

Farmaceutici i kontrola kvalitete vode za njihovu proizvodnju

Vrban Herceg, Bruna

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:403226>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

**Bruna Vrban Herceg
0058220133**

**FARMACEUTICI I KONTROLA KVALITETE VODE ZA NJIHOVU PROIZVODNJU
ZAVRŠNI RAD**

Predmet: Tehnologija vode

Mentor: izv. prof. dr. sc. Josip Ćurko

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju vode

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Farmaceutici i kontrola kvalitete vode za njihovu proizvodnju Bruna Vrban Herceg, 0058220133

Sažetak:

Ovaj rad istražuje različite vrste farmaceutika te procese proizvodnje i kontrole pročišćene vode koja je iznimno bitan faktor u farmaceutskoj industriji. Njena kvaliteta posjeduje direktan utjecaj na sigurnost i učinkovitost farmaceutskih proizvoda. U radu se detaljno opisuju vrste farmaceutika i pročišćene vode iz različitih udruženja, tehnologije korištene za proizvodnju pročišćene vode te metode mjerenja ključnih parametara kao što su broj kolonija (engl. „colony forming units“, CFU), ukupan organski ugljik (engl. „total organic carbon“, TOC) i električna vodljivost. Analiziraju se standardi kvalitete i regulacije koji osiguravaju zadovoljavanje strogih zahtjeva farmaceutске industrije. Cilj rada bio je dati sveobuhvatan uvid u važnost pročišćene vode i njenog nadzora te razmotriti na koji su način međusobno ovisni mjereni parametri. Utvrđena je korelacija između vrijednosti CFU i TOC, dok između ostalih parametara korelacija je neznatna. Sama pročišćena voda mikrobiološki i kemijski bila je pripremljena po pravilnicima i odgovarala svim propisanim zahtjevima.

Ključne riječi: farmaceutici, vrste farmaceutskih voda, proizvodnja, pročišćena voda, kontrola kvalitete

Rad sadrži: 33 stranice, 7 slika, 8 tablica, 29 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Josip Ćurko

Komentor: dr. sc. Mladen Litvić

Pomoć pri izradi:

Igor Ceilinger, dipl. ing.- Voditelj Kemijskog i instrumentalnog laboratorija
Anita Tomec Ritoša, dipl. ing.- Stručnjak analitičar

Datum obrane: 17. lipnja 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Food Engineering
Laboratory for Water Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Pharmaceuticals and quality control of water for their production

Bruna Vrban Herceg, 0058220133

Abstract:

This thesis investigates various types of pharmaceuticals and processes involved in the production and control of purified water, which is a crucial factor in the pharmaceutical industry. It directly impacts the safety and efficacy of pharmaceutical products. The thesis provides a detailed description of different types of pharmaceuticals and purified water, technologies used for its production and methods for measuring key parameters such as colony-forming units (CFU), total organic carbon (TOC) and conductivity. Thesis discusses the quality standards and regulations that ensure compliance with the stringent requirements of pharmaceutical industry. The aim of this thesis was to provide a comprehensive insight into the importance of purified water and its monitoring and to examine how the measured parameters are interdependent. A correlation between CFU and TOC values was established while the correlations between other parameters were negligible. Purified water was microbiologically and chemically properly prepared and met all prescribed requirements.

Keywords: pharmaceuticals, types of pharmaceutical water, production, purified water, quality control

Thesis contains: 33 pages, 7 figures, 8 tables, 29 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Josip Ćurko, Associate Professor

Co-mentor: Mladen Litvić, PhD

Technical support and assistance:

Igor Ceilinger, B. Sc. Chem.- Head of Chemical and instrumental laboratory
Anita Tomec Ritoša, B. Sc. Chem.- Analytical expert

Thesis defended: June 17, 2024

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. ZAHTJEVI ZA VODU | 5 |
| 2.2. VRSTE FARMACEUTSKIH VODA | 9 |
| 2.2.1. PROČIŠĆENA VODA | 9 |
| 2.2.2. VODA ZA INJEKCIJE | 10 |
| 2.2.3. VODA ZA HEMODIJALIZU | 10 |
| 2.2.4. STERILNA VODA ZA INHALACIJU I OVLAŽIVANJE..... | 11 |
| 2.3. OPIS PROIZVODNJE, SKLADIŠTENJA I DISTRIBUCIJE PROČIŠĆENE VODE..... | 11 |
| 2.3.1. PROIZVODNJA..... | 12 |
| 2.3.2. SKLADIŠTENJE I DISTRIBUCIJA..... | 15 |
| 2.3.3. KONTROLA PARAMETARA NA MJESTU POTROŠNJE | 16 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 17 |
| 3.1. MATERIJALI | 17 |
| 3.1.1. Aparatura i pribor | 17 |
| 3.1.2. Kemikalije..... | 17 |
| 3.2. METODE..... | 18 |
| 3.2.1. UREĐAJ ZA PROČIŠĆAVANJE VODE | 18 |
| 3.2.2. ODREĐIVANJE UKUPNOG ORGANSKOG UGLJIKA | 19 |
| 3.2.3. ODREĐIVANJE VODLJIVOSTI..... | 19 |
| 3.2.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA..... | 20 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 22 |
| 5. ZAKLJUČCI..... | 31 |
| 6. POPIS LITERATURE..... | 32 |

1. UVOD

Farmaceutska industrija igra vrlo bitnu ulogu u zdravstvenom sustavu te u svakodnevnom životu ljudi, osiguravajući proizvodnju različitih lijekova koji pomažu u prevenciji i liječenju bolesti. Farmaceutici obuhvaćaju vrlo širok spektar proizvoda, uključujući lijekove, medicinske uređaje i mnogobrojne biološke proizvode koji imaju specifičnu namjenu i svojstva. Njihov razvoj i proizvodnja zahtijevaju iznimno visoku preciznost i kontrolu kvalitete da bi se osigurala sigurnost i učinkovitost konačnih proizvoda.

Konstantnim napretkom farmaceutske industrije i njenih pogona rastu zahtjevi za kvalitetom pročišćene vode. Voda je univerzalno otapalo i jedna jako bitna komponenta u proizvodnji velikog broja farmaceutika, od oralnih pa sve do injekcijskih pripravaka. Postrojenje koje je odgovorno za proizvodnju pročišćene vode mora zadovoljavati velik broj zahtjeva koje nalažu dobra proizvođačka praksa (Good manufacturing practices, WHO annex 3, 2021), zbirka metoda i načina izvedbe *European Pharmacopoeia* 11.4 te interni dogovori unutar postrojenja koje osmišljavaju odgovorni inženjeri.

Farmaceutske kompanije uglavnom kao sirovinu koriste vodu dobivenu od javnih isporučitelja koja se razlikuje od ostalih neobrađenih površinskih i podzemnih voda jer je već kondicionirana te zadovoljava zahtjeve propisane Pravilnikom o parametrima sukladnosti, metodama analiza i monitorinzima vode za ljudsku potrošnju (NN, br. 64/23 i 88/23). Takvu je vodu potrebno dodatno obraditi kako bi se uklonili kalcijevi i magnezijevi kationi, koloidne čestice, mikroorganizmi, ostali plinovi i ioni radi njene upotrebe u proizvodnji farmaceutika. Također je pažnju potrebno usmjeriti i prema postrojenju za skladištenje i distribuciju koje mora osigurati dopremanje pročišćene vode te očuvanje njene iznimno visoke kvalitete do mjesta potrošnje. Mjerenje i kontrola omogućuju održavanje kvalitete pročišćene vode na najvišoj razini te u konačnici osiguravaju sigurnost farmaceutskih proizvoda za njihovu upotrebu i zadržavanje njihove učinkovitosti (Boothe i Fine, 1999). Stoga je cilj ovog rada bio opisati na koji se način dobiva pročišćena voda željene kvalitete, kako se prate određeni parametri te kako su oni međusobno povezani. Kroz analizu ovih podataka cilj je bio utvrditi zadovoljava li pročišćena voda dane zahtjeve.

2. TEORIJSKI DIO

Farmaceutski pripravci, odnosno lijekovi predstavljaju tvari ili njihove kombinacije koje su namijenjene pomaganju pri liječenju ili sprječavanju bolesti kod ljudi te koje se mogu primijeniti na pacijentima u svrhu prilagodbe, ispravljanja ili obnavljanja fizioloških funkcija raznim metaboličkim, farmakološkim ili imunološkim djelovanjima). Tvar kojom se definiraju lijekovi može biti ljudskog podrijetla (npr. proizvodi iz krvi), životinjskog podrijetla (npr. mikroorganizmi, dijelovi organa, izlučine životinja, toksini, ekstrakti i proizvodi iz krvi), biljnog podrijetla (npr. mikroorganizmi, biljke, dijelovi biljaka, izlučine biljaka, biljni ekstrakti) te kemijskog podrijetla (npr. kemijski elementi, kemijske tvari prirodnog podrijetla i kemijski proizvodi dobiveni sintezom) (čl. 3, Zakon o lijekovima, Narodne novine, br. 76/13, 90/14, 100/18). Supstancija lijeka koja posjeduje aktivno terapijsko djelovanje je djelatna tvar (engl. „active pharmaceutical ingredient“), a za formulaciju finalnog proizvoda, odnosno gotovog lijeka, potrebo je dodati i pomoćnu tvar (engl. „excipient“) kako bi se povećala njegova učinkovitost i stabilnost. Prije plasiranja gotovog lijeka na tržište, proizvodni proces i sam postupak formulacije trebaju se validirati u skladu sa zahtjevima dobre proizvođačke prakse te lijek mora imati rješenje od regulatornih tijela što za Europsku Uniju predstavlja Europska agencija za lijekove (engl. „European Medicines Agency“, EMA) i za Sjedinjene Američke Države Agencija za hranu i lijekove (engl. „Food and Drug Administration“, FDA). Ukoliko neka kompanija razvije novi lijek, zvan izvorni lijek, on se kao takav zove referentni te proizvođači posjeduju tzv. patent. Nadalje, nakon isteka patenta, druge farmaceutske kompanije dobivaju pravo na proizvodnju već postojećeg lijeka te on postaje generički. To bi značilo da će takav proizvod imati identičnu djelatnu tvar kao i izvorni lijek, ali se oni međusobno mogu razlikovati po dodanim pomoćnim tvarima (GOSH, 2020). Prije odlaska na tržište i generički lijek mora biti jednako dobro ispitan te kontroliran kao i izvorni, a pod te testove spada i test bioekvivalencije, tj. klinička ispitivanja na pacijentima moraju dokazati jednako djelovanje generičkog i izvornog lijeka (Halmed). Postojanje generičkih i biosličnih lijekova se odražava na smanjenje cijena na tržištu zbog veće konkurentnosti među tvrtkama što donosi dobrobiti svim ljudima u zdravstvenom sustavu. Bioslični lijekovi se razlikuju samo u proizvodnom procesu te u post-translacijskim modifikacijama od odobrenih lijekova s istim kliničkim učinkom. Daljnjim napretkom farmaceutske i biotehnoške industrije te njihovim spojem dolazi do pojave „boljih“ bioloških lijekova (engl. „biobetters“) koji se baziraju na već odobrenim lijekovima, ali korištenjem kemijskih modifikacija im se poboljšavaju farmakološka svojstva (Behera, 2020).

U farmaceutskoj industriji lijekovi se mogu proizvoditi u četiri osnovna oblika, a to su tekući, polučvrsti, čvrsti oblici te biljni pripravci. Tekućim oblicima lijekova pripadaju kapi, otopine (za

grlo, usta, nos, uho, rektalnu i dermatološku primjenu, infuzijske otopine, injekcije), sirupi, pjene, emulzije, suspenzije itd.; u polučvrste oblike spadaju kreme, gelovi, masti, paste i flasteri; u čvrste oblike spadaju tablete, dražeje, pilule, kapsule, čepići, granule i prašci te biljnim se pripravcima smatraju čajevi, macerati, biljni prašci, ekstrakti, tinkture i sl.. Industrijski proizvedeni lijekovi su gotovi pripravci lijekova različitih doza, jakosti i oblika koji moraju na propisan način biti pakirani, označeni i opremljeni prema pravilima dobre proizvođačke prakse (engl. „Good Manufacturing Practices“, GMP). Tek nakon što su zadovoljili sve ove uvjete, ovakvi proizvodi mogu biti poslani na tržište (Izzi.digital, 2020).

Različiti lijekovi imaju različita djelovanja na pacijenta, a to su lokalno (ili topikalno) djelovanje te sastavna (apsorptivna ili opća) primjena. Topikalno djelovanje ostvaruje se izravnom primjenom pripravka na kožu ili sluznicu, odnosno na mjesto gdje se i očekuje njegov utjecaj. S druge strane, opća primjena lijeka je način unošenja pripravka u organizam koji se onda putem krvotoka doprema do mjesta gdje se očekuje njegov terapijski učinak. Da bi lijekovi uopće djelovali, moramo ih unijeti u organizam ili nanijeti na neko oboljelo područje na površini kože (PDR Staff., 2010). Lijekovi se unose/nanose različitim putevima (tablica 1) kao što su kroz usta, intravenozno, na kožu itd. iz različitih razloga kao što je omogućavanje postizanja maksimalne koncentracije lijeka na jednom, a minimalnih koncentracija na drugom mjestu, produljenje trajanja apsorpcije te zbog prikladnosti.

Tablica 1. Načini i mjesta unosa lijekova u organizam (PDR Staff., 2010)

| Načini primjene lijekova | | Mjesto primjene |
|--------------------------|--|-----------------------|
| ENTERALNO | Peroralni unos | Kroz usta |
| | Rektalni unos | Preko debelog crijeva |
| | Sublingvalni unos | Pod jezik |
| PARENTERALNO | Supkutani unos | Pod kožu |
| | Intrakutani unos | U kožu |
| | Intramuskularni unos (dorzoglutealno i ventroglutealno) | U mišić |
| | Intravenozni unos | U venu |
| | Intraosealni unos | U koštanu srž |

Tablica 1. Načini i mjesta unosa lijekova u organizam – *nastavak*

| Načini primjene lijekova | | Mjesto primjene |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| PARENTERALNO | Intraartikularni unos | U zglob |
| | Bukalni unos | Između obraza i desni |
| | Intratekalni unos | Oko leđne moždine |
| LOKALNO | Perkutani i transdermalni unos | Preko kože |
| | Oralni unos | U usnu šupljinu |
| | Sublingvalni unos | Pod jezik |
| | Vaginalni unos | Kroz rodnicu |
| | Rektalni unos | Kroz čmar |
| | Preko sluznice | Preko sluznice oka, nosa, uha |

Glavna razlika između enteralne i parenteralne primjene lijekova je njihov doticaj s probavnim traktom (GOSH, 2020). Primjerice, prilikom uzimanja pripravka kroz usta (peroralno), on će proći kroz gornji i donji dio probavnog sustava te će ga razgraditi kiseline u želucu prije nego što dođe do jetre te uđe u krvotok. S druge strane, bilo koji način parenteralne primjene podrazumijeva metode direktnog unosa lijeka u ciljano područje djelovanja zaobilazeći probavni trakt jer bi se u njemu u potpunosti razgradili (npr. inzulin) ili pak ako se želi postići brži učinak. Različite primjene zahtijevaju različite načine pripreme i proizvodnje lijekova tako da se postigne njihovo ciljano djelovanje te da se produži vijek djelovanja. Razmatrajući to u jeziku industrije, finalni proizvodi mogu se pripremati sterilnim ili nesterilnim proizvodnim procesima (izzi.digital, 2020). Proces proizvodnje na sterilnim proizvodnim linijama podrazumijevaju rad u čistom prostoru te kontroliranim mikrobiološkim (aseptičnim) uvjetima kako ne bi došlo do kontaminacije s endotoksinima ili pirogenima koja konačno može imati štetno djelovanje na zdravlje pacijenta (Baird i Bloomfield, 2017). Na ovakav se način proizvode svi oni farmaceutski pripravci koji imaju parenteralnu primjenu, kao što su injekcije, otopine i oftalmološki preparati. Kod nesterilne pripreme farmaceutskih pripravaka toleriraju se koncentracije mikroba određene monografima u Europskoj farmakopeji (engl. „European Pharmacopoeia“, EP) te se one razlikuju kod farmaceutika za različito apliciranje. Za razliku od sterilnih proizvoda, nesterilni se primjenjuju u/na dijelove ljudskog tijela koji mogu fizički i imunološki spriječiti infekcije te je u njima prisutna velika gustoća prirodne mikroflore. Neki od primjera su sprejevi za nos, inhalati sa suhim i doziranim prahom, vaginalni čepići, rektalni supozitoriji, vodene oralne tekućine te kapsule koje su punjene praškom (Izzi.digital, 2020).

Ovisno o zahtjevima za proizvodnju finalnih proizvoda, koriste se i različite vrste voda .

2.1. ZAHTJEVI ZA VODU

Zbog kompleksnosti i velike potrebe za korištenjem vode u farmaceutskoj industriji kao alata za provođenje brojnih kemijskih, mikrobioloških i bioloških eksperimenata njena se kvaliteta konstantno mora nadzirati i poboljšavati. Uspješnost, točnost i pouzdanost rezultata uvelike ovise o tipu vode koji je korišten. Baš iz tog razloga utvrđeni su standardi čistoće vode (tablica 2), a u laboratorijima diljem svijeta prihvaćeni su oni propisani organizacijama *ASTM* („American Society for Testing and Materials“) *International* (najčešće korištena u Sjevernoj Americi) i *ISO* („International Organization for Standardization“, najčešće korištena u Europi). Uz parametre koji su zajednički za obje organizacije, *ASTM International* nudi i dodatne standarde za svaki tip vode u kojima se referira na razine mikrobioloških kontaminanata. Ove su dvije organizacije definirale svoje parametre kojih se pridržavaju farmaceutske kompanije kako bi se na globalnoj razini postigla jednaka kvaliteta voda koje se koriste u različitim procesima. Tipovi vode definirani su maksimalnim ili minimalnim vrijednostima različitih mjerenih parametara (tablice 2, 3 i 4) koji su većinski isti, no postoje ipak neke razlike. Također, navedeni se različiti tipovi vode proizvode na drugačije načine te imaju drugačiju kvalitetu što znači da se koriste u velikom broju procesa. Za definiranje kvalitete vode prema ASTM-u, navedeni su i podstandardi koji se tiču broja heterotrofnih bakterija i endotoksina. Kako bi se ti parametri držali u definiranim granicama, osmišljena je tehnologija za minimalizaciju rasta bakterija kao što je reverzna osmoza u kombinaciji s ultraljubičastim zračenjem valne duljine 254 nm s mikronskom filtracijom (*ASTM D1193-06, Standard Specification for Reagent Water*). Pošto farmaceutska industrija nisu samo laboratoriji već i veliki pogoni koji zahtijevaju puno veću količinu različitih tipova voda za drugačije namjene, utemeljene su Američka i Europska farmakopeja koje su detaljnije propisale načine pročišćavanja i analize kvalitete. Farmakopeje nisu utemeljene samo radi pročišćene vode, već radi definiranja standarda kvalitete materijala za farmaceutsku upotrebu što uključuje i pročišćenu vodu (tablica 5). Europska farmakopeja je aktivna od 1969. godine kada je objavljeno prvo izdanje sa 120 tekstova. Danas stručnjaci svakodnevno rade i objavljuju monografije svakih par mjeseci mijenjajući prethodno izdanje tako da ili uklanjaju stare ili dodaju nove metode. Unutar svakog izdanja nalaze se detaljni opisi spojeva, laboratorijske opreme i metoda koje se koriste u svim mogućim vrstama laboratorija. Europske farmaceutske kompanije strogo se pridržavaju pravila Europske farmakopeje, no ukoliko nešto tamo nije navedeno referiraju se na američku (engl. „*US Pharmacopoeia*“, *USP*). Do siječnja 2023. godine *European Pharmacopoeia* se koristi u više od 130 zemalja svijeta te je objavljeno 2497 monografija, 389 općenitih tekstova i oko 2890 opisa reagensa.

Tablica 2. Parametri kvalitete za različite tipove voda prema ASTM-u D1193 (D1193-06 Standard Specification for Reagent Water, 2018)

| Parametri | TIP I* | TIP II** | TIP III*** | TIP IIII**** |
|---|--------|----------|------------|--------------|
| PROVODNOST (min $\mu\text{S/cm}$), pri 25 °C | 0,056 | 1 | 0,25 | 5 |
| OTPORNOST (min $\text{M}\Omega\text{-cm}$), pri 25 °C | 18 | 1 | 4 | 0,2 |
| UKUPNI ORGANSKI UGLJIK, TOC (maksimalno $\mu\text{g/L}$) | 50 | 50 | 200 | Nema granica |
| NATRIJ (maksimalno $\mu\text{g/L}$) | 1 | 5 | 10 | 50 |
| SILIKATI (maksimalno $\mu\text{g/L}$) | 3 | 3 | 500 | Nema granica |
| KLOR (maksimalno $\mu\text{g/L}$) | 1 | 5 | 10 | 50 |
| pH pri 25 °C | - | - | - | 5,0-8,0 |

TOC- engl. „total organic carbon“

*Voda tipa I dobiva se destilacijom nakon čega slijedi miješani sloj za ionsku izmjenu i membranski filter veličine pora 0,2 μm .

**Voda tipa II dobiva se destilacijom ili mogućom ionskom izmjenom, reverznom osmozom ili organskom adsorpcijom prije same destilacije ukoliko se ne može određena čistoća postići samo jednom koraku destilacije.

***Voda tipa III dobiva se uzastopnim procesima destilacije, ionske izmjene, kontinuirane elektrodeionizacije, reverzne osmoze i elektrodijalize (ili drugačije kombinacije) nakon kojih slijedi poliranje s membranskim filterom veličine pora od 0,45 μm .

****Voda tipa IIII se dobiva jednakim načinom kao i voda tipa III s time da se ne odvija zadnji korak poliranja pomoću membranskog filtera.

Tablica 3. Dodatni podstandardi za svaki tip vode prema ASTM-u (Standard Specification for Reagent Water, 2018)

| Podstandardi | A | B | C |
|--|------|------|------|
| Bakterije (maksimalno CFU*/mL) | 1 | 10 | 1000 |
| Endotoksini (maksimalno EU**/mL) | 0,03 | 0,25 | - |

*CFU-Colony Forming Units/mL, **EU- Endotoxin Units/mL

Tablica 4. Parametri kvalitete za različite tipove voda prema ISO-u 3696 (ISO 3696:1987 Specifications for Water for Analytical Laboratory Use)

| Parametri | STUPANJ 1 | STUPANJ 2 | STUPANJ 3 |
|---|-----------|-----------|-----------|
| pH pri 25 °C | - | - | 5,0-7,0 |
| PROVODNOST (min μ S/cm), pri 25 °C | 0,1 | 1 | 5 |
| APSORBANCIJA (maksimalna vrijednost pri 254nm i 1 cm optičkog puta | 0,001 | 0,01 | - |
| SADRŽAJ KISIKA/TVAR KOJA MOŽE OKSIDIRATI (maksimalno mg/L) | - | 0,08 | 0,4 |
| OSTATAK NAKON ISPARAVANJA (maksimalno mg/kg) pri 110 °C | - | 1 | 2 |
| SILIKATI (maksimalno mg/L) | 0,01 | 0,02 | - |

Vode tipa I prema ASTM-ovoj i stupnja I prema ISO-ovoj podjeli smatraju se one s najvećom kvalitetom.

Tablica 5. Zahtjevi kvalitete vode prema *European Pharmacopeia* (broj monografije 04/2024:0008)

| Parametar | Zahtjev |
|--------------------------|----------------------------|
| Osobine: izgled | Bistra i bezbojna tekućina |
| | Maksimalna koncentracija |
| Ukupan organski ugljik | 0,5 mg/L |
| Vodljivost: | |
| Pri 10 °C | 3,6 µS/cm |
| Pri 20 °C | 4,3 µS/cm |
| Pri 25 °C | 5,1 µS/cm |
| Pri 30 °C | 5,4 µS/cm |
| Elementarna onečišćenja: | |
| Arsen | 0,14 mg/L |
| Kadmij | 0,05 mg/L |
| Olovo | 0,05 mg/L |
| Živa | 0,29 mg/L |
| Kobalt | 0,48 mg/L |
| Nikal | 1,90 mg/L |
| Vanadij | 0,95 mg/L |
| Krom | 104,76 mg/L |
| Molibden | 28,57 mg/L |
| Barij | 13,33 mg/L |
| Bakar | 28,57 mg/L |
| Litij | 5,24 mg/L |
| Antimon | 11,43 mg/L |
| Kositar | 57,14 mg/L |
| Nitrati | 0,2 mg/L |

Tablica 5. Zahtjevi kvalitete vode prema *European Pharmacopeia* (broj monografije 04/2024:0008)- *nastavak*

| | |
|-----------------------|---|
| Mikrobiološka čistoća | Broj aerobnih mikroorganizama <100 CFU/mL Bez koliformnih bakterija |
|-----------------------|---|

2.2. VRSTE FARMACEUTSKIH VODA

Voda je sastavni dio farmaceutske industrije jer se može koristiti kao sirovina za pripremu, sastojak neke otopine, otapalo u obradi te isto tako u formuliranju i proizvodnji aktivne djelatne tvari (engl. „active pharmaceutical ingredient“, API) kao i konačnih farmaceutskih proizvoda. Također se može koristiti kao pomoćna tvar, medij za prijenos (nosač) određenih tvari, za moguće rekonstituciju/rekonstrukciju proizvoda prilikom sinteze i na kraju samog procesa može se koristiti za ispiranje laboratorijskog posuđa, opreme, materijala za pakiranje itd (McCormick i Sanders, 2022). Najstroži su zahtjevi za obradu vode u farmaceutskoj industriji jer mora biti apirogena, s minimalnom dozom ukupnog organskog ugljika, vrlo niske električne provodnosti (US Pharmacopoeia <643> i <645>). Postoje dvije grupe kada razmatramo osnovnu podjelu farmaceutskih voda, a to su rasute (engl. „bulk“) vode i pakirane vode. Rasute vode se obično proizvode na mjestu potrošnje, a pakirane vode se nakon proizvodnje pakiraju i steriliziraju da bi se osigurala mikrobna kvaliteta tijekom isporuke i korištenja koji su unutar roka valjanosti (European Pharmacopoeia 11.4, 04/2024:0008). Postoje specifične rasute vode koje se razlikuju po svojoj namjeni, svojstvima kvalitete i ograničenjima kod pakiranja koja se moraju zadovoljiti, a nisu navedene u monografijama farmakopeje. Takvim se vodama unutar pogona daju imena u opisne svrhe da bi se interno znalo čemu služe (Choudhary, 2023.)

2.2.1. PROČIŠĆENA VODA

Pročišćena se voda većinski koristi kao pomoćna tvar u proizvodnji neparenteralnih pripravaka te u procesima čišćenja opreme i komponenti koje su u kontaktu s proizvodom. Isto se tako može koristiti i u velikom broju laboratorijskih testova i analiza, pripremu većih količina kemikalija na mjestu potrošnje te za pripremu medija u mikrobiološkim laboratorijima (European Pharmacopoeia 11.4, 04/2024:0008). Ovakav tip vode mora zadovoljavati zahtjeve kemijske i ionske čistoće te isto tako treba biti zaštićen od bilo kojeg tipa mikrobne kontaminacije. U proizvodnji se kao sirovina uzima prijenosna, odnosno pitka voda koja može doći iz gradskog vodovoda (Habek, 2021). Nadalje, ona se obrađuje metodama koje će biti

opisane dalje u ovom radu pod poglavljem Proces proizvodnje pročišćene vode.

Isto tako postoji ultra čista voda koja mora zadovoljiti specifikacije Europske farmakopeje navedene kod vode za injekcije. Da bi se dobila ovakva kvaliteta, ulazna voda nakon pred obrade mora proći kroz dvostruku reverznu osmozu u kombinaciji s određenim membranskim procesom ili nekim drugim načinima pročišćavanja koji omogućuju dobivanje vrijednosti unutar propisanih parametara (Choudhary, 2023).

2.2.2. VODA ZA INJEKCIJE

Voda za injekcije mora zadovoljavati strože parametre koji su navedeni u Europskoj farmakopeji jer se koristi kao pomoćna tvar u proizvodnji parenteralnih pripravaka gdje se mora kontrolirati sadržaj endotoksina (egzogeni pirogeni koji su sastavni dio stanične stijenke *Gram negativnih* bakterija kao što su *E. coli*, *Shigella*, *Pseudomonas* i mnoge druge) te se koristi za čišćenje komponenti koje ulaze u kontakt s parenteralnim proizvodom. Proizvodi se iz vode za piće nakon određenog tretmana ili iz pročišćene vode. Sama po sebi nije sterilna i nije konačan oblik doziranja pa se dodaje prilikom formulacije za dobivanje konačnog proizvoda. Nakon proizvodnje, podlaže se istim testovima kao i pročišćena voda kako bi se provjerila dobivena kvaliteta, no još se moraju dodatno provesti testovi na već spomenute bakterijske endotoksine (maksimalno 25 IU/mL), provodnost (maksimalno 25 μ S/cm) i na ukupni organski ugljik (maksimalno 0,5 mg/L)(European Pharmacopoeia 11.4 04/2024:0169). Razina i aktivnost endotoksina se kontinuirano moraju provjeravati jer ih proizvode bakterije koje su sklone nastanjivanju u vodi i na procesnoj opremi pa se ujedno prati kontaminacija pogona što omogućuje brži odgovor i reakciju osoblja ukoliko se poveća koncentracija mikroorganizama (Choudhary, 2023).

Sterilna voda za injekcije je destilirana voda za injekcije, ali pakirana u jednoj dozi ne većoj od jedne litre. Ovakav se terapijski proizvod koristi za svakog pacijenta individualno ovisno o potrebi te je sterilni razrjeđivač za parenteralne proizvode.

Bakteriostatska voda za injekcije u sebi sadrži antimikrobna sredstva te se može pakirati ili u spremnike do 5 mL za jednokratno doziranje ili u spremnike do 30 mL za višekratno doziranje. Ovakav se tip vode koristi kao razrjeđivač u proizvodnji parenteralnih proizvoda (Choudhary, 2023).

2.2.3. VODA ZA HEMODIJALIZU

Voda za hemodijalizu se ponajprije koristi u razrjeđivanju otopine koncentrata potrebnih za provedbu hemodijalize. Priprema se iz sigurne vode za ljudsku potrošnju te se pakira i skladišti

u tzv. nerekativnim spremnici koji onemogućuju kontakt površine vode s bakterijama. Ovi spremnici su građeni tako da se materijali od kojih su napravljeni ne mijenjaju uslijed kontakta s vodom i spojevima koji mogu biti rezultat kemijske reakcije materijala i vode ili korozije (Mijatović i sur., 2004). Voda za hemodijalizu ne sadrži antimikrobna sredstva i nije namijenjena za doziranje pomoću injekcija.

2.2.4. STERILNA VODA ZA INHALACIJU I OVLAŽIVANJE

Ova se dva tipa vode najčešće opisuju u *US Pharmacopeia* i *U.S. Environmental Protection Agency* (EPA) te se dobivaju iz vode za injekcije, tj. njenom sterilizacijom.

Sterilna voda za ovlaživanje (prema USP) se koristi pri izvođenju uroloških kirurških zahvata te za pranje i ovlaživanje tkiva. Pakira se u spremnike koji dosežu volumene do jedne litre jer baš na takav način se osigurava brži prijenos sadržaja do mjesta djelovanja.

Sterilna voda za inhalaciju upotrebljava se za proizvodnju inhalacijskih otopina i u radu s inhalatorima. Ovakav tip vode ima malo blaže specifikacije što se tiče endotoksina od vode za injekcije iz koje se dobiva (Choudhary, 2023).

Neke farmaceutske industrije smatraju i čistu vodenu paru kao tip farmaceutske vode (prema USP) te je njena zadaća da sterilizira opremu, ovlažuje prostor pomoću sustava za izmjenu topline i uklanja talog nečistoća.

2.3. OPIS PROIZVODNJE, SKLADIŠTENJA I DISTRIBUCIJE PROČIŠĆENE VODE

U farmaceutskoj industriji osnovna sirovina za proizvodnju pročišćene vode je voda dobivena od javnih isporučitelja (vodovodna voda) koja odgovara svim zahtjevima iz Zakona o vodi za ljudsku potrošnju (NN, 30/23) i Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće. To znači da je ulazna sirovina već unaprijed pročišćena od onečišćenja (kao što su koloidi, mikroorganizmi, nitrozamini (Nawrocki J, Andrzejewski P, 2011), otopljeni plinovi, organski spojevi te soli) koja su štetna za ljudsko zdravlje.

Da bi se postigla željena kvaliteta finalnog proizvoda, tj. pročišćene vode koja se bude koristila u proizvodnji farmaceutskih pripravaka, potrebno je precizno dizajnirati sustav za njenu proizvodnju i distribuciju. Posao inženjera prilikom osmišljavanja pogona je zahtjevan zbog toga što se moraju zadovoljiti uvjeti farmakopeje i dobre proizvođačke prakse te bez obzira na sirovinu, uvijek se treba dobiti voda jednake kvalitete. Naime, sve su farmakopeje otvorene za osobnu interpretaciju te se do rješenja može doći na različite načine. Nakon što se odredi kakve kvalitete mora biti pročišćena voda, radi se na osmišljavanju načina rada sustava (šaržno ili kontinuirano), utvrđuje se dostupnost i tehnologija rada (pred obrada ili završna

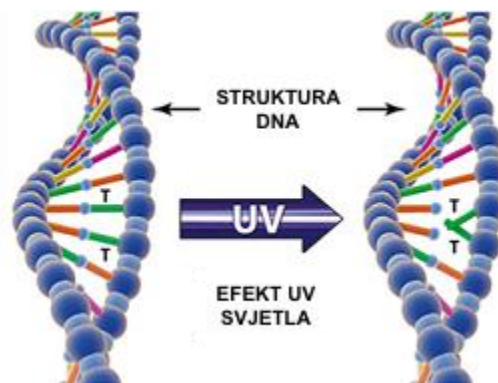
obrada vode), određuje se način skladištenja i distribucije finalnog proizvoda (održavanje kemijske i mikrobiološke kvalitete vode)(Habek, 2021) itd. U obzir se mora uzeti i održavanje samog sustava za proizvodnju koji treba ispunjavati regulatorne zahtjeve, zahtjeve osiguranja i kvalitete te isto tako se mora proučiti na koji način, ukoliko dođe do prestanka rada, se provodi popravak i sanitacija dijelova pogona (NN/64).

2.3.1. PROIZVODNJA

Nakon što gradska vodovodna voda sustavima cijevi i pumpi dopremi do postrojenja za proizvodnju pročišćene vode gdje prolazi kroz proces predobrade kako bi se njen sastav promijenio radi olakšavanja provođenja procesa reverzne osmoze, skladištenja i daljnje distribucije do pogona za proizvodnju farmaceutika. Najprije ulazna voda prolazi kroz filter čija veličina pora varira o veličini čestica (tj. grubih disperzija) koje želimo ukloniti, no uglavnom se kreće između 20 i 25 μm . Nakon filtracije voda se sprema u spremnik sirove vode, u koji se vraća i koncentrat nakon reverzne osmoze i elektrodeionizacije (RO/EDI), iz kojeg se dalje odvodi do strojeva za dodatnu pred obradu. Iz spremnika voda prolazi kroz korak u kojem dolazi do uklanjanja rezidualnog klor jer ukoliko dođe do njegovog kontakta s uređajima u postrojenju oni su skloni oksidaciji, degradaciji te stvaranju biofilma mikroorganizama na njihovoj površini (Shah i sur., 2021). Klor reagira s različitim vrstama organskog materijala u stanicama mikroorganizama, a posebice je djelotvoran u reakciji s lipidima u staničnoj membrani inhibirajući enzimske sustave Sve navedeno dovodi do otežanog rada postrojenja koji se očituje kroz smanjenje stope odbijanja soli (engl. „salt rejection rate“) što znači da membrana za reverznu osmozu otežano odbija prolaz otopljenih iona. Čak i koncentracija klor od 1 mg/L može uništiti membranu unutar 200-1000 radnih sati što tada zahtjeva promjenu samog modula, a to posljedično utječe na poskupljenje i produljenje samog procesa proizvodnje pročišćene vode te i na njenu konačnu kvalitetu. Ukoliko se prilikom dezinfekcije u vodi nalazi povećana razina organskih kemijskih spojeva koji reagiraju s klorom, može doći do nastanka karcinogenih lako hlapivih ugljikovodika (tzv. trihalometana) koji imaju štetan utjecaj na ljudsko zdravlje. Neki od primjera su kloroform, bromdiklormetan (CHBrCl_2), triklormetan (CHCl_3) i bromoform (CHBr_3). Svi trihalometani ne nastaju trenutačnom reakcijom između dezinfekcijskog sredstva i organskih spojeva (najčešće fulvinske i huminske kiseline), već se dio formira reakcijom i s rezidualnim klorom. Kako bi se uklonio rezidualni klor te se smanjila mogućnost nastanka trihalometana potrebno je vodu provesti kroz filter s aktivnim ugljenom ili je pak dovesti u spremnik koji je spojen s dozatorima natrijevog sulfita ili natrijevog metabisulfita. Doziranje natrijeva metabisulfita se nadzire mjerenjem promjene redoks potencijala vode koji je ekvivalentan koncentraciji klor u vodi (Deborde i von Gunten, 2008).

U novije vrijeme počeli su se koristiti dekloratori na bazi UV zračenja valnih duljina od 180 nm do 400 nm koji su se pokazali značajniji u usporedbi s prethodno spomenutim načinima uklanjanja klora. Ultraljubičasto svjetlo provodi fotokemijske reakcije koje disociraju slobodan klor u klorovodičnu kiselinu s najjačim djelovanjem pri valnim duljinama od 180 nm do 200 nm. Da bi se disocirali kloramini (iz kojih nastaju trihalometani), valna duljina bi trebala biti od 245 nm do 365 nm (Deborde i von Gunten, 2008).

Nakon dekloriranja, voda prolazi kroz cijev u kojoj se nalazi UV lampa koja emitira svjetlost valne duljine 254 nm jer se na taj način postiže baktericidno djelovanje. UV na stanice patogena i ostalih bakterija može djelovati na dva načina: (I) dolazi do inaktivacije, tj. onemogućavanje njihove replikacije uslijed stvaranja pirimidinskih (timinskih) dimera unutar istog lanca DNA molekule; (II) provodi se dezinfekcija, tj. UV zrake valnih duljina od 200 do 300 nm mogu razoriti protoplazmu bakterijskih stanica (koju čine jezgra i citoplazma) i sporogene oblike (Spicer, 2021)(slika 1).



Slika 1. Stvaranje pirimidinskih (timinskih) dimera unutar strukture DNA nakon djelovanja UV zraka (prema Spicer, 2021)

Nakon prolaska kroz cijevi s UV lampom voda dolazi do postrojenja za ionsku izmjenu koja služi za njeno omekšavanje. Koriste se najčešće jako kiseli kationski izmjenjivači u natrijevoj (Na^+) formi. Ovim se procesom iz vode uklanjaju svi magnezijevi i kalcijevi ioni koji čine ukupnu tvrdoću te se zamjenjuju s ekvivalentnom količinom natrijevih iona tako da sada sve soli prisutne u vodi budu natrijeve. Po završetku procesa ionske izmjene, iz vode su uklonjene grube disperzije, inaktivirani su mikroorganizmi te su maknuti svi magnezijevi i kalcijevi ioni. Nakon omekšavanja i kemijskog tretiranja, voda ponovno prolazi kroz filter čije pore imaju veličinu $2,5 \mu\text{m}$ te koji zaustavlja nastale kemijske spojeve (Boothe i Fine, 1999). Ovaj korak, koji je ujedno i zadnji u procesu pred obrade vode, služi kako bi se očuvao modul za reverznu osmozu.

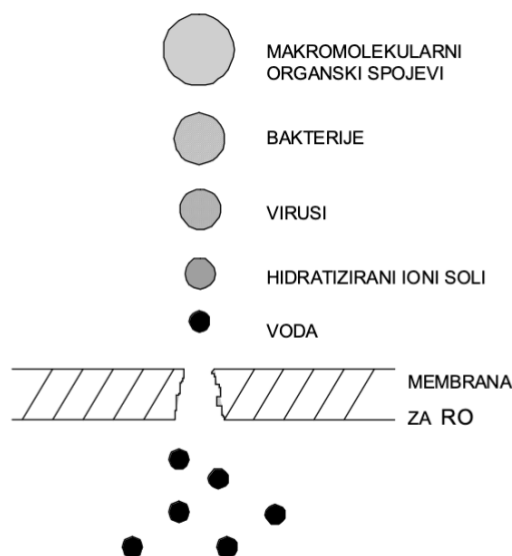
Faza samog pročišćavanja sastoji se od dva glavna djela, a to su jedinica reverzne osmoze i jedinica za elektrodeionizaciju.

Reverzna osmoza obrnuta je proces od uobičajene osmoze. Osmoza općenito predstavlja

proces difuzije, uslijed osmotskog tlaka, kojim dolazi do izjednačenja koncentracija otopina koje su međusobno odijeljene polupropusnom membranom tako da ona omogućuje propuštanje molekula otapala i zaustavlja prolaz molekula otopljenih tvari.

Reverzna osmoza je obrnuti proces od osmoze jer na sustav djelujemo tlakom (uspostavljen pomoću pumpe) koji je viši od osmotskog, dakle voda će kroz polupropusnu membranu prolaziti u smjeru veće koncentracije što je suprotno od smjera kretanja u procesu osmoze. Zbog visokih tlakova se molekulama vode, svim ostalim otopljenim solima i ostalim nečistoćama koje su prisutne povećana kinetička energija te se one puno brže i nepravilnije kreću unutar otopine (Boothe i Fine, 1999). Kada takav sustav provedemo preko polupropusne membrane za reverznu osmozu rijetko koja molekula „nečistoće“ i soli će moći proći kroz membranu jer su ili prevelike ili zbog velike brzine ne uspijevaju proći kroz pore pa zaostaju na njenoj površini (slika 2). Dio vode koji je prošao kroz pore membrane naziva se permeat, a ostatak koji se zadržao na površini naziva se koncentrat. Koncentrat se ponovno odvodi u spremnik sirove vode koji je spomenut na samom početku pred obrade te ponovno prolazi kroz cijeli proces. Uspješnost procesa reverzne osmoze nikada nije 100%, što bi to značilo da membrana zadržava sve soli otopljene u vodi, već se dio soli (tj. kationi i anioni) propušta (Boothe i Fine, 1999). Zbog činjenice da kroz membranu ipak prođe određena količina aniona i kationa (<1%), vodu je potrebno dodatno obraditi kontinuiranom elektrodeionizacijom (skraćeno EDI ili CDI, engl. „continuous deionization“) koja je kombinacija polupropusne ion-izmjenjivačke membrane i smole. Još jedan bitan plin koji se nalazi u vodi je ugljični dioksid. Ovisno o pH-vrijednosti vode, može biti prisutan u nekoliko oblika kao što su slobodna ugljična kiselina (tj. otopljen CO_2) kada je pH manji od 4,5; hidrogenkarbonatni ion (HCO_3^-) kada je pH 8,4 te kao karbonatni ion (CO_3^{2-}) kada je pH veći od 10,5. Ugljični dioksid može imati nekoliko štetnih učinaka na jedinicu za elektrodeionizaciju s obzirom na oblik u kojem se nalazi. Ukoliko se pojavljuje kao ugljična kiselina dolazi do smanjenja pH-vrijednosti te to negativno utječe na ionsku izmjenu i deionizaciju. Nadalje, ukoliko je prisutan u obliku hidrogenkarbonatnih karbonatnih iona može doći do zauzimanja mjesta na ionsko-izmjenjivačkim smolama tako te se posljedično tome smanjuje njihov kapacitet za vezanje drugih iona. CO_2 se može ukloniti na nekoliko načina kao što su membranski otplinjači, kemijska obrada natrijevim hidroksidom i jedan dio otopljenog ugljičnog dioksida se uklanja reverznom osmozom. Za što efikasnije uklanjanje i što veću učinkovitost jedinice za elektrodeionizaciju koriste se kombinacije svih ovih metoda (Alvarado i Chen, 2014). Sam proces elektrodeionizacije je baziran na korištenju dualne tehnologije, odnosno spoja elektrodijalize i ionske izmjene. Postupak spada u grupu procesa koji se služe električnim potencijalom kako bi razdvojili komponente u vodi. Njena jedinica je dizajnirana tako da su

naizmjenično posložene kationske i anionske membrane između elektroda. Na taj način negativno nabijeni ioni (anioni) putuju prema anodi, pozitivno nabijeni ioni (kationi) prema katodi dok nenabijene molekule vode neometano prolaze između elektroda te se na taj način omogućuje njihovo lakše odvajanje. Voda koja izlazi kao permeat elektrodeionizacije je pročišćena voda koja zatim odlazi do spremnika pročišćene vode i u proces distribucije (Alvarado i Chen, 2014).



Slika 2. Selektivnost membrane za reverznu osmozu (Matošić i Mijatović, 2020.)

2.3.2. SKLADIŠTENJE I DISTRIBUCIJA

Po završetku pročišćavanja, tj. nakon finalnog poliranja kontinuiranom elektrodeionizacijom voda se sakuplja u (horizontalni ili vertikalni) spremnik pročišćene vode određenog kapaciteta te se dalje do mjesta potrošnje distribuira sustavima cijevi i pumpi. Spremnik mora biti napravljen od nehrđajućeg čelika (oznake 304, 304L, 1316 ili 316L) čije unutarnje površine, kao i kod ostalog dijela postrojenja za skladištenje i distribuciju, moraju biti elektropolirane kako ne bi došlo do nakupljanja mikroorganizama i čije cijevi bez stalnog protoka (engl. „deadlegs“) moraju biti što kraće i u što manjem broju iz istog razloga (European Pharmacopoeia 11.4 04/2024:0008). Kako bi se pročišćena voda mogla dobro i pravilno skladištiti, spremnici moraju biti opremljeni indikatorima razine, drenažnim ventilom, 0,01 μm zračnim filterom, diskovima za regulaciju podtlaka i nadtlaka prilikom punjenja i pražnjenja te vapnenim peletima koji sprječavaju ulazak atmosferskog ugljikovog dioksida. Svi ventili koji se koriste trebaju biti nepovratni (Habek, 2021).

Temperatura pročišćene vode prilikom skladištenja i distribucije smije varirati između 15 i 25 $^{\circ}\text{C}$ te ju je potrebno regulirati pomoću izmjenjivača topline zbog toga što se već njenim

neznatnim povećanjem mogu ubrzati biokemijske reakcije koje pogoduju razmnožavanju patogenih mikroorganizama. Kroz petlju konstantno mora cirkulirati voda minimalnom brzinom 1-3 m/s pomoću pumpi kako bi postrojenje konstantno bilo u kontaktu s vodom te da se ona ne zadržava dugo na jednom mjestu. Da bi se osigurala mikrobiološka čistoća i ispravnost pročišćene vode, provodi se redovna sanitacija pomoću čiste pare, ozonom, kemikalijama ili vrućom vodom. Jedna od boljih opcija je ozon zbog velikog broja prednosti kao što su dezinfekcija vode, inaktivacija virusa, razgrađuje i oksidira organske tvari (tj. dodatno snižava razinu TOC), jednostavan je za uklanjanje biofilma, dokazivanje i validaciju, automatsko doziranje te ga je vrlo jednostavno ukloniti UV lampama. Spremnici u kojima se skladišti pročišćena voda moraju biti danonoćno pod ozonom čije koncentracije moraju biti od 0,2 do 0,4 mg/L, no u proizvodnji lijekova maksimalna dopuštena koncentracija ozona je 2 µg/L te se stoga on pri izlasku iz spremnika mora dezintegrirati pomoću UV lampi. Ponovno korištenje UV lampi, primarno za uklanjanje ozona, dodatno uništava mikroorganizme ukoliko je došlo do njihovog rasta (Shah i sur., 2021).

Da bi došla do mjesta potrošnje, voda prolazi kroz sustave cijevi i pumpi. Najčešće korištene su cirkulacijske pumpe koje osiguravaju turbulentno strujanje vode te održavanje stalnog tlaka cijelog postrojenja. Kao što je već opisano, pročišćena voda prilikom distribucije prolazi kroz UV-C lampe kako bi se uklonio ozon pošto mu se koncentracija mora smanjiti.

2.3.3. KONTROLA PARAMETARA NA MJESTU POTROŠNJE

U farmaceutskom se postrojenju svakodnevno uzorkuje voda s različitih mjesta potrošnje te se provjeravaju razni parametri ovisno o napojnoj vodi koja se koristi za proizvodnju pročišćene vode. Testovi kojima se kontroliraju ovi parametri opisani su u Europskoj farmakopeji te su farmaceutske kompanije njih moraju pridržavati. Ukoliko se neki od testova ne nalazi u europskoj verziji, može se posegnuti za američkom ili japanskom, no to nije čest slučaj.

Od kontrola se provjerava rast mikroorganizama na posebnom R2A agaru i pri pH od $7,2 \pm 0,2$ prema monografiji iz *European Pharmacopoeia 11.4* (bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Burkholderia cepacia* i koliformne bakterije ne smiju biti prisutne te ukupni aerobni mikroorganizmi koji mogu imati 100 CFU/mL), zatim se provjerava izgled i bezbojnost, ukupan organski ugljik), vodljivost (prati se odnos s temperaturom), elementarna onečišćenja i nitrati. Vrijednosti svih ovih parametara navedene su u tablica 5. i tablica 5.- *nastavak*. Postoje kvantitativni i kvalitativni parametri koji se razlikuju međusobno prema njihovom praćenju. Za kvalitativne parametre, što su izgled i nitrati, krajnji ishod testova je odgovor na pitanje odgovaraju li ili ne odgovaraju postavljenim pravilima (npr. obojenje kod nitrata). S

druge strane, za kvantitativne parametre definirane su tri granice praćenja. To su nivo upozorenja, nivo akcije i OOS (engl. „out of specification“). Ukoliko se neka od ovih granica prijeđe, sve farmaceutske kompanije imaju propisane korake prema kojima moraju provesti istraživanje da bi se došlo do spoznaje koji je razlog iza problema te nastojati riješiti isti što je prije moguće (European Pharmacopoeia 11.4, broj monografije 04/24:0008).

Zbog iznimno velike važnosti fizikalno-kemijske i mikrobiološke ispravnosti pročišćene vode za primjenu u proizvodnji različitih vrsta farmaceutika mora se konstantno provoditi provjera njene kvalitete. Radi sigurnosti samih krajnjih potrošača mora se osigurati ispravnost vode na najvišem nivou.

Stoga je cilj ovog rada dobiti odgovor na sljedeća pitanja:

1. Je li kvaliteta pročišćene vode dovoljno dobra za njeno korištenje u proizvodnji farmaceutika?
2. Koristi li se dobar sustav za pročišćavanje i distribuciju same pročišćene vode?
3. Kako su međusobno povezani parametri (TOC, CFU i vodljivost) koji su se mjerili tijekom istraživanja?

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Aparatura i pribor

- „Mettler Toledo“ konduktometar
- TOC analizator Phoenix 8000 (Tekmar Dorman) s autosamplerom
- Vijale za TOC analizu
- Stalak za vijale
- Epruvete
- Automatska propipeta

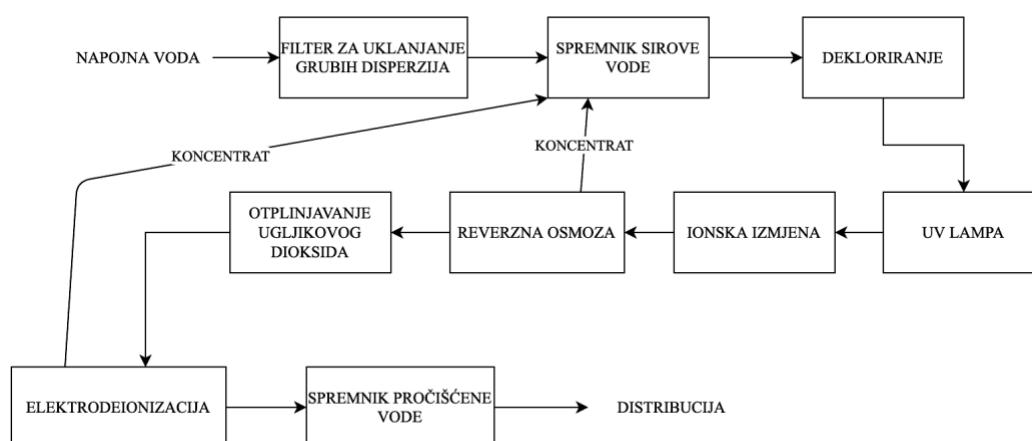
3.1.2. Kemikalije

- Otopina saharoze koja sadrži 0,3 mg/L C
- Otopina saharoze koja sadrži 0,5 mg/L C
- Pročišćena voda

3.2. METODE

Za izradu eksperimentalnog dijela ovog završnog rada, određivali su se fizikalno-kemijski parametri pročišćene vode u farmaceutskoj tvrtki Republike Hrvatske. To su ukupni organski ugljik i vodljivost tijekom jednog mjeseca. Uz te podatke, za izradu ovog rada korišteni su i povijesni podaci koji su zabilježeni tijekom 12 mjeseci. Uz podatke za fizikalno-kemijske parametre koji su prikupljeni tijekom jedne godine, u ovom radu su korišteni i rezultati mikrobioloških analiza koji su bili su dobiveni od mikrobiološkog laboratorija iz poduzeća u kojem je izrađen ovaj rad te su korišteni za provođenje statističke obrade podataka. Uzorci u kojima su se mjerili navedeni parametri bili su uzorkovani s 25 različitih mjesta unutar postrojenja.

3.2.1. UREĐAJ ZA PROČIŠĆAVANJE VODE



Slika 3. Blok shema procesa pročišćavanja vode unutar postrojenja (vlastiti izvor)

Kao što je prikazano na blok shemi (slika 3) uređaj za pročišćavanje vode dizajniran je tako da napojna voda (dobivena od javnog isporučitelja vode za ljudsku potrošnju) prolazi kroz filter za uklanjanje grubih disperzija te se zatim pohranjuje u spremnik sirove vode. Iz spremnika, voda putuje kroz sustav za dekloriranje tako da se ukloni rezidualni klor dodan u procesu dezinfekcije kod pripreme vode za ljudsku potrošnju. Zatim deklarirana sirova voda prolazi kroz cijev u kojoj se nalazi UV lampa da se inaktiviraju mikroorganizmi UV zračenjem. Jednom kada je voda prošla ove korake obrade, dovodi se do ionskog izmjenjivača gdje se omekšava, tj. zamjenjuju se kalcijevi i magnezijevi kationi s natrijevim. Svi ovi koraci su u predobradi iznimno važni kako bi osigurali što bolju kvalitetu vode za procese reverzne osmoze i elektrodeionizacije koji su najbitniji koraci u proizvodnji pročišćene vode te su izrazito osjetljivi

na njen sastav. Permeat reverzne osmoze odlazi na otplinjač slobodnog ugljikovog dioksida jer on uzrokuje oštećenje uređaja za elektrodeionizaciju. Permeat koji izlazi iz jedinice za elektrodeionizaciju smatra se pročišćenom vodom koja se odvodi u spremnik gdje se podliježe ozonu radi očuvanja njene mikrobiološke kvalitete te se dalje distribuira do mjesta potrošnje i/ili uzorkovanja. Ta mjesta uzorkovanja su svi laboratoriji (odnosno laboratorijski sudoperi u kojima je instaliran dovod pročišćene vode), mjesta u proizvodnim pogonima (mjesta slobodnog korištenja i doziranja kao što su vagaonica materijala, praonica opreme, strojevi poput granulatora i miksera jer se u njima voda automatski dozira) i strojevi na kojima se nalaze posebni ventili namijenjeni uzorkovanju vode.

3.2.2. ODREĐIVANJE UKUPNOG ORGANSKOG UGLJIKA

Ukupni organski ugljik određivao se pomoću TOC analizatora Phoenix 8000 (Tekmar Dorman) koji je opremljen autosamplerom. Najprije se moraju pripremiti osnovne otopine saharoze čije koncentracije moraju biti 0,3 mg/L i 0,5 mg/L te je njihova stabilnost valjana u vremenskom razdoblju od 3 dana. Otopina koncentracije 0,3 mg/L napravi se tako da se 3 mL osnovne otopine saharoze doda u odmjernu tikvicu od 200 mL te ostatak se dopuni vodom do oznake, dok se otopina koncentracije 0,5 mg/L napravi tako da se 5 mL osnovne otopine saharoze doda u odmjernu tikvicu od 200 mL te se ostatak dopuni vodom do oznake. Osnovna otopina saharoze priprema se tako da 47,5 mg saharoze prenesemo u odmjernu tikvicu od 1000 mL, otopi i dopuni vodom do oznake. Nakon pripremljenih standarada, pomoću uređaja izmjerimo odzive pročišćene vode (nulta točka) i otopina saharoze. Zatim očitamo jednadžbu pravca i vrijednost R^2 pomoću računalnog programa te ukoliko je njena vrijednost veća ili jednaka 0,995 kalibraciju smatramo valjanom. Nadalje na označena mjesta u autosampler-u stavljaju se ostali uzorci čije je vrijednosti potrebno izmjeriti te je mjerenje provedeno. Zbog visoke osjetljivosti ove metode na bilo koju promjenu u sastavu vode ona se provodi prije ostalih metoda kontrole.

3.2.3. ODREĐIVANJE VODLJIVOSTI

Vodljivost se mjerila pomoću Toledo konduktometra bez temperaturne kompenzacije, ali uz istovremeno bilježenje temperature. Iz boca u kojima su se nalazili uzorci, prenijeto je oko 200 mL svakog uzorka u različite laboratorijske čaše. Potom se u te čaše uronila elektroda konduktometra (koja je prebrisana između dva mjerenja) te je on sam mjerio vrijednosti koncentracije nitrata i ispisao papirić s konačnim vrijednostima. Izmjereni podaci moraju odgovarati zahtjevima iz Tablice 6. što znači da ako je dobivena vrijednost manja ili jednaka

danoj, ispitivana pročišćena voda odgovara zahtjevima.

