} = kt \tag{2}$$

$$\ln\frac{c_t}{c_0} = -kt \tag{6}$$



Ovisno koji se omjer koristi, tako je iznos konstante k pozitivan ili negativan i u skladu s tim je konverzija iz logaritma po bazi e u logaritam po bazi 10 je pozitivna ili negativna. Jedna od jednadžbi (7) za izračunavanje kvantnog dosega zračenja koja se može pronaći u literaturi je:

$$\ln\frac{c_t}{c_0} = \frac{-2{,}3 \cdot \varepsilon \cdot l \cdot \Phi \cdot P_0}{V} t \tag{7}$$

Pri čemu je ε molarni apsorpcijski (ekstinkcijski) koeficijent (L mol^{-1} cm^{-1}), l ili z je duljina optičkog puta reaktora, Φ je kvantni doseg zračenja (mol Ein^{-1}), P_0 je fluks fotonskih sudara (Ein s^{-1}), t vrijeme reakcije 8s), V volumen reaktora (dm^3), a c je koncentracija u vremenu 0 i vremenu t (mol/dm^3) Koja, kada se preuredi za ln(c_0/c_t), izgleda ovako (8):

$$\Phi = \frac{k \cdot V}{2{,}303 \cdot \varepsilon \cdot z \cdot P_0} \tag{8}$$

Pri čemu je I_0 fluks fotona (Ein L^{-1} s^{-1}). Druga jednadžba (9) koja se može pronaći u literaturi je za ln(c_0/c_t):

$$\Phi = \frac{k}{2{,}303 \cdot I_0 \cdot \varepsilon \cdot z} \tag{9}$$

A obje jednadžbe su jednake zato što je (10):

$$P_0 = V \cdot I_0 \tag{10}$$

Životopis

Osobni podatci

Ime i prezime:	Mario Meheš
Datum rođenja:	19. rujan 1988.
Mjesto rođenja:	Zagreb, Hrvatska

Obrazovanje

2003. – 2007.	Ekološki tehničar
	Prirodoslovna škola Vladimir Prelog, Zagreb, Hrvatska

Nagrade

2012.	Najhumanija aplikacija
	App Start Contest