

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Matea Ferenčak

**EKSTRAKCIJA FARMACEUTIKA IZ SEDIMENTA  
MUĆKANJEM**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: dr. sc. Danijela Ašperger, doc.

Članovi ispitnog povjerenstva: dr. sc. Danijela Ašperger, doc.

dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović, doc.

dr. sc. Irena Škorić, izv. prof.

Zagreb, rujan 2012.

*Ovaj završni rad je izrađen na Zavodu za analitičku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilišta u Zagrebu.*

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Danijeli Ašperger na pomoći i trudu koji mi je pružila tokom izrade ovog rada.*

*Također se zahvaljujem tehničarkama Zavoda za analitičku kemiju Slavici Kos i Tanji Ivančić na pruženoj pomoći tokom izrade eksperimentalnog dijela ovog rada.*

*Zahvaljujem se svojim roditeljima koji su mi bili velika podrška tokom studiranja i što su mi omogućili školovanje.*

# SADRŽAJ:

str.

## SAŽETAK

## ABSTRACT

<b>1. UVOD</b>	1
<b>2. OPĆI DIO</b>	4
2.1. OPĆENITO O FARMACEUTICIMA	5
2.1.1. <i>Antihelmintici</i>	7
2.1.1.1. Albendazol	7
2.1.1.2. Febantel	7
2.1.1.3. Levamisol	8
2.1.2. <i>Lokalni anestetici</i>	8
2.1.2.1. Lidokain	8
2.1.2.2. Prokain	9
2.1.3. <i>Antibiotici</i>	9
2.1.3.1. Tilozin	10
2.1.4. <i>Glukokortikoidi</i>	10
2.1.4.1. Deksametazon	11
2.1.4.2. Hidrokortizon	11
2.2. PRIPREMA ČVRSTOG UZORKA ZA KROMATOGRAFSKU ANALIZU	12
2.2.1. <i>Klasične metode ekstrakcije</i>	13
2.2.1.1. Ekstrakcija čvrsto-tekuće	13
2.2.2. <i>Moderne metode ekstrakcije</i>	15
2.2.2.1. Automatizirana Soxhlet ekstrakcija	15
2.2.2.2. Ekstrakcija superkritičnim fluidom	15
2.2.2.3. Ekstrakcija mikrovalovima	16
2.2.2.4. Ubrzana ili poboljšana ekstrakcija otapalom	17
2.3. KROMATOGRAFSKA ANALIZA FARMACEUTIKA	18
2.3.1. <i>Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)</i>	18
2.3.1.1. Princip rada tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti	18
2.3.1.2. Detektori	19
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b>	21
3.1. MATERIJALI	22
3.1.1. <i>Sediment [38]</i>	22
3.1.2. <i>Kemikalije</i>	24
3.1.3. <i>Farmaceutici</i>	24
3.2. INSTRUMENTI, UREĐAJI I PRIBOR	27
3.2.1. <i>Analitička vaga</i>	27
3.2.2. <i>pH-metar</i>	27
3.2.3. <i>Mučkalica</i>	28
3.2.4. <i>Filtriranje</i>	28
3.2.5. <i>UV/Vid spektrofotometar</i>	29
3.2.6. <i>Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)</i>	29
3.3. METODE RADA	30
3.3.1. <i>Priprema standardne otopine farmaceutika</i>	30
3.3.2. <i>Priprema sedimenta sa standardnim dodatkom farmaceutika</i>	30
3.3.3. <i>Ekstrakcija mućkanjem</i>	30
3.3.4. <i>Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti</i>	31
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b>	32
4.1. KROMATOGRAFSKO ODREĐIVANJE FARMACEUTIKA	33
4.2. OPTIMIZACIJA EKSTRAKCIJE MUĆKANJEM	36
4.2.1. <i>Izbor optimalne mase uzorka za ekstrakciju</i>	36
4.2.2. <i>Izbor optimalnog otapala te vremena kontakta između otapala i sedimenta</i>	37
4.2.3. <i>Izbor optimalnog vremena trajanja ekstrakcije, broja okretaja te temperature ekstrakcije</i>	40
<b>5. ZAKLJUČAK</b>	44
<b>6. LITERATURA</b>	46
<b>7. DODATAK</b>	51
7.1. POPIS SLIKA	52
7.2. POPIS TABLICA	53
7.3. POPIS KRATICA I SIMBOLA	54
<b>8. ŽIVOTOPIS</b>	55

## SAŽETAK

Farmaceutici se koriste u ljudskoj i veterinarskoj medicini pa se zbog toga mogu naći u okolišu. U zadnje vrijeme problem farmaceutika se sve više spominje jer oni mogu završiti u vodi koju mi koristimo za piće, a još se uvijek ne zna kako oni utječu na čovjekovo zdravlje pri takvom unosu u tijelo. Farmaceutici se mogu identificirati različitim metodama, a jedna od tih metoda je i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti. Farmaceutici korišteni pri izradi ovog rada su: albendazol, deksametazon, febantel, hidrokortizon, levamisol, lidokain, prokain i tilozin.

Cilj ovog rada je bio optimiranje uvjeta ekstrakcije mućkanjem kako bi dobili što bolja iskorištenja ekstrakcije, a da ne dođe do ekstrakcije drugih tvari koje bi mogle ometati kromatografsko određivanje ekstrahiranih farmaceutika iz sedimenta. Da bi se postigao cilj bilo je potrebno mijenjati ekstrakcijska otapala, vrijeme trajanja ekstrakcije, temperaturu pri kojoj se odvija ekstrakcija, vrijeme kontakta između otapala i sedimenta te brzinu ekstrakcije, tj. broj okretaja u minuti.

U ovom radu nisu postignuta maksimalna (100%) iskorištenja ekstrakcije otapalima metodom mućkanja.

**Ključne riječi:** *farmaceutici, sediment, ekstrakcija mućkanjem, tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti*

## **ABSTRACT**

### ***EXTRACTION OF PHARMACEUTICALS FROM SEDIMENT BY AGITATION***

Pharmaceuticals are used in human and veterinary medicine and therefore can easily be found in the environment. Recently, the problem of pharmaceuticals is increasingly mentioned as they can end up in the water that we use for drinking, and still does not know how they affect on human health. Pharmaceuticals can be identified by different methods, and one of these methods is the high performance liquid chromatography. Pharmaceuticals investigated in this study are: albendazole, dexamethasone, febater, hydrocortisone, levamisole, lidocaine, procaine and tylosine.

The aim of this study was to optimize the extraction conditions by agitation to get the best possible recoveries, and to prevent the extraction of other substances that could interfere with the chromatographic determination of pharmaceuticals extracted from the sediment. In that purposes were changed solvent for extraction, time of extraction, the temperature of incubator shaker, the contact time between the solvent and sediment, and finally speed of extraction (rpm).

In this work was not achieved the optimal extraction with 100% recovery for any investigated pharmaceuticals from sediment.

**Key words:** *pharmaceuticals, sediment, extraction by agitation,  
high performance liquid chromatography*

## ***1. UVOD***

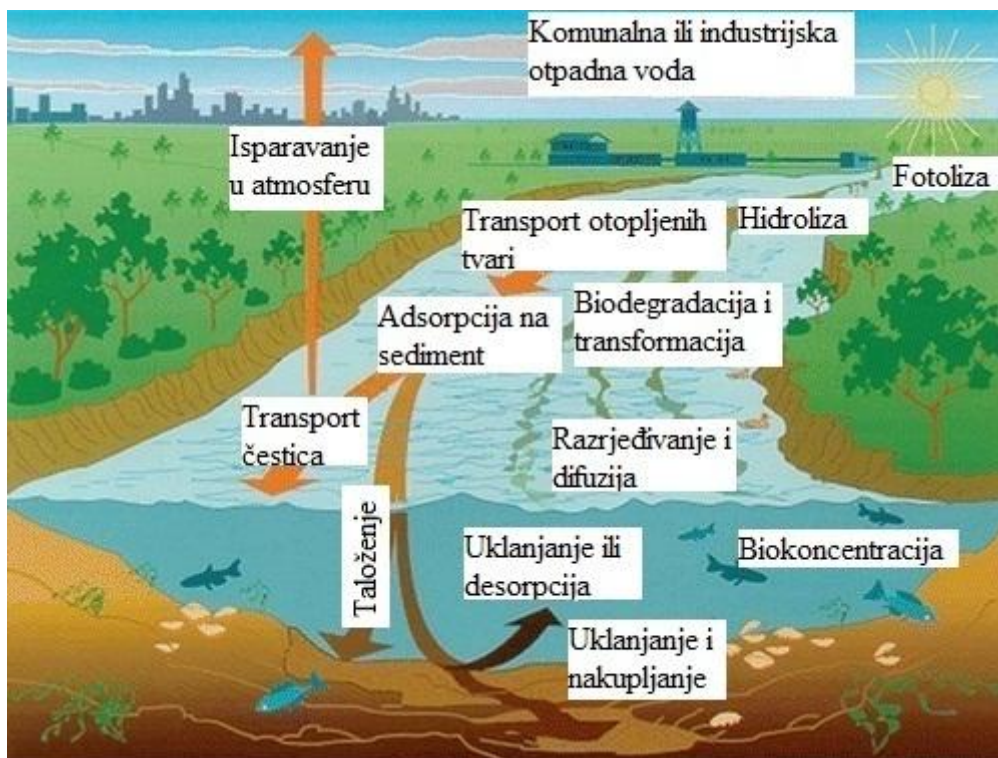
Lijekovi, njihovi metaboliti i razgradni produkti sve se češće detektiraju u okolišu. Potrošnja lijekova za ljudsku i veterinarsku primjenu u uzlaznoj je putanji, kao i njihovo otpuštanje u okoliš. Ostaci lijekova su u malim koncentracijama detektirani u otpadnim vodama, površinskim vodama, podzemnim vodama, morima i u tlu u velikom broju zemalja. Prisutnost lijekova u okolišu prvi put su 1976. godine objavili Garrison i sur. [1], koji su u Sjedinjenim Američkim Državama u otpadnim vodama nakon pročišćavanja detektirali klofibričnu kiselinu u koncentracijama od 0,8 do 2  $\mu\text{g/L}$ . Godine 1985. utvrđena je prisutnost lijekova u riječnim vodama u Velikoj Britaniji [2], a 1986. godine ibuprofen i naproksen detektirani su u otpadnim vodama u Kanadi [3]. Prisutnost lijekova u okolišu sve je češće predmet znanstvenog interesa i istraživanja, što rezultira većim brojem izvješća o detekciji lijekova u raznim uzorcima iz okoliša [4, 5, 6]. Tome je u velikoj mjeri pridonio i razvoj naprednijih i osjetljivijih metoda analize, kao što su tekućinska kromatografija i spektrometrija masa [7, 8]. Te metode omogućuju detekciju polarnih organskih tvari u vrlo niskim koncentracijama. Među najrasprostranjenijim lijekovima u okolišu su diklofenak [9], klofibrična kiselina, acetaminofen, ibuprofen, acetilsalicilna kiselina, karbamazepin, atorvastatin, gemfibrozil, fluoksetin i  $17\beta$ -etinilestradiol [10].

U novijim istraživanjima proučavaju se ostaci lijekova u okolišu, njihova toksičnost i biološko djelovanje na osnovne biološke funkcije, kao što je reprodukcija. Utjecaju lijekova iz okoliša naročito su podložni vodeni organizmi, koji su tijekom cijelog života putem otpadnih voda izloženi njihovom djelovanju. Jedan od većih problema je i razvoj rezistencije bakterija u okolišu na antibiotike kojima su sve više izloženi.

Mnogi lijekovi u ljudskom tijelu prolaze proces biotransformacije, što rezultira oslobađanjem znatnih količina različitih metabolita. Ti metaboliti mogu se dalje transformirati u postupku pročišćavanja otpadnih voda [11]. Produkti razgradnje lijekova mogu imati sličnu ili čak veću toksičnost od izvorne tvari. Nakon primjene lijekovi dospijevaju u okoliš izlučivanjem, bilo u nepromijenjenom obliku ili u obliku metabolita. Također znatna količina lijekova u okolišu potječe od nepravilnog zbrinjavanja neupotrijebljenih lijekova. U najvećoj mjeri lijekovi nakon primjene i izlučivanja, kao i neupotrijebljeni lijekovi dospiju u okoliš putem komunalnih otpadnih voda (Slika 1). Otpadne vode iz bolnica i tvornica lijekova sadržavaju značajne količine lijekova. Zbog nepotpunog izdvajanja sustavom pročišćavanja otpadnih voda ostatci mnogih toksičnih organskih tvari, uključujući lijekove i njihove produkte razgradnje kontaminiraju rijeke, jezera, a rjeđe podzemne vode i vodu za piće, a tako i sediment [6].



Cilj ovog rada je optimirati metodu ekstrakcije mućkanjem s otapalima kao vrlo jednostavne metode pripreme uzorka radi određivanja farmaceutika iz sedimenta kromatografskom metodom.



Slika 1. Tok farmaceutika u prirodi [12]

## ***2. OPĆI DIO***

## **2.1. Općenito o farmaceuticima**

Farmaceutici ili lijekovi se mogu široko definirati kao bilo koja kemijska tvar namijenjena za uporabu u medicinskoj dijagnostici, liječenju ili sprječavanju bolesti.

Farmaceutici se mogu podijeliti na različite načine kao što su kemijska svojstva, način ili put primjene, biološki sustav na koji utječe ili prema terapijskom učinku. Podjela koja se najčešće koristi je anatomsko-terapijsko-kemijska klasifikacija koju je napravila Svjetska zdravstvena organizacija koja je prikazana u Tablici 1 [13], a u nastavku će biti dan pregled farmaceutika po grupama koji su ispitivani u ovom radu.

**Tablica 1.** Podjela farmaceutika prema anatomsko-terapijsko-kemijskoj (ATK) klasifikaciji lijekova Svjetske zdravstvene organizacije [14]

<b>Lijekovi s djelovanjem na probavni sustav i metabolizam (A)</b>	Stomatološki lijekovi • Antacidi • Lijekovi za liječenje gastrointestinalnih poremećaja • Antiemetici i lijekovi za suzbijanje mučnine • Lijekovi za liječenje žuči i jetre • Laksativi • Antidiaroiici i pripravci s antiinflamatornim i antiinfektivnim djelovanjem • Anoreksici • Digestivi • Antidijabetici • Vitamini • Minerali
<b>Lijekovi s djelovanjem na krv i krvotvorne organe(B)</b>	Antitrombotici • Antihemoragici • Antianemici • Zamjene za krv i perfuzijske otopine
<b>Lijekovi s djelovanjem na kardiovaskularni sustav (C)</b>	Lijekovi koji djeluju na srce • Antihipertenzivi • Diuretici • Periferni vazodilatatori • Vazoprotektivi • Blokatori beta-adrenergičkih receptora • Blokatori kalcijevih kanala • Lijekovi koji djeluju na renin-angiotenzinski sustav • Hipolipemici
<b>Lijekovi s djelovanjem na kožu (D)</b>	Antimikotici • Emolijenti i protektivi • Lijekovi za liječenje rana i ulkusa • Antipruritics, uključujući antihistaminike, anestetike i sl. • Antipsorijatici • Antibiotici i kemoterapeutici za primjenu u liječenju kožnih bolesti • Kortikosteroidi za primjenu u liječenju kožnih bolesti • Antiseptici i dezinficijensi • Lijekovi za liječenje akni • Ljekoviti oblozi
<b>Lijekovi s djelovanjem na urogenitalni sustav i spolni hormoni (G)</b>	Ginekološki antiinfektivni i antiseptici • Uterotonici • Spolni hormoni i ostali pripravci koji djeluju na spolni sustav • Lijekovi koji djeluju na mokraćni sustav
<b>Lijekovi s djelovanjem na sustav žlijezda s unutarnjim lučenjem (izuzev spolnih hormona) (H)</b>	Hipofizni, hipotalamički hormoni i analozi • Kortikosteroidi za sustavnu primjenu • Lijekovi za liječenje bolesti štitnjače • Hormoni gušterače • Lijekovi s utjecajem na izmijenu kalcija
<b>Lijekovi za liječenje sustavnih infekcija (izuzev infekcija uzrokovanih parazitima) (J)</b>	Lijekovi za liječenje sustavnih infekcija (tetraciklini, beta-laktamski antimikrobioci, penicilini, sulfonamidi i trimetoprim, makrolidi, linkozamidi i streptogramini, kinolonski antimikrobioci) • Antimikotici za sustavnu upotrebu • Lijekovi za liječenje infekcija mikobakterijama • Lijekovi za liječenje sustavnih virusnih infekcija • Imunoserumi i imunoglobulini • Cjepiva
<b>Lijekovi za liječenje zloćudnih bolesti i imunomodulatori (L)</b>	Antineoplastici • Endokrina terapija • Imunostimulansi • Imunosupresivi
<b>Lijekovi s djelovanjem na koštano-mišićni sustav (M)</b>	Lijekovi s protuupalnim i antireumatskim djelovanjem • Lokalni pripravci protiv boli u zglobovima i mišićima • Mišićni relaksansi • Lijekovi za liječenje uloga (gihta) • Lijekovi za liječenje bolesti kostiju
<b>Lijekovi s djelovanjem na živčani sustav (N)</b>	Anestetici • Analgetici • Antiepileptici • Antiparkinsonici • Psiholeptici • Psihoanaleptici
<b>Lijekovi za liječenje infekcija uzrokovanih parazitima (P)</b>	Antiprotozoici • Anthelmintici • Ektoparaziticidi, uključujući skabicide, insekticidi i repelenti
<b>Lijekovi s djelovanjem na respiratorni sustav (R)</b>	Lijekovi za liječenje bolesti nosa • Lijekovi za liječenje bolesti grla • Lijekovi za liječenje opstruktivnih bolesti dišnih putova • Lijekovi za liječenje kašlja i prehlade • Antihistaminici za sustavnu primjenu
<b>Lijekovi s djelovanjem na osjetila (S)</b>	Oftalmici • Otologici • Lijekovi za liječenje bolesti oka i bolesti uha
<b>Različito (V)</b>	Alergeni • Ostali terapijski pripravci • Dijagnostička sredstva • Osnovne hranjive tvari • Ostali netereapijski proizvodi • Kontrastna sredstva • Terapijska radiofarmaceutska sredstva