Tablica 6. Zahtjevi za vodljivost na temelju istovremeno izmjerene temperature (*European Pharmacopoeia 11.4*, broj monografije 04/2024:0008)

| Temperatura (°C) | Vodljivost (μS/cm) |
|------------------|--------------------|
| 0 | 2,4 |
| 10 | 6,6 |
| 20 | 4,3 |
| 25 | 5,1 |
| 30 | 5,4 |
| 40 | 6,5 |
| 50 | 7,1 |
| 60 | 8,1 |
| 70 | 9,1 |
| 75 | 9,7 |
| 80 | 9,7 |
| 90 | 9,7 |
| 100 | 10,2 |

Ukoliko izmjerena temperatura nije navedena, izračuna se najveća dozvoljena vodljivost pomoću interpolacije između njene niže i više vrijednosti temperature iz tablice.

3.2.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Obrada dobivenih rezultata provodila se statistički pomoću programa Microsoft Excel. Određena je srednja vrijednost, gornji i donji kvantili te medijan kako bi se mogli konstruirati dijagrami pravokutnika (engl. „box and whiskers“) za olakšanu usporedbu podataka te donošenja zaključaka o provedenom postupku pročišćavanja. Koeficijent koji se najčešće koristi u izradi ovakvih tablica jest Pearsonov koeficijent korelacije čije vrijednosti variraju od -1 (jaka negativna veza) i 1 (jaka pozitivna veza), dok vrijednost 0 znači da korelacije uopće nema. Pozitivna korelacija znači da parametri imaju tendenciju zajedničkog mijenjanja (ukoliko jedan raste, to također radi i drugi), a negativna korelacija označava suprotno mijenjanje parametara (ukoliko jedan raste, drugi pada). Korelacijska tablica zapravo predstavlja matricu koja prikazuje korelaciju, tj. linearnu vezu, između različitih varijabli. Na glavnoj se dijagonali

prikazuje vrijednost 1 jer je korelacija varijable sama sa sobom uvijek 1. Ukoliko želimo dublje istražiti povezanost mjerenih parametara najprije se mora izračunati njihov koeficijent korelacije i nacrtati dijagram raspršenosti koji pomaže vizualnoj procjeni povezanosti odabranih parametara. Isto tako je napravljena i korelacija između mjerenih parametara s mjesecom i mjestom uzorkovanja. Svako su lokaciji dodijeljeni brojevi od jedan do dvanaest koji predstavljaju mjesece u godini te su svakom mjesecu dodijeljene izmjerene vrijednosti parametara. Korelacija je napravljena na način da se izračuna medijan svakog parametra za određenu lokaciju te se računa razlika vrijednosti izmjerenih parametara od medijana. Zatim se računaju kvadrati i umnošci tih razlika koji se na kraju međusobno zbroje. Nakon toga se koristi i formula za koeficijent korelacije. Cijeli ovaj postupak provodi sam program Microsoft Excel. Da bismo našli lokacije kod kojih se javljaju malo ekstremnije vrijednosti, tj. koje se mogu smatrati problematičnijima, potrebno je odrediti raspon između gornjeg i donjeg kvartila (tzv. interkvartilni raspon) te uočiti koje vrijednosti znatnije odstupaju i u kojim lokacijama.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Tablica 7. Prikaz maksimalne, srednje i minimalne vrijednosti te standardne devijacije za vodljivost, CFU i TOC za uzorke s 25 različitih mjesta uzorkovanja unutar postrojenja za proizvodnju farmaceutika

| MJESTO UZORKOVANJA | | Vodljivost (μS/cm) | CFU (po mL pri 35 °C) | TOC (mg/L) |
|---------------------------|------------------------------|--|----------------------------------|-------------------|
| 1 | Maksimalna vrijednost | 0,87 | 0 | 0,03 |
| | Srednja vrijednost | 0,612 | 0 | 0,01 |
| | Minimalna vrijednost | 0,47 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,124 | 0 | 0,009 |
| 2 | Maksimalna vrijednost | 0,78 | 0 | 0,03 |
| | Srednja vrijednost | 0,686 | 0 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 2 | 0 | 0,52 |
| | Standardna devijacija | 0,077 | 0 | 0,012 |
| 3 | Maksimalna vrijednost | 0,95 | 1 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,643 | 0,09 | 0,015 |
| | Minimalna vrijednost | 0,51 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,116 | 0,30 | 0,012 |
| 4 | Maksimalna vrijednost | 0,86 | 0 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,678 | 0 | 0,017 |
| | Minimalna vrijednost | 0,48 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,146 | 0 | 0,013 |
| 5 | Maksimalna vrijednost | 0,75 | 0 | 0,2 |
| | Srednja vrijednost | 0,625 | 0 | 0,03 |
| | Minimalna vrijednost | 0,46 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,116 | 0 | 0,054 |
| 6 | Maksimalna vrijednost | 0,85 | 0 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,624 | 0 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,48 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,122 | 0 | 0,012 |

Tablica 7. Prikaz maksimalne, srednje i minimalne vrijednosti te standardne devijacije za vodljivost, CFU i TOC za uzorke s 25 različitih mjesta uzorkovanja -*nastavak*

| MJESTO UZORKOVANJA | | Vodljivost ($\mu\text{S/cm}$) | CFU (po mL pri 35 °C) | TOC (mg/L) |
|---------------------------|------------------------------|---|----------------------------------|-------------------|
| 7 | Maksimalna vrijednost | 0,85 | 0 | 0,05 |
| | Srednja vrijednost | 0,647 | 0 | 0,015 |
| | Minimalna vrijednost | 0,48 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,091 | 0 | 0,016 |
| 8 | Maksimalna vrijednost | 0,9 | 0 | 0,06 |
| | Srednja vrijednost | 0,685 | 0 | 0,014 |
| | Minimalna vrijednost | 0,51 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,124 | 0 | 0,017 |
| 9 | Maksimalna vrijednost | 0,9 | 41 | 0,03 |
| | Srednja vrijednost | 0,664 | 0,02 | 0,012 |
| | Minimalna vrijednost | 0,47 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,107 | 11,25 | 0,012 |
| 10 | Maksimalna vrijednost | 0,98 | 3 | 0,03 |
| | Srednja vrijednost | 0,733 | 0,01 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,49 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,138 | 0,87 | 0,01 |
| 11 | Maksimalna vrijednost | 0,94 | 6 | 0,1 |
| | Srednja vrijednost | 0,659 | 0,01 | 0,011 |
| | Minimalna vrijednost | 0,53 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,128 | 1,73 | 0,026 |
| 12 | Maksimalna vrijednost | 0,94 | 0 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,672 | 0 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,48 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,143 | 0 | 0,012 |

Tablica 7. Prikaz maksimalne, srednje i minimalne vrijednosti te standardne devijacije za vodljivost, CFU i TOC za uzorke s 25 različitih mjesta uzorkovanja - *nastavak*

| MJESTO UZORKOVANJA | | Vodljivost ($\mu\text{S/cm}$) | CFU (po mL pri 35 °C) | TOC (mg/L) |
|---------------------------|------------------------------|---|----------------------------------|-------------------|
| 13 | Maksimalna vrijednost | 0,72 | 1 | 0,05 |
| | Srednja vrijednost | 0,599 | 0,02 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,47 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,111 | 3,05 | 0,013 |
| 14 | Maksimalna vrijednost | 0,89 | 1 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,675 | 0,02 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,53 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,102 | 0,39 | 0,014 |
| 15 | Maksimalna vrijednost | 0,85 | 4 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,65 | 0,02 | 0,017 |
| | Minimalna vrijednost | 0,44 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,126 | 1,21 | 0,013 |
| 16 | Maksimalna vrijednost | 0,82 | 1 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,657 | 0,01 | 0,02 |
| | Minimalna vrijednost | 0,53 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,087 | 0,29 | 0,015 |
| 17 | Maksimalna vrijednost | 0,92 | 2 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,685 | 0,02 | 0,02 |
| | Minimalna vrijednost | 0,58 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,102 | 0,60 | 0,016 |
| 18 | Maksimalna vrijednost | 0,90 | 5 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,654 | 0,02 | 0,013 |
| | Minimalna vrijednost | 0,46 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,136 | 1,73 | 0,014 |

Tablica 7. Prikaz maksimalne, srednje i minimalne vrijednosti te standardne devijacije za vodljivost, CFU i TOC za uzorke s 25 različitih mjesta uzorkovanja - *nastavak*

| MJESTO UZORKOVANJA | | Vodljivost ($\mu\text{S/cm}$) | CFU (po mL pri 35 °C) | TOC (mg/L) |
|---------------------------|------------------------------|---|----------------------------------|-------------------|
| 19 | Maksimalna vrijednost | 0,92 | 13 | 0,05 |
| | Srednja vrijednost | 0,623 | 0,02 | 0,018 |
| | Minimalna vrijednost | 0,47 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,133 | 3,82 | 0,016 |
| 20 | Maksimalna vrijednost | 0,88 | 0 | 0,03 |
| | Srednja vrijednost | 0,646 | 0,01 | 0,018 |
| | Minimalna vrijednost | 0,4 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,143 | 0 | 0,012 |
| 21 | Maksimalna vrijednost | 0,89 | 6 | 0,05 |
| | Srednja vrijednost | 0,665 | 0,02 | 0,015 |
| | Minimalna vrijednost | 0,55 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,094 | 1,80 | 0,015 |
| 22 | Maksimalna vrijednost | 0,73 | 0 | 0,05 |
| | Srednja vrijednost | 0,553 | 0,02 | 0,012 |
| | Minimalna vrijednost | 0,39 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,103 | 0 | 0,014 |
| 23 | Maksimalna vrijednost | 0,78 | 18 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,622 | 0,02 | 0,015 |
| | Minimalna vrijednost | 0,5 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,088 | 6,83 | 0,012 |
| 24 | Maksimalna vrijednost | 0,83 | 1 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,654 | 0,02 | 0,017 |
| | Minimalna vrijednost | 0,5 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,085 | 0,29 | 0,012 |
| 25 | Maksimalna vrijednost | 0,90 | 3 | 0,04 |
| | Srednja vrijednost | 0,674 | 0,01 | 0,014 |
| | Minimalna vrijednost | 0,51 | 0 | 0 |
| | Standardna devijacija | 0,124 | 0,87 | 0,012 |

Tablica 8. Prikaz rezultata korelacije za sva tri analizirana parametra (vodljivost, CFU i TOC) s mjesecom i mjestom uzorkovanja

| | MJESTO* | MJESEC | VODLJIVOST ($\mu\text{S/cm}$) | CFU (po mL pri 35 °C) | TOC (mg/L) |
|------------------------------------|---------|---------|------------------------------------|--------------------------|---------------|
| MJESTO* | 1,0000 | -0,0089 | -0,0544 | 0,1464 | -0,0037 |
| MJESEC | -0,0089 | 1,0000 | 0,0951 | 0,0786 | 0,1912 |
| VODLJIVOST ($\mu\text{S/cm}$) | -0,0544 | 0,0951 | 1,0000 | -0,0165 | 0,0674 |
| CFU (po mL pri 35 °C) | 0,1464 | 0,0786 | -0,0165 | 1,0000 | 0,0211 |
| TOC (mg/L) | -0,0037 | 0,1912 | 0,0674 | 0,0211 | 1,0000 |