### 2.1.1. Antihelmintici

Antihelmintici su lijekovi koji se koriste za uklanjanje parazita isključivo iz probavnog trakta. Međutim postoji nekoliko vrsta crva koji su u stanju prodrijeti i u druga tkiva. Postoje dvije vrste antihelmintika: vermicidi, lijekovi koji isključivo ubijaju crve i vermifugidi, lijekovi koji izbacuju crve iz probavnog trakta. Kod čovjeka se najčešće mogu naći crvi iz koljena: a) *Nemathelminthes* (oblići) i b) *Platyhelminthes* (plošnjaci) [15]. Antihelmintici analizirani u ovom radu su: albendazol, febantel i levamisol.

#### 2.1.1.1. Albendazol

Albendazol spada u grupu benzimidazola koji su otkriveni 1960. [15]. Netopljiv je u vodi, a topljiv u alkoholu. Koristi se u ljudskoj i veterinarskoj medicini [16]. On ometa normalni metabolizam parazita i selektivno sprječava ugrađivanje glukoze u sva tri razvojna stupnja. Posljedica toga je potrošnja endogenog glikogena u samim parazitima što dovodi do smanjenog stvaranja adenozin-trifosfata (ATP). Iz probavnog sustava apsorbira se manje od 5% albendazola. Apsorbirani lijek se u jetri metabolizira u albendazol-sulfoksid i veže za serumske bjelančevine. Vrijeme polurazgradnje lijeka iznosi 8,5 sati. Izlučuje se mokraćom [17].

#### 2.1.1.2. Febantel

Febantel spada u grupu fenilgvanidinskih antihelmintika. Strukturno je febantel povezan sa benzimidazolima. Netopljiv je u vodi, a topljiv u alkoholu. *In vivo* se djelomično metabolizira u fenbendazol i oksibendazol. Smatra se da način djelovanja febantela inhibira fumarat reduktazu u crvima pa tako blokira unos glukoze. Vjeruje se da većina djelovanja proizlazi iz njegovih aktivnih metabolita fenbendazola i oksifenbendazola. Koristi se isključivo u veterinarskoj medicini [16].

### 2.1.1.3. Levamisol

Levamisol je komercijalno dostupan u obliku dviju soli kao fosfat i kao hidroklorid. Topljiv je u vodi. Levamisol stimulira parasimpatičke i simpatičke ganglije na osjetljivost crva. U većim koncentracijama levamisol ometa metabolizam ugljikohidrata kod nematoda tako da blokira redukciju fumarata i oksidaciju sukcinata. Konačni rezultat je paralizirajuće djelovanje na crva koji je potom živ uklonjen.

Mehanizam imunostimulirajućeg djelovanja levamisola nije još dobro razjašnjen. Vjeruje se da obnavlja stanice koje posredno imaju imunološku funkciju kod perifernih T-limfocita i potiče fagocitozu monocitima. Njegova imunostimulirajuća djelovanja čine se izrazitija kod životinja čiji je imunitet ugrožen. Koristi se u ljudskoj i veterinarskoj medicini [16].

### 2.1.2. Lokalni anestetici

Lokalni anestetici se koriste za ukidanje osjećaja boli na ograničenim područjima tijela i za manje operacije kada gubitak svijesti nije poželjan. Vjeruje se da lokalni anestetici inače vrše svoje djelovanje tako da blokiraju živčanu provodnost nakon vezanja na različita mjesta natrijevih-kanala na posebno podražene membrane. Na taj način prolazak natrija kroz pore se značajno reducira i stoga uzrokuje izravno ometanje akcijskih potencijala [15]. Lokalni anestetici analizirani u ovom radu su: lidokain i prokain.

#### 2.1.2.1. Lidokain

Lidokain je lokalni anestetik i antiaritmik [18]. Spada u I.b skupinu antiaritmika prema Vaughan-Williamsovoj podjeli [19]. Lidokain je prvo bio sintetiziran pod imenom Xylokain i sintetizirao ga je švedski kemičar Nils Löfgren 1943. [20]. Jako je topljiv u vodi i alkoholu [16]. Njegovo dvojako djelovanje proizlazi baš iz činjenice da je svestrani blokator natrijevih kanala – blokadom natrijevih kanala na površini živaca on djeluje kao lokalni anestetik, a blokadom natrijevih kanala u srcu on se iskazuje kao antiaritmik. Hoće li lidokain djelovati kao lokalni anestetik ili kao antiaritmik – ovisi o načinu primjene. Primjerice, kada se lidokain

daje lokalno, u tkivo ili pored živaca, pogotovo u kombinaciji s adrenalinom on djeluje kao lokalni anestetik. Međutim, ukoliko se primjeni intravenski tada djeluje kao antiaritmik [18]. Koristi se u ljudskoj i veterinarskoj medicini. U veterinarskoj medicini se koristi samo kao anestetik [16].

#### 2.1.2.2. Prokain

Prokain je lokalni anestetik koji spada u grupu amino-estera. Topljiv je u vodi. Prvenstveno se koristi za smanjenje boli intramuskularnih injekcija penicilina i u stomatologiji. Djeluje kao blokator natrijevih kanala. Metabolizira se u plazmi pomoću enzima pseudokinolinesteraza hidrolizom u paraaminobenzojevu kiselinu, koja se zatim izlučuje urinom [21].

### 2.1.3. Antibiotici

Antibiotici su lijekovi koji uništavaju bakterije ili zaustavljaju njihovo razmnožavanje. Premda danas postoji niz drugačijih naziva, poput antibakterijski i antimikrobni, sve su to antibiotici s ponešto drugačijim djelovanjima i strukturama. Antibiotici djeluju isključivo na bakterije na način da djeluju na njihovu strukturu i rast. Različiti antibiotici djeluju na pojedine dijelove same bakterije kao što su: sinteza staničnog zida, sinteza proteina i DNK sinteza ili replikacija. Uništavanjem ili usporavanjem razmnožavanja antibiotici potiču imunološki sustav organizma na obranu od infekcije. No, nažalost antibiotici ponekad nisu dovoljno snažni te se bakterije nastavljaju množiti, što može dovesti do opasnih posljedica [22]. Antibiotik analiziran u ovom radu je tilozin, a on spada u grupu makrolidnih antibiotika. Makrolidni antibiotici imaju strukturu koja se sastoji od: makrocikličko laktonskog prstena (14-16 C) i pridružene 2 molekule šećera. Prvi otkriven je bio eritromicin. Oni su proizvodi vrste *Streptomyces*. Makrolidi selektivno djeluju na bakterijske ribosome vezanjem za podjedinice 50S. U bakterijskom protoplastu ukoče sintezu bjelančevina time što se upliću u translokaciju peptidil tRNK na ribosomu (produženje peptida). Učinkoviti su na mikroorganizme u fazi dijeljenja. Makrolidi djeluju bakteriostatski i baktericidno (ovisno o koncentraciji). Biotransformiraju se uglavnom opsežno u jetri. Makrolidni antibiotici i njihovi

metaboliti se većinom izlučuju putem žuči (više od 60%) i često podliježu enterohepatičnom kruženju; mokraćom se izlučuje manje od 10% [23].

#### 2.1.3.1. Tilozin

Tilozin ima široki spektar djelovanja na gram-pozitivne bakterije i ograničeno djelovanje na gram-negativne bakterije. U prirodi se može naći kao produkt fermentacije bakterija *Streptomyces fradiae*. Koristi se isključivo u veterinarskoj medicini za liječenje bakterijskih infekcija. Tilozin ima bakteriostatski efekt na osjetljive organizme jer uzrokuje inhibiciju sinteze proteina tako da se veže za 50S podjedinicu ribosoma bakterije. Tilozin se koristi kao promotor rasta u proizvodnji životinja za ljudsku prehranu [24]. Lagano je topljiv u vodi, i topljiv je u alkoholu [16].

#### 2.1.4. Glukokortikoidi

Glukokortikoidi su grupa hormona koji spadaju u adenokortikalne hormone. Adenokortikalni hormoni su hormoni koje luči kora nadbubrežne žlijezde [15]. Njihova glavna uloga je djelovanje na metabolizam glukoze, proteina i masti, ali i dugoročno prilagođavanje organizma na stresne situacije [25]. Glavno djelovanje leži u njihovom antiupalnom i imunosupresijskom učinku; uglavnom provjeravaju i sprječavaju otpuštanje litičkih enzima domaćina koji uzrokuju oštećenje tkiva tijekom svih upala i koji na kraju mogu dovesti do povećanja broja leukocita; smanjuju fagocitozu koja se odvija pomoću makrofaga; smanjuju stvaranje lipida eikozanoida i prostaglandina pomoću inhibicije proizvodnje citokina koji specifično pobuđuju ciklooksigenazu-II u upalnim stanicama; nakon što su dobili pristup preko prožimanja stanične membrane, ključno se kombiniraju s visoko specifičnim citosolnim glukokortikoidnim receptorom koji je neaktivan i koji je vezan za određene proteine koji ih sprječavaju da dođu do jezgre ili da se odmah vežu za DNK [15].

Glukokortikoidi analizirani u radu su: deksametazon i hidrokortizon.



#### 2.1.4.1. Deksametazon

Deksametazon se koristi u liječenju alergija i upala [15]. Koristi se za liječenje mnogih upalnih i autoimunih stanja kao što su reumatoidni artritis i bronhospazam. Koristan je i kod suzbijanja alergičnog anafilaktičkog šoka ako je dan u visokoj dozi. Daje se pacijentima koji su bili podvrgnuti kemoterapiji radi sprječavanja nekih nuspojava antitumorske terapije. Koristi se u liječenju visinske bolesti, ali i kod edema pluća. Osim u ljudskoj medicini deksametazon se koristi i u veterinarskoj medicini [26]. Netopljiv je u vodi i teško topljiv u alkoholu [16].

#### 2.1.4.2. Hidrokortizon

Hidrokortizon je također poznat pod imenom kortizol. On se otpušta kao odgovor na stres i kad je koncentracija glukokortikoida u krvi niska. Njegova primarna funkcija je povećati krvni šećer kroz glukoneogenezu; kontrolira imunološki sustav i pomaže u metabolizmu masti, proteina i ugljikohidrata. Hidrokortizon ima protuupalno djelovanje, reducira izlučivanje histamina i stabilizira membrane lizosoma. Stabilizacija membrana lizosoma sprječava njihovo puknuće i time se sprječava oštećenje zdravih tkiva. Koristi se isključivo u ljudskoj medicini [27]. Netopljiv je u vodi i teško topljiv u alkoholu [16].

## 2.2. Priprema čvrstog uzorka za kromatografsku analizu

Uzorkovanje i priprema uzorka započinje procesom na mjestu uzorkovanja. Pravilno uzorkovanje uzorka, transport reprezentativnog uzorka od mjesta uzorkovanja do laboratorija, pravilno poduzorkivanje uzorka u laboratoriju, metoda pripreme uzorka za analizu ima veliki utjecaj na točnost i pouzdanost rezultata analize. U nastavku je dan opis pripreme čvrstog uzorka. Prije pripreme čvrsti uzorak trebamo usitniti. To se najčešće radi fizikalnim metodama, a ne kemijskim. Razlozi usitnjavanja uzorka su ti da su fino usitnjeni uzorci homogeni tako da se poduzorkovanje može napraviti s većom preciznošću i točnošću, također usitnjeni uzorci lakše se mogu otopiti i ispitivani analit bolje izlučiti zbog velikog omjera površine i volumena. Postoji mnogo metoda za usitnjavanje čvrstih uzoraka, a najčešće se koristi mljevenje.

Uzorci su često vlažni i mokri pa ih prije analize treba posušiti. Količina vlage u uzorku može utjecati na kvantitativnu analizu uzorka. Najčešća metoda sušenja je zagrijavanje uzorka u sušioniku do konstantne mase kod poznate i definirane temperature.

U mnogim analizama je poželjno rukovati uzorcima u tekućem stanju. Međutim, ima slučajeva gdje ne želimo da se primarni uzorak u potpunosti otopi jer nas zanimaju samo komponente koje su topljive. Na primjer masnoće u hrani, polimerni aditivi i pesticidi u tlu. U tim slučajevima želimo selektivno ukloniti jednu ili više komponenti uzorka, ostavljajući nakon toga netopivu frakciju. Ta frakcija je uklonjena dekantiranjem ili filtracijom, a eluat koji sadrži željene komponente se dalje tretira prije analize ako je potrebno. U nastavku su dane neke od najčešćih metoda koje se koriste za ekstrakciju topljivih organskih komponenata iz netopljive čvrste matice [28].

## 2.2.1. Klasične metode ekstrakcije

Ekstrakcija analita iz matrice uzorka zahtjeva pravu kombinaciju otapala i metode. Mnoge klasične metode postoje već više od 100 godina tako da su ih mnogi znanstvenici prihvatili. Većina klasičnih metoda koristi organska otapala često u obilatim količinama, iako se u zadnje vrijeme pokušava prilagoditi sustave da se smanji potreba za velikim količinama otapala i uzorka [28].

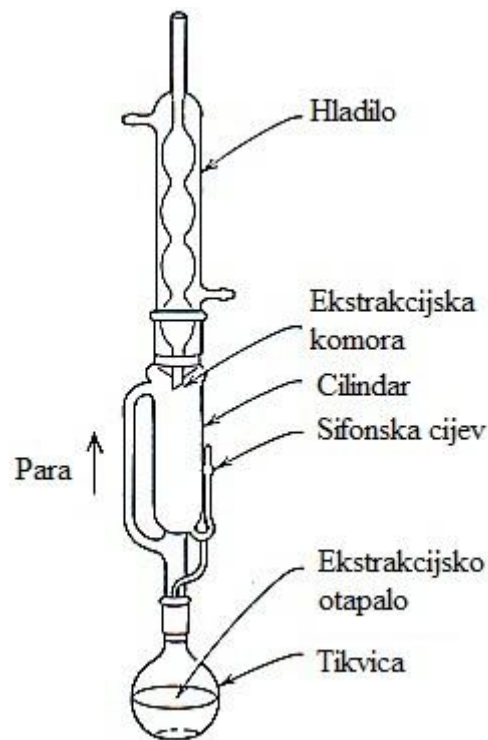
### 2.2.1.1. Ekstrakcija čvrsto-tekuće

Ekstrakcija čvrsto-tekuće se može provoditi na razne načine (metoda mućkanjem, sonikacija i Soxhlet ekstrakcija). Najpoznatija metoda je metoda mućkanjem. Ta je metoda korištena u ekstrakciji farmaceutika iz sedimenta u ovom radu. Metoda mućkanjem uključuje jedino dodatak otapala (npr. organskog otapala za organske komponente i razrijeđenu kiselinu ili bazu za anorganske komponente) uzorku i zatim mućkanjem omogućava analitu da se otopi u tekućini koja ga okružuje sve dok je to u potpunosti moguće. Ova metoda je dobra dok je analit jako topljiv u otapalu kojim se radi ekstrakcija i dok je uzorak veoma porozan. Da bi imali učinkovit kontakt čvrsto-tekuće, uzorci moraju biti dobro usitnjeni. Zagrijavanje ili refluksiranje uzorka u vrućem otapalu može se koristiti da bi se ubrzao proces ekstrakcije. Metoda mućkanja se može raditi u serijama što povećava ukupnu propusnost uzorka. Jednom kad je analit uklonjen, netopiv sadržaj je uklonjen filtracijom ili centrifugiranjem.

Sonikacija ili ultrazvučna ekstrakcija otapalima može se primijeniti kada želimo bržu i potpuniju ekstrakciju. Ultrazvuk dopušta bolji kontakt između čvrste i tekuće faze i blago grijanje koje je rezultat ultrazvuka, i pomaže procesu ekstrakcije. U ovoj metodi preporučena su različita ekstrakcijska otapala i različiti uvjeti rada ultrazvučne kupelji što ovisi o tipu zagađivala i njegove koncentracije u čvrstoj matici.

Najčešće korištena metoda ekstrakcije je Soxhlet ekstrakcija. Čvrsti uzorak se stavi u Soxhletov cilindar koji je napravljen od čvrstog filter papira. Cilindar se zatim stavi u Soxhletovu aparaturu, gdje se refluksirano ekstrakcijsko otapalo kondenzira u cilindar i ispire topljive komponente. Soxhlet aparatura je dizajnirana tako da kad se komora koja drži cilindar napuni do određenog volumena otapalo koje sadrži ekstrahirane komponente ispušta se pomoću sifonske cijevi u tikvicu koja sadrži otapalo i proces se ponavlja sve dok se analit uspješno ukloni iz čvrstog uzorka. Soxhlet aparatura je prikazana na Slici 2. Nedostaci

Soxhlet ekstrakcije su: dugotrajna je (18 do 24 sata); potrebna je veća količina otapala za ekstrakciju; zbog toga što se otopljeni analit ispušta u tikvicu s otapalom, analit mora biti stabilan na temperaturi vrenja otapala i za svaki uzorak je potreban poseban ekstraktor. Prednosti Soxhlet ekstrakcije su: mogu se koristiti male količine uzorka (nekoliko mg) i jeftinija je u odnosu na neke modernije metode ekstrakcije [28].



**Slika 2.** Soxhlet aparatura [29]

## 2.2.2. Moderne metode ekstrakcije

Mnogo godina analitičari su bili zadovoljni klasičnim metodama ekstrakcije. No kako su trebali povećati produktivnost, ubrzati analize, i kako se povećavala automatizacija tako su se razvijale nove metode ekstrakcije. Neke od tih metoda su automatizirale klasične metode i tako ih ubrzale i olakšale njihovo korištenje. Većinom su te metode skuplje pri početnoj kupnji, ali su jeftinije što se tiče troškova po jednom uzorku [28].

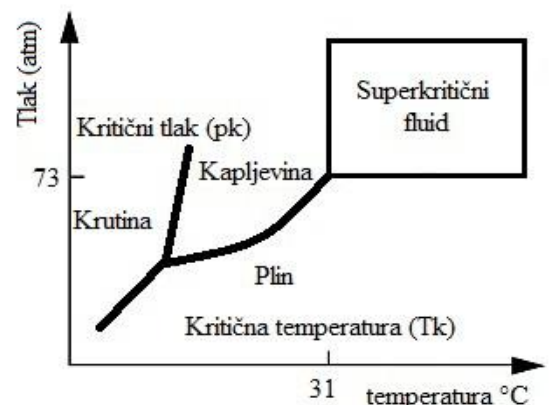
### 2.2.2.1. Automatizirana Soxhlet ekstrakcija

Moderni Soxhlet ekstraktori su ubrzali proces ekstrakcije i smanjili količinu potrebnog otapala, ali su zadržali princip Soxhlet ekstrakcije. Kod ovih ekstraktora uzorak se uranja u kipuće otapalo, a nakon toga se uzorak vadi iz otapala i smješta iznad otapala. Zatim se skuplja destilat koji sadrži ekstrahirani materijal. Kod ove ekstrakcije može se istodobno pripremiti četiri do šest uzoraka. Automatizirana Soxhlet ekstrakcija se koristi za ekstrakciju: ukupnih masti u mesu; pesticida; polikloriranih bifenila i policikličkih aromatskih ugljikovodika u tlu i biljkama; ulja i masnoća u tlu, mulju i vodi; aditiva u plastici i gumi; pesticida u zobenoj kaši; i masti u čipsu [28, 30].

### 2.2.2.2. Ekstrakcija superkritičnim fluidom

Superkritični fluid je bilo koja tvar iznad svoje kritične temperature i kritičnog tlaka. On ima jedinstvena svojstva koja se razlikuju i od plinova i od tekućina. Superkritični fluid ima svojstvo plina da prodire u svaku poru kao i svojstvo tekućine da otapa materijale [31]. Ispod te kritične točke tvar se vraća u plin ili tekućinu. To ponašanje se vidi na faznom dijagramu prikazanom na Slici 3 [30].

Ekstrakcija superkritičnim fluidom se radi tako da se uzorak stavi u poroznu posudu i zatim superkritični fluid (kao što je CO<sub>2</sub>) prolazi kroz uzorak. Nakon dekompresije ekstrahirani analit se nakupio u otapalu ili je zarobljen na adsorbensu, zatim slijedi desorpcija tako da se ispire s otapalom. Ekstrakcija superkritičnim fluidom je



**Slika 3.** Fazni dijagram CO<sub>2</sub> [32]

našla široku primjenu u analizi okoliša, hrane i polimera. U analizi okoliša koristi se za ekstrakciju naftnih ugljikovodika, policikličkih aromatskih ugljikovodika i organskih kloriranih pesticida u tlu i mulju. Kako je superkritični CO<sub>2</sub> odlično otapalo za masti koristi se u prehrambenoj industriji. Farmaceuti su otkrili da je ekstrakcija superkritičnim fluidom korisna za ekstrakciju lijeka iz tableta i tkiva [28].

### 2.2.2.3. Ekstrakcija mikrovalovima

Ekstrakcija mikrovalovima je alternativa uobičajenim ekstrakcijama otapalom. Kemijski spojevi apsorbiraju mikrovalnu energiju približno u omjeru njihovih dielektričnih konstanti, što je veća vrijednost dielektrične konstante veća je apsorpcija mikrovalne energije. Postoje dva granična pristupa ekstrakciji mikrovalovima: primjena otapala koje apsorbira mikrovalove i ima veliku dielektričnu konstantu i primjena otapala koje ne apsorbira mikrovalove i ima malu dielektričnu konstantu. Kod primjene otapala koje apsorbira mikrovalove uzorak i otapalo su smješteni u zatvorenu posudu. Pod mikrovalnim zračenjem otapalo se zagrije preko točke vrenja i tako omogućuje brzu ekstrakciju analita pod umjerenim tlakom. Uređaj za mikrovalnu ekstrakciju je prikazan na Slici 4. Ovakva primjena mikrovalova se koristi kod ekstrakcije polimernih aditiva, policikličkih aromatskih ugljikovodika, pesticida i polikloriranih bifenila iz tla i sedimenta te vitamina iz hrane.

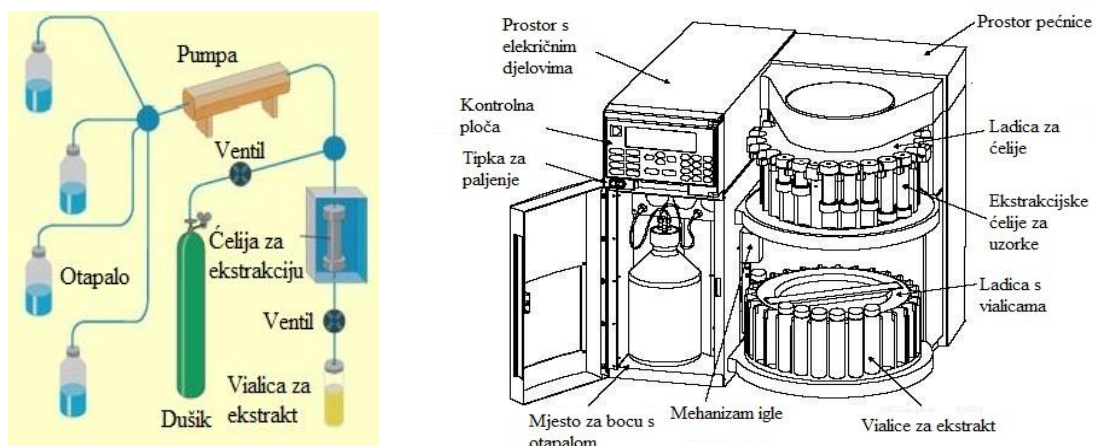
Kod primjene otapala koje ne apsorbira mikrovalove uzorak i otapalo su smješteni u otvorenu posudu. Otapalo ne postaje vruće jer ne apsorbira mikrovalno zračenje. Međutim, uzorci često sadrže vodu ili neke druge spojeve koji imaju veliku konstantu dielektričnosti, oni mogu apsorbirati mikrovalno zračenje i mogu otpustiti zagrijane analite u otapalo koje je hladno i koje je odabrano tako da su oni topivi u njemu. Provodi se pod atmosferskim ili niskim tlakovima. Može se koristiti za analite koji su osjetljivi na toplinu ili su termički labilni. Ovakva primjena mikrovalova koristi se kod ekstrakcije eteričnih ulja iz biljnih materijala [28].



**Slika 4.** Uređaj za mikrovalnu ekstrakciju [33]

#### 2.2.2.4. Ubrzana ili poboljšana ekstrakcija otapalom

Ova metoda je nazvana ubrzana ekstrakcija otapalom od kompanije Dionex Corp. ili poboljšana ekstrakcija otapalom od kompanije Suprex Corp. i koristi organska otapala pod povišenom temperaturom i tlakom. Aparatura se sastoji od: pumpe koja pumpa otapalo u i iz ekstrakcijske posude; ekstrakcijske posude koja ima automatski sustav zatvaranja da bi mogla izdržati stvoreni tlak; pećnice koja zagrijava uzorak; i vialica u koje se skupljaju ekstrakti. Na Slici 5 je shematski prikaz procesa i Dionex ekstraktora. Proces se sastoji od sljedećih koraka: 1) punjenje ćelija za uzorke, 2) uvođenje otapala i održavanje tlaka, 3) zagrijavanje ćelije s uzorkom (pod konstantnim tlakom), 4) statična ekstrakcija, 5) prijenos ekstrakta u zatvorenu vialicu s novim izljevom čvrstog uzorka, 6) čišćenje ćelije dušikom i 7) punjenje idućeg uzorka. Jednom kad je uzorak stavljen u ekstrakcijsku ćeliju cijeli je proces automatiziran i vremenski programiran. Ova ekstrakcija omogućuje automatiziranu pripremu do 24 uzorka. Ekstrakcija je vrlo brza (10 do 20 minuta) i koristi male količine otapala [28].



**Slika 5.** Shematski prikaz procesa ubrzane ekstrakcije otapalom [34] i Dionex ekstraktora [35]

## **2.3. Kromatografska analiza farmaceutika**

Kromatografska analiza farmaceutskih pripravaka može se pratiti čak od 1920.-ih godina. Prije 1955. godine uzlazna papirna kromatografija je bila opisana u farmakopeji Sjedinjenih država za identifikaciju lijekova. U sljedećim izdanjima predstavljene su plinska kromatografija i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti. Danas su kromatografske metode postale jasan izbor među analitičkim metodama [36].

### **2.3.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)**

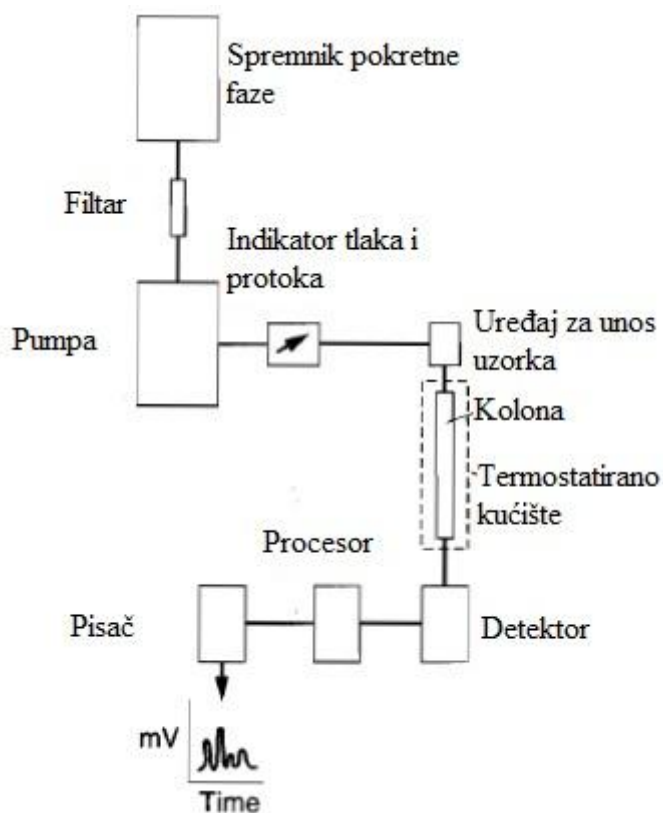
Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) razvijena je u kasnim 1960.-im i 1970.-im. Danas je široko prihvaćena separacijska metoda za analizu uzorka također i za pročišćavanje u različitim područjima uključujući farmaceutsku, biotehnološku, ekološku, polimernu i prehrambenu industriju. HPLC doživljava neprekidan rast u količini prodaje instrumenata i u publikacijama koje opisuju nove i inovativne primjene. Nedavna područja rasta uključuju minijaturizaciju HPLC sistema, analizu nukleinskih kiselina, neoštećenih proteina i probavljenih proteina, analizu ugljikohidrata i kiralne analize. Uzorci moraju biti u tekućem stanju. Najčešće se injektira volumen od 5 do 10  $\mu\text{L}$  uzorka. Vrijeme analize je u rasponu od 5 minuta pa do 2 sata. Ograničenja HPLC metode su: identifikacija spoja može biti otežana ako HPLC nije povezan sa masenom spektrometrijom; razlučivost je teško postići s kompleksnim uzorcima; ne može se analizirati više uzoraka istovremeno; za optimizaciju separacije potrebno je znanje i iskustvo rada na instrumentu; vrijeme analize može biti dosta dugo i često je potrebna priprema uzorka [28].

#### **2.3.1.1. Princip rada tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti**

Kromatografija je metoda u kojoj se otopljene tvari rastapaju u pokretnoj fazi pri različitim brzinama kako prolaze kroz kromatografsku kolonu. Njihovo razdvajanje se zasniva na njihovoj raspodjeli između pokretne i nepokretne faze. Uspješna primjena tekućinske kromatografije za zadani problem zahtijeva pravu kombinaciju iz različitih radnih uvjeta kao što su vrsta punjenja kolone i pokretne faze, duljina i promjer kolone, protok pokretne faze, temperatura kolone i količina uzorka. Kako bi odabrali najbolju kombinaciju kromatografskih uvjeta potrebno je razumjeti razne faktore koji mogu utjecati na razdvajanje. HPLC se sastoji



od osam važnih komponenata: pokretne faze, pumpe, uređaja za unošenje uzorka, kolone, detektora, posude za otpad, računala, integratora ili pisača. Na Slici 6 prikazan je shematski prikaz osnovnog uređaja za tekućinsku kromatografiju [28].

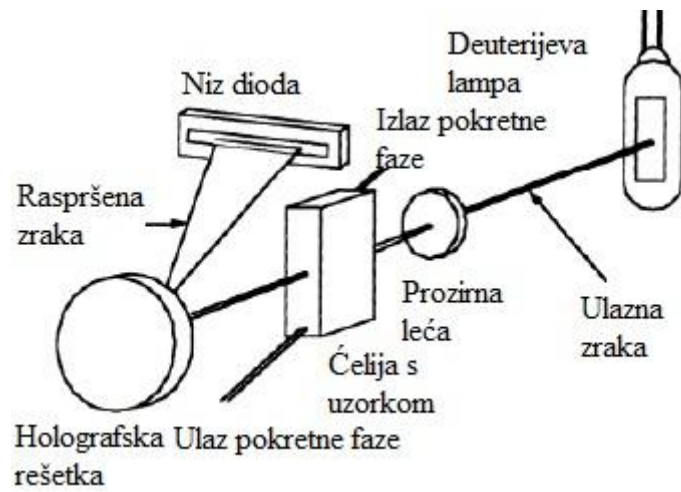


**Slika 6.** Shematski prikaz HPLC-a [28]

### 2.3.1.2. Detektori

Postoje razne vrste detektora koji se koriste u tekućinskoj kromatografiji, kao što su refrakcijski detektori, UV/Vid detektori, fluorescencijski detektori, konduktometrijski detektori i spektrometar masa. U nastavku će biti opis UV/Vid detektora sa naglaskom na detektor sa nizom dioda koji je korišten u izradi ovog rada. UV/Vid detektori se najviše koriste, preko 70%. Postoje tri vrste detektora: sa fiksnom valnom duljinom, sa promjenjivom valnom duljinom i s nizom dioda (DAD) [28]. Detektor s nizom dioda je prikazan na Slici 7. Svijetlo iz deuterijeve lampe je usmjereno sa prozirnom lećom tako da cijeli snop svjetla prolazi kroz detektorsku ćeliju na holografsku rešetku. Na taj način je uzorak podvrgnut svjetlu svih valnih duljina koje dolaze iz lampe. Raspršeno svjetlo od rešetke je zatim fokusirano na niz dioda. Niz može sadržavati stotine dioda i izlaz iz svake diode je redovno odabran računalno i pohranjen na čvrsti disk. Spektar otopljene tvari može se dobiti tako da se

otvori iz memorije izlaz za svaku diodu, tj. da dobijemo krivulju koja povezuje apsorpciju s valnom duljinom. Jedini nedostatak ovog tipa detektora je da je njegova rezolucija ograničena brojem dioda koje se nalaze u nizu dioda [37].



**Slika 7.** Detektor s nizom dioda [37]

### **3. *EKSPERIMENTALNI DIO***

### 3.1. Materijali

#### 3.1.1. Sediment [38]

Optimizacija postupka ekstrakcije mućkanjem farmaceutika iz sedimenta napravljena je na uzorcima sedimenta s mjesta Kupirovo koje se nalazi u Ličko-senjskoj županiji. Mehanički sastav sedimenta, prikazan je u Tablici 2. Sediment je okarakteriziran kao pjeskovita ilovača.

**Tablica 2.** Mehanički sastav sedimenta

% krupni pijesak	% (prah, glina)	% glina	% prah	% sitni pijesak	TEKSTURA TLA
10,2	0,7	0,55	0,15	89,3	pjeskovita ilovača

Higroskopnost sedimenta, određena po *Mitscherlichu*, prikazana je u Tablici 3. Teksturna oznaka sedimenta je pijesak.

**Tablica 3.** Higroskopnost sedimenta po *Mitscherlichu*

uzorak	masa prazne petrijevke/ g	petrijevka + uzorak/ g	petrijevka + uzorak, nakon 24 h sušenja/g	% <i>Hy</i>
sediment <sub>1</sub>	56,4286	61,4291	61,2630	3,43
sediment <sub>2</sub>	36,7344	41,7350	41,5721	3,37
sediment <sub>3</sub>	65,4151	70,4154	70,2475	3,47

Na temelju rezultata prikazanih u Tablici 4 možemo zaključiti da je ispitivani sediment neutralnog do bazičnog karaktera.

**Tablica 4.** pH reakcije sedimenta

UZORAK	pH			KLASIFIKACIJA SEDIMENTA
sediment, KCl, neprosijano	6,93	6,93	6,93	neutralni sediment
sediment, KCl, prosijano	7,06	7,07	7,07	neutralni sediment
sediment, H <sub>2</sub> O, neprosijano	8,19	8,19	8,19	bazični sediment
sediment, H <sub>2</sub> O, prosijano	8,01	8,02	8,02	bazični sediment

Prema rezultatima prikazanim u Tablici 5 zaključujemo da je suma baza sposobnih za zamjenu vrlo visoka, maksimalni adsorpcijski kapacitet za baze također vrlo visok, a stupanj zasićenosti adsorpcijskog kompleksa izrazito visok.

**Tablica 5.** Kapacitet i stanje zasićenosti adsorpcijskog kompleksa

<b>Sediment</b>	<b>Suma baza sposobnih za zamjenu (S), mmol/100 g tla</b>	<b>Maksimalna adsorpcijski kapacitet za baze (T), mmol/100g tla</b>	<b>Stupanj zasićenosti adsorpcijskog kompleksa bazama (V), %</b>
	49,7	50,03	99,34
<b>Klasifikacija</b>	vrlo visoka	vrlo visoka	vrlo visoka

Udio humusa u sedimentu određen je metodom po *Kochmanu*, a prema dobivenim rezultatima udjela humusa od 1,31%, radi se o slabo humoznom sedimentu.

Određivanjem karbonata ustanovljeno je da uzorak sedimenta sadrži značajan udio karbonata, što je i karakteristika sedimenata s pH-vrijednostima većim od 7 (Tablica 6).

**Tablica 6.** Određivanje karbonata

<b>UZORAK</b>	<b>V(NaOH)/ mL</b>	<b>% CaCO<sub>3</sub></b>
<b>sediment</b>	37,00	25,62
<b>slijepa proba</b>	49,80	/

### 3.1.2. Kemikalije

U Tablici 7 navedene su kemikalije koje su korištene u eksperimentalnom djelu rada.

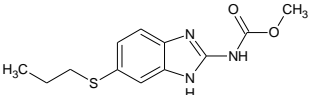
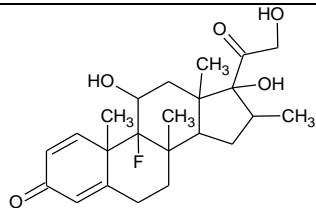
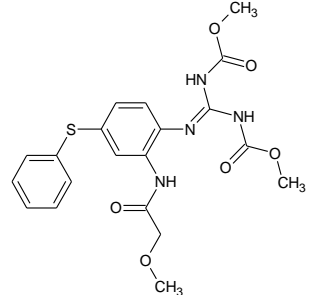
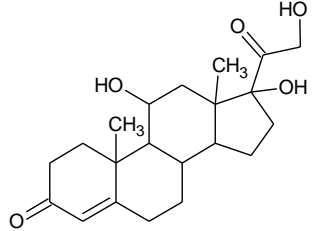
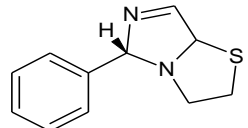
**Tablica 7.** Popis korištenih kemikalija

Naziv	Molekulska formula	Čistoća	Proizvođač
Aceton	$C_3H_6O$	p.a.	T.T.T., Hrvatska
Acetonitril	$CH_3CN$	p.a.	Kemika, Hrvatska
Diklormetan	$CH_2Cl_2$	p.a.	Kemika, Hrvatska
Dioksan	$C_4H_8O_2$	p.a.	Merck, Njemačka
Etanol	$CH_3CH_2OH$	p.a.	Kefo, Slovenija
Komplekson III	$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	TitriVal	Kemika, Hrvatska
Metanol	$CH_3OH$	p.a.	Alkaloid, Makedonija
Metanol	$CH_3OH$	HPLC	J.T. Baker, Nizozemska
<i>n</i> -propanol	$C_3H_8O$	p.a.	Kemika, Hrvatska

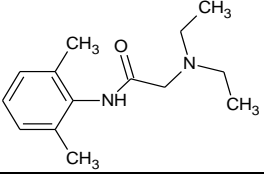
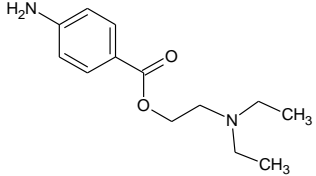
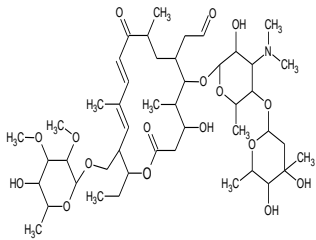
### 3.1.3. Farmaceutici

U Tablici 8 navedene su fizikalno-kemijske karakteristike korištenih farmaceutika u eksperimentalnom djelu rada.

**Tablica 8.** Fizikalno-kemijske karakteristike farmaceutika

Farmaceutik	Ime po IUPAC-u	Skupina	Molekulska struktura	CAS broj	Molekulska masa, g/mol	Proizvođač	Konstante
<b>Albendazol</b> [C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S]	metil [(5-propilsulfanil-3H- benzoimidazol-2-il) amino]format	Antihelmintik		54965-21-8	265,33	Veterina 99%	Log K <sub>ov</sub> = 3,07 S <sub>v</sub> = 46,39 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 2,939 K <sub>oc</sub> = 869,2 L/kg
<b>Deksametazon</b> [C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> FO <sub>5</sub> ]	9-fluor-11β,17,21-trihidroksi-16a-metilpregna-1,4-dien-3,20-dion	Glukokortikoid		50-02-2	392,47	Veterina	Log K <sub>ov</sub> = 1,72 S <sub>v</sub> = 66,5 mg/L Log K <sub>oz</sub> = 7,254 Log K <sub>zv</sub> = -5,534 Log K <sub>oc</sub> = 1,5665
<b>Febantel (mikronizirani)</b> [C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S]	N-{5-(feniltio)-2-[2,3-bis-(metoksikarbonil)-gvanidino]-fenil}-2-metoksiacetamid	Antihelmntik		58306-30-2	446,48	Veterina ≥99%	Log K <sub>ov</sub> = 1,53 S <sub>v</sub> = 76,92 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 1,4468 K <sub>oc</sub> = 27,98 L/kg
<b>Hidrokortizon</b> [C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> ]	(11 β)-11,17,21-trihidroksipregna-4-en-3,20-dion	Glukokortikoid		50-23-7	362,47	Veterina	Log K <sub>ov</sub> = 1,62 S <sub>v</sub> = 320 mg/L Log K <sub>zv</sub> = -5,627 Log K <sub>oc</sub> = 1,3839
<b>Levamisol x HCl</b> [C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> SxHCl]	(7R)-7-fenil-4-tio-1,6-diazobiciklo[3.3.0]okt-5-en	Antihelmintik		16595-80-5 14769-73-4	240,75 204,29	Veterina ≥99%	Log K <sub>ov</sub> = 2,87 S <sub>v</sub> = 1116 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 1,8775 K <sub>oc</sub> = 75,42 L/kg

**Tablica 8.** Fizikalno-kemijske karakteristike farmaceutika (nastavak)

Farmaceutik	Ime po IUPAC-u	Skupina	Molekulska struktura	CAS broj	Molekulska masa, g/mol	Proizvođač	Konstante
<b>Lidokain x HCl</b> [C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O]	2-(dietilamino)- <i>N</i> -(2,6-dimetilfenil)acetamid	Lokalni anestetik		73-78-9 137-58-6	270,80 234,43	Veterina ≥98%	Log K <sub>ov</sub> = 1,66 S <sub>v</sub> = 237,7 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 2,1840 K <sub>oc</sub> = 152,7 L/kg
<b>Prokain x HCl</b> [C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> xHCl]	2-(dietilamino)etil 4-aminobenzoat	Lokalni anestetik		51-05-8 59-46-1	272,77 236,31	≥99% Veterina ≥97%	Log K <sub>ov</sub> = 2,14 S <sub>v</sub> = 4261 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 1,9562 K <sub>oc</sub> = 90,41 L/kg
<b>Tilosin tartrat</b> [C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub> x C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> ]	[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>E</i> ,6 <i>E</i> ,9 <i>R</i> ,11 <i>R</i> ,12 <i>S</i> ,13 <i>S</i> ,14 <i>R</i> )-12-[3,6-dideoksi-4- <i>O</i> -(2,6-dideoksi-3- <i>C</i> -metil- $\alpha$ - <i>L</i> - <i>ribo</i> -heksopiranozil)-3-(dimetilamino)- $\beta$ - <i>D</i> -glukopiranoziloksi]-2-etil-14-hidroksi-5,9,13-trimetil-8,16-diokso-11-(2-oksoetil)oksacikloheksa deka-4,6-dien-3-il]metil 6-deoksi-2,3-di- <i>O</i> -metil- $\beta$ - <i>D</i> -alopiranosid	Antibiotik (makrolidni)		74610-55-2 1401-69-0	1066 915,92	Veterina ≥95%	Log K <sub>ov</sub> = 1,63 S <sub>v</sub> = 0,5065 mg/L Log K <sub>oc</sub> = 0,2050 K <sub>oc</sub> = 1,603 L/kg

**Legenda:** K<sub>ov</sub> = koeficijent razdijeljenja analita između oktanola i vode; S<sub>v</sub> = topljivost analita u vodi; K<sub>oc</sub> = koeficijent razdijeljenja analita između organskog ugljika i vode; K<sub>oz</sub> = koeficijent razdijeljenja analita između oktanola i zraka; K<sub>zv</sub> = koeficijent razdijeljenja analita između zraka i vode



## 3.2. Instrumenti, uređaji i pribor

### 3.2.1. Analitička vaga

U radu je korištena analitička vaga Mettler Toledo, AB104, Švicarska, prikazana na Slici 8.



**Slika 8.** Analitička vaga Mettler Toledo, AB104 [39]

### 3.2.2. pH-metar

Za mjerenje pH korišten je pH-metar Mettler Toledo, S 20 SevenEasy, Švicarska koji je prikazan na Slici 9.



**Slika 9.** pH-metar Mettler Toledo, S 20 SevenEasy [40]

### 3.2.3. Mućkalica

Za ekstrakciju farmaceutika iz sedimenta korištena je mućkalica New Brunswick Scientific, Innova 4080, Enfield, Connecticut, Sjedinjene Američke Države koja je prikazana na Slici 10.



**Slika 10.** Mućkalica New Brunswick Scientific, Innova 4080 [41]

Mućkalica se može programirati. Programiranje omogućuje podešavanje broja okretaja na kojima će se uzorci mućkati, temperature u mućkalici i vrijeme trajanja mućkanja. Temperaturno područje na kojem mućkalica može raditi se kreće od 5 do 80 °C. Brzina mućkanja koja se može postići iznosi od 25 do 500 okretaja/minuti. Mućkalica ima alarm pa se može namjestiti željeno vrijeme mućkanja. Mućkalica dolazi s dva nastavka: košaricama za posude od 10 do 500 mL i košaricama za posude od 1 do 6 L [42].

### 3.2.4. Filtriranje

Nakon mućkanja uzorke se profiltrira kroz filter papir da bi dobili bistre ekstrakte koji se analiziraju na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti. Filter papir korišten za filtriranje je Munktell & Filtrak plava vrpca 110 mm/391, Njemačka i Schleicher & Schüll plava vrpca, Nr. 589<sup>3</sup>, Njemačka. Uzorci koji su i nakon prolaska kroz filter papir bili mutni profiltrirani su ponovno kroz filter za injekcije Phenex RC 0,45 µm.

### 3.2.5. UV/Vid spektrofotometar

Za snimanje apsorpcijskog spektra svakog farmaceutika korišten je UV/Vid spektrofotometar PerkinElmer, Lambda 35, Waltham, Massachusetts, Sjedinjene Američke Države koji je prikazan na Slici 11. Spektrofotometar je dvoznačni s kvarcnim zrcalima i holografskom mrežicom. Radno područje spektrofotometra je od 190 do 1100 nm, širina vrpce se kreće od 0,5 do 4 nm. Ima dva izvora zračenja: deuterijevu i volframovu lampu [43].



**Slika 11.** UV/Vid spektrofotometar PerkinElmer, Lambda 35 [44]

### 3.2.6. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (HPLC)

Nakon mućkanja ekstrakti su analizirani tekućinskim kromatografom visoke djelotvornosti Varian ProStar, Sjedinjene Američke Države koji je prikazan na Slici 12. Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti ProStar sastoji se od: automatskog uzorkivača 410, detektora s nizom dioda 330, pumpe 230, boce za pokretnu fazu, boce za otpad i računala preko kojeg se programom upravlja HPLC-om i gdje se nakon analize obrađuju dobiveni podatci.



**Slika 12.** Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti ProStar

### 3.3. Metode rada

#### 3.3.1. Priprema standardne otopine farmaceutika