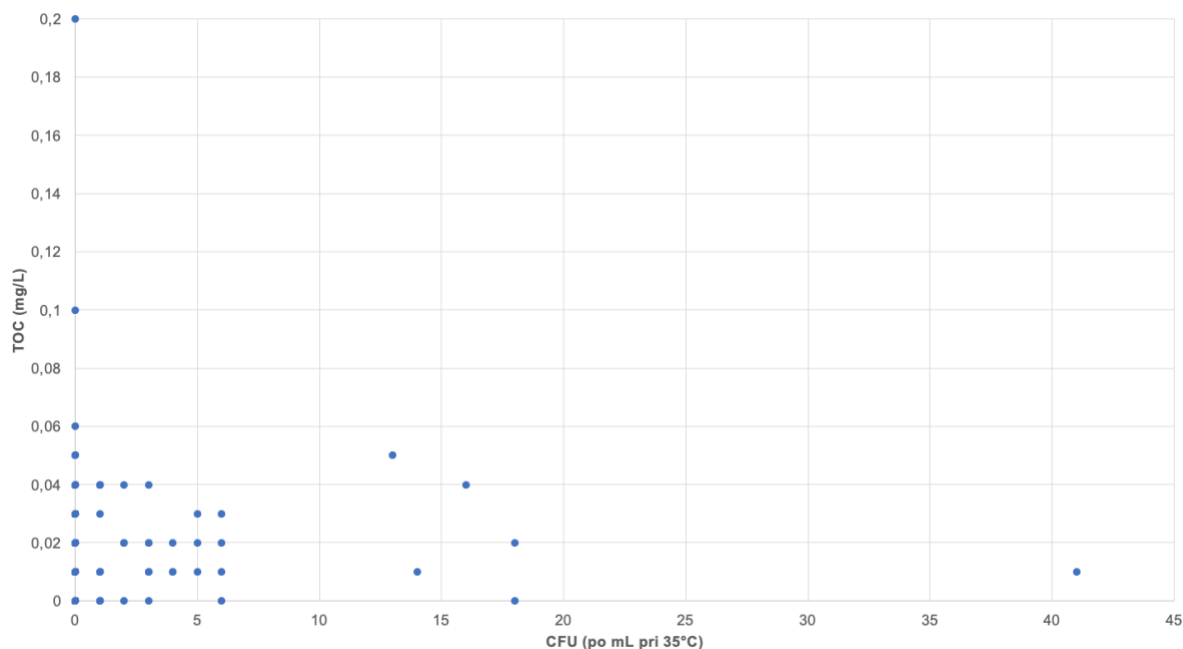
*mjesto se referira na mjesto uzorkovanja

Tablica 7 daje uvid u izmjerenu maksimalnu, srednju i minimalnu vrijednost mjerenih parametara za svih 12 mjeseci na pojedinoj lokaciji. Iz tablice se može vidjeti kako je velika većina mjerenih parametara bila unutar granica koje su propisane uz par iznimki kao što su mjesto 5 (razina TOC bila je 0,2 mg/L), mjesto 9 (41 CFU/mL) te mjesto 2 (2 $\mu\text{S/cm}$).

Iz podataka iz tablice 8 zapravo je vidljivo kako mjesto uzorkovanja ima vrlo slabu korelaciju s vodljivošću i vrijednosti TOC, no malo jaču korelaciju s vrijednosti CFU. S obzirom da se uzorci uzimaju na mjestima različite čistoće te ih uzorkuju različiti ljudi koji svojom nepažnjom mogu kontaminirati uzorak. Nadalje, povezanost između vrijednosti TOC-a i CFU-a također se kreće blizu nule (0,0211) pokazujući kako su ova dva parametra slabo povezana, što teoretski ne bi trebalo biti kod većine vrsta mikroorganizama. Poznato je kako bakterije i drugi mikroorganizmi kao izvor nutrijenata koriste organski ugljik u različitim oblicima. Ukoliko se u vodi smanji koncentracija ukupnog organskog ugljika, mikroorganizmi imaju manje nutrijenata prisutnih pa bi i njihova koncentracija trebala biti manja (CFU). Razlozi relativno male vrijednosti mogu biti greške i varijacije tijekom mjerenja, različiti okolišni čimbenici, vrste mikroorganizama koje su prisutne (jer neke ne koriste ukupni organski ugljik kao izvor energije), razlike u načinu uzorkovanja, prisutnost različitih inhibitora rasta stanica mikroorganizama te nesimultano uzimanje uzorka i provođenje mjerenja (Baird i Bloomfield, 2017). Neki mjeseci pokazuju znatniju korelaciju, ali se interpretiraju kao izuzeci. Nadalje, niska vrijednost korelacije može biti posljedica precizne kontrole kvalitete procesa (varijacije u TOC-u i CFU-u obično su minimalne te baš zbog toga i neovisne jedna o drugoj), korištenja različitih metoda za smanjenje ovih dviju vrijednosti (tj. za pročišćavanje čija je kvaliteta vrlo visoka) te postojanja različitih izvora kontaminacija (mogu se izvori organskog zagađenja razlikovati od mikrobiološke kontaminacije jer povećana vrijednost TOC-a može biti rezultat prisutnosti tragova organskih kemikalija i promjene oksidacijskog profila) (Kott i sur, 2003).

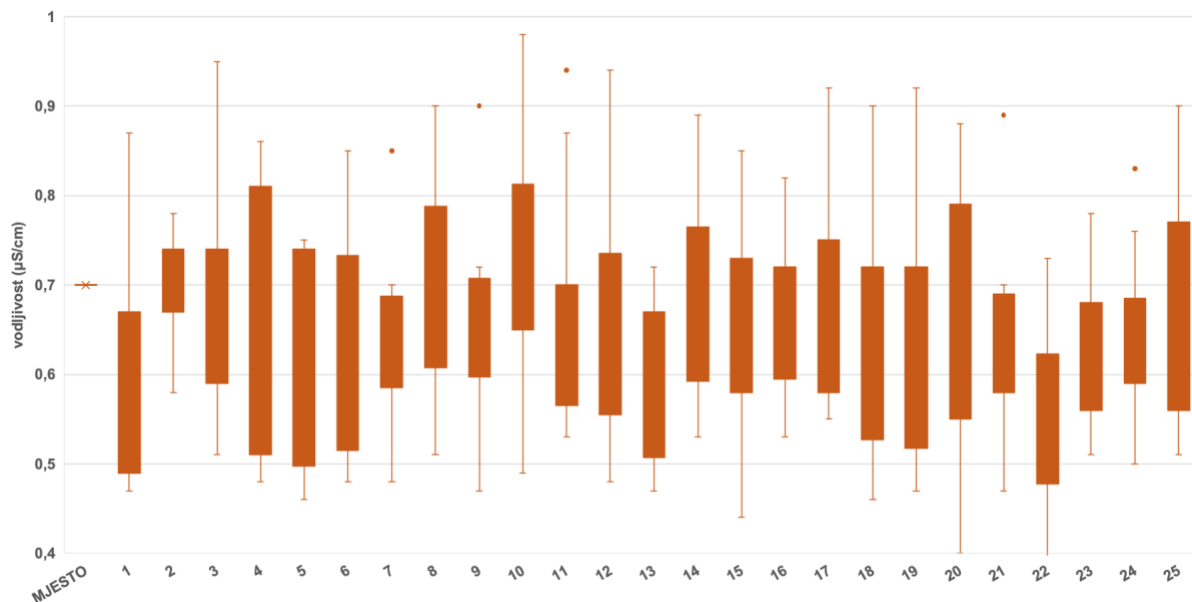
Jednu od većih uloga u industriji imaju dizajn i kontrola pogona za obradu vode jer itekako utječu na kontaminaciju mikroorganizmima. Nedovoljno dobrom izvedbom gradnje postrojenja, po opremi može doći do nakupljanja biofilma, stvaranja rezidua dezinfekcijskih sredstava i pojave temperaturnih varijacija koje utječu i na povećanje ukupnog organskog ugljika i na rast mikroorganizama. (Baird i Bloomfield, 2017). Zbog uočene, ali ne potpuno linearne, povezanosti između vrijednosti TOC-a i CFU-a kroz raspravu će se iznijeti argumenti zašto bi to bilo tako.

Također su se ustanovile korelacije između specifičnih mjesta i mjeseca uzorkovanja s dobivenim vrijednostima TOC-a i CFU-a koji bi mogli ukazivati na utjecaj mjesnih i vremenskih uvjeta pri uzorkovanju. Lokacije s pozitivnom povezanošću su 11, 14, 16, 17, 23 i 25 te s negativnom 3 i 19. Što se tiče mjeseci u godini, četvrti i deseti mjesec imaju pozitivnu povezanost s vrijednostima dok treći mjesec negativnu. Postojanje određenih pozitivnih ili negativnih korelacija s mjestom i mjesecom uzorkovanja upućuje na utjecaj okolnih čimbenika na mjerene parametre. Nakon što se uklone vrijednosti koje znatnije iskaču od ostalih (engl. „outliers“), koeficijent korelacije između TOC-a i CFU-a je 0,039 što i dalje predstavlja relativno slabu povezanost. Baš zbog pojave ekstremnijih vrijednosti te zbog osiguravanja potrebne kvalitete pročišćene vode neophodno je uvodi strože mjere praćenja i održavanja samog procesa proizvodnje. To bi značilo da se oprema i sve što dolazi u kontakt s vodom mora redovito sanitizirati i prolaziti kroz tretman ultraljubičastim zrakama. Nadalje, moguće je osmišljavanje novih modela procesa koji će koristiti razne vrste biocida za kontrolu rasta mikroorganizama što bi i razine ukupnog organskog ugljika održavalo u propisanim granicama.

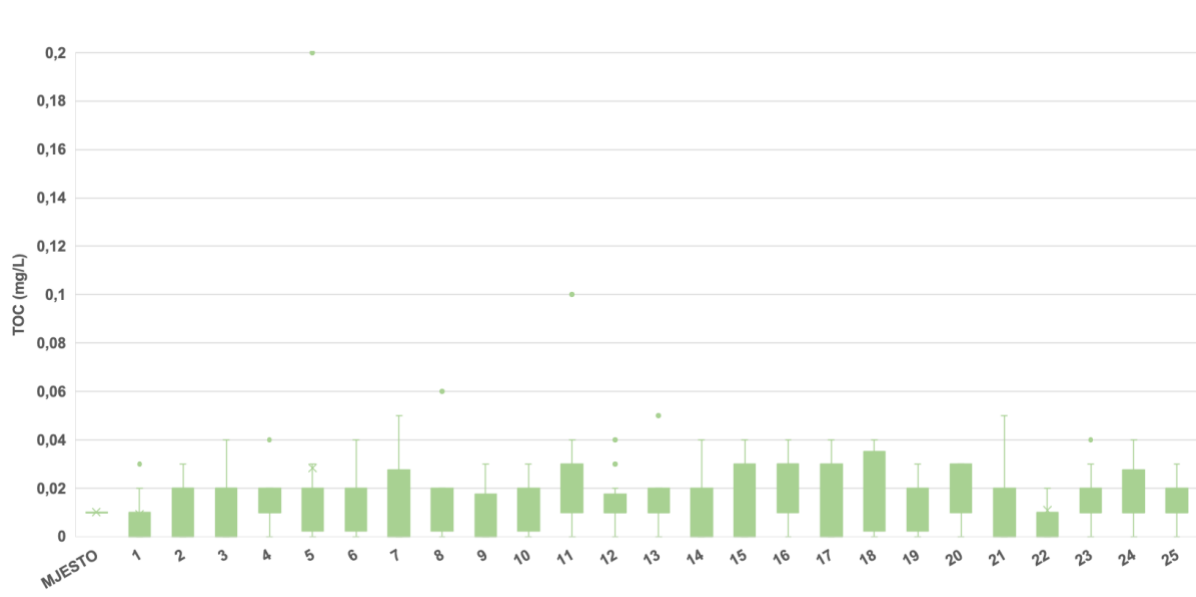


Slika 4. Dijagram raspršenosti s vrijednostima TOC-a i CFU-a

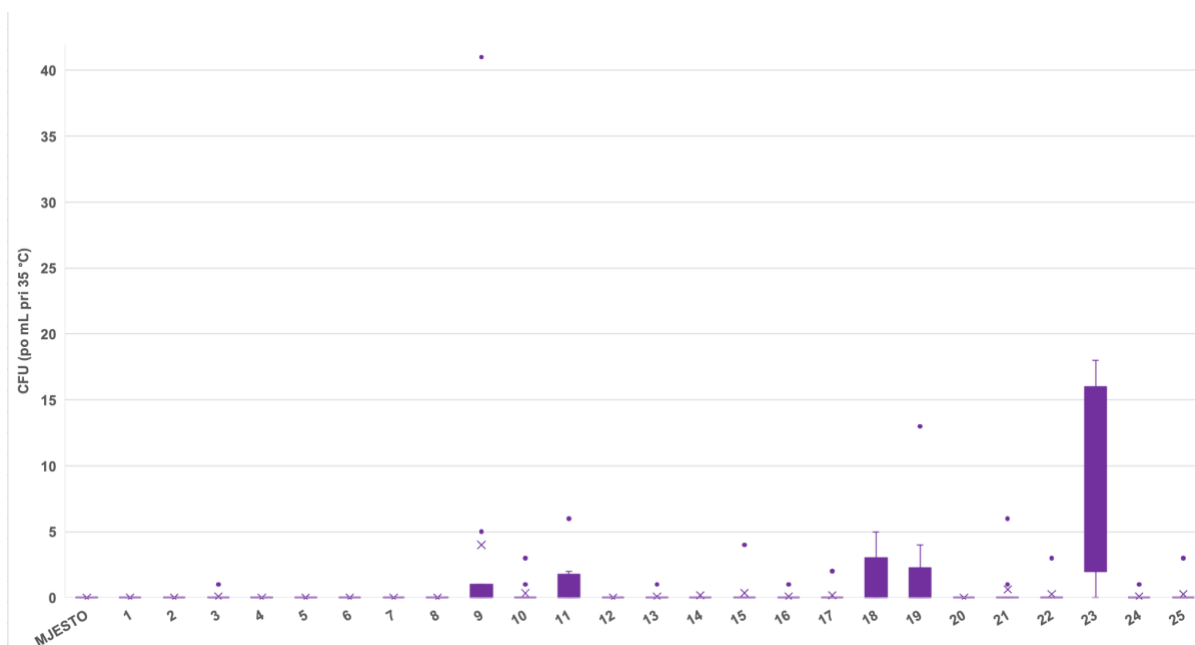
Iz dijagrama raspršenosti je vidljivo kako su točke većinom grupirane u donjem dijelu x-osi i y-osi, odnosno blizu samog početka koordinatnog sustava što nam sugerira da nema snažne korelacije između vrijednosti CFU-a i TOC-a. Grupirane točke prikazuju vrijednosti vrlo sličnih karakteristika, tj. niske varijabilnosti, što bi se dalo protumačiti kako se tijekom jedne godine rezultati mjerenja nisu znatno mijenjali te su bili unutar propisanih granica monografija u Europskoj farmakopeji (broj monografije 04/2024:0008) i internim zahtjevima. Primjećuju se i dva outliera, tj. točke koje se razlikuju od ostalih, u gornjem lijevom i donjem desnom kutu (vrijednost CFU je 41/mL pri 35 °C te vrijednost TOC 0,2 mg/L). Te točke mogu utjecati na percepciju trenda, ali nema neke jasne naznake koja ukazuju li na rastući ili padajućí smjer. Nakon što se uklone ekstremne vrijednosti i kod podataka vezanih za TOC i CFU, njihov koeficijent korelacije je i dalje vrlo nizak, dosežući vrijednost od 0,039. Kada bi se određivala neka dublja povezanost ova dva parametra, u obzir bi se uzeli podaci s određenih lokacija u određeno vrijeme te se stvarali nelinearni modeli ili analize s puno više varijabli koje bi mogle utjecati na njihovo ponašanje.



Slika 5. Prikaz medijana, minimuma, maksimuma, gornjeg i donjeg kvartila vodljivosti za svih 25 lokacija od kuda su uzimani uzorci tijekom 12 mjeseci



Slika 6. Prikaz medijana, minimuma, maksimuma, gornjeg i donjeg kvartila za ukupan organski ugljik za svih 25 lokacija od kuda su uzimani uzorci tijekom 12 mjeseci



Slika 7. Prikaz medijana, minimuma, maksimuma, gornjeg i donjeg kvartila za broj mikroorganizama prikazan pomoću vrijednosti CFU za svih 25 lokacija od kuda su uzimani uzorci tijekom 12 mjeseci

Lokacije koje se smatraju najproblematičnijima, tj. one lokacije čije vrijednosti parametara znatnije odstupaju su mjesto 3, 10 i 11 (za sva tri parametra) te mjesta 15, 16, 17, 18, 19, 21, 23 i 24 (za CFU i TOC). Da bi krajnji podaci bili konkretniji, trebalo bi se provesti i do nekoliko dodatnih testova kao što su povećani nadzor onih lokacija koje se smatraju problematičnima (tj. potrebno je razumjeti sve faktore koji na specifičnoj lokaciji mogu uvjetovati sastavu uzorka koji ide na ispitivanje), dokučiti što utječe na vrijednosti koje znatnije odstupaju od ostalih, u obzir kod mjerenja uzeti i neke druge varijable (kao što su temperatura, pH ili neke druge hranjive tvari) te isto tako se mogu osmišljavati brojni novi modeli koji će uspjeti razjasniti kompleksnije povezanosti koje nisu vidljive iz linearnih korelacija.

Iz dijagrama sa slike 6 može se vidjeti relativno konzistentne vrijednosti TOC-a u većini lokacija gdje samo njih par odstupa s ekstremnijim vrijednostima. To su lokacije 5, 8, 12 i 13 čije vrijednosti dostižu 0,2, 0,06, 0,04 i 0,05 mg/L. Iz slike 7 može se protumačiti kako postoji velika varijabilnost u vrijednostima CFU-a za svih 25 lokacija zbog velikog broja outliers-a. To je pogotovo izraženo u lokacijama 9, 19 i 23 gdje maksimalne vrijednosti dosežu i do 41, 14 i 18 CFU/mL. Ovo može biti razlog nepažljivog uzorkovanja ili kontaminacije uređaja unutar postrojenja iako se ove vrijednosti i dalje nalaze unutar propisanih granica. Najvarijabilnije mjesto je mjesto broj 23 jer je vidljiv velik raspon vrijednosti od minimalne do maksimalne.

5. ZAKLJUČCI

1. Sustav za proizvodnju pročišćene vode priprema vodu koja odgovara zahtjevima definiranim u dokumentu *European Pharmacopoeia* 11.4 što se tiče kemijske i mikrobiološke ispravnosti.
2. Sustav reverzne osmoze i elektrodeionizacije kao glavni korak za pročišćavanje vode zajedno s doziranjem ozona u procesu skladištenja pokazao se kao dobro rješenje za proizvodnju i održavanje dobre kvalitete pročišćene vode.
3. Sustav za skladištenje i distribuciju vode omogućuje da kvaliteta pročišćene vode nakon proizvodnje ostane na dobroj razini dok ne dođe do mjesta korištenja i/ili mjesta uzorkovanja.
4. Postoji korelacija između mjerenih parametara TOC i CFU (0,0211), između vodljivosti i TOC (0,0674), dok je korelacija između vodljivost i CFU (-0,0165) gotovo neznatna.

6. POPIS LITERATURE

- Alvarado L, Chen A (2014) Electrodeionization: Principles, Strategies and Applications. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.03.165> .
- ASTM (2018) Standard Specification for Reagent Water. ASTM-American Society for Testing and Materials <https://www.astm.org/d1193-06r18.html> . Pristupljeno 17.3.2024.
- Baird R, Bloomfield SF (2017) Microbial Quality Assurance in Cosmetics, Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals: Microbiological control: Methods and Standards. 2. izd., CRC Press, Boca Raton
- Behera B (2020) Biopharmaceuticals, CRC Press, Boca Raton. Dostupno na <https://doi.org/10.1201/9781351013154> .
- Boothe J, Fine L (1999) Pharmaceutical Water Systems: Design and Operation. *Journal of Validation Technology*, 6(2), str. 80-89
- Choudhary A (2023) Pharmaceutical water-Pharmaguideline. <https://www.pharma guideline.com/2012/09/pharmaceutical-water.html> . Pristupljeno 15.3.2024.
- Deborde M, von Gunten U (2008) Reactions of Chlorine with Inorganic and Organic Compounds during Water Treatment“. *Water Research*, 42, str. 13-51
- European Pharmacopoeia 11.4 04/2024:0008 Purified water in bulk — Production
- European Pharmacopoeia 11.4 04/2024:0169 Water for injections—Production
- GOSH (2020) Types of medicines. Great Ormond Street Hospital, <https://www.gosh.nhs.uk/conditions-and-treatments/medicines-information/types-medicines/> . Pristupljeno 10.3.2024.
- Habek H (2021) Priprema tehnološke vode u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (završni rad), Prehrambeno-tehnološki fakultet, Sveučilište Sjever, Koprivnica
- International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE) (2001) „ISPE Baseline® Guide: Water and Steam Systems“, 3. izd.
- ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use: Specification and test methods
- Izzi.digital: Oblici lijekova (2020). Dostupno na: <https://hr.izzi.digital/DOS/112269/115294.html> . Pristupljeno 10.3.2024.
- Izzi.digital: Podjela i primjena lijekova (2020). Dostupno na: <https://hr.izzi.digital/DOS/112269/114464.html> . Pristupljeno 10.3.2024.
- Izzi.digital: Unošenje lijekova u organizam (2020). Dostupno na: <https://hr.izzi.digital/DOS/112269/115297.html> . Pristupljeno 1.5.2024.

- Kott Y, Ribas F, Frías J, Lucena F (2003) Comparison between the evaluation of bacterial regrowth capability in a turbidimeter and biodegradable dissolved organic carbon bioreactor measurements in water. *Journal of Applied Microbiology*, 347-352. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1997.00235.x>
- McCormick K, Sanders JH (2022) *Quality: Water for pharmaceutical use*. 2. izd., Butterworth-Heinemann, Oxford
- Mijatović I i sur. (2004) *Priprema vode za hemodijalizu*, Hrvatska gospodarska komora, Zagreb.
- Mijatović I, Matošić M (dopunjeno izdanje 2020) *Tehnologija vode (interna skripta)*, Zagreb, str. 138
- Nawrocki J, Andrzejewski P (2011) Nitrosamines and water. *Journal of Hazardous Materials*, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.02.005> .
- PDR Staff (2010) „Overview of Drug Delivery Methods“ PDR-Physicians' Desk Reference, 64, str. 44-49
- Pravilnik (2023) Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analiza i monitorinzima vode namijenjene za ljudsku potrošnju, Narodne novine 64. <https://narodne-novine.nn.hr/search.aspx?sortiraj=4&kategorija=1&godina=2023&broj=64&rpp=200&qtype=1&pretraga=da> . Pristupljeno 15.3.2024.
- Shah SH, Khan M, Abdullah, Rehman AU, Atif M (2021) Bacteriological profile of pharmaceutical water used for production purpose. *J Dermat Cosmetol*. 2021; 5(5):123-123. DOI: 10.15406/jdc.2021.05.00195. Pristupljeno 20.4.2024.
- Spicer DB (2021) Methods and Mechanisms of Photonic Disinfection. *J Res Natl Inst Stan* 126:126016. <https://doi.org/10.6028/jres.126.016> . Pristupljeno 14.4.2024.
- U.S: Food and Drug Administration (FDA) Types of Applications, <https://www.fda.gov/drugs/types-applications> . Pristupljeno 10.3.2024.
- US Pharmacopoeia <643> Purified Water — Total organic carbon
- US Pharmacopoeia <645> Purified Water — Water conductivity
- WHO (2021) Good manufacturing practices: water for pharmaceutical use (Annex 3). WHO-World Health Organization. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/guidelines/inspections/trs1033-annex3-gmp-water-for-pharmaceuticals-use.pdf?sfvrsn=aaa46ae5_4&download=true . Pristupljeno 1.4.2024.
- Zakon o lijekovima (2018) . Narodne novine 76/13, Zagreb. <https://www.zakon.hr/z/399/Zakon-o-lijekovima> . Pristupljeno 10.3.2024.

Izjava o izvornosti

Ja Bruna Vrbanić Herceg izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Bruna Vrbanić Herceg

Vlastoručni potpis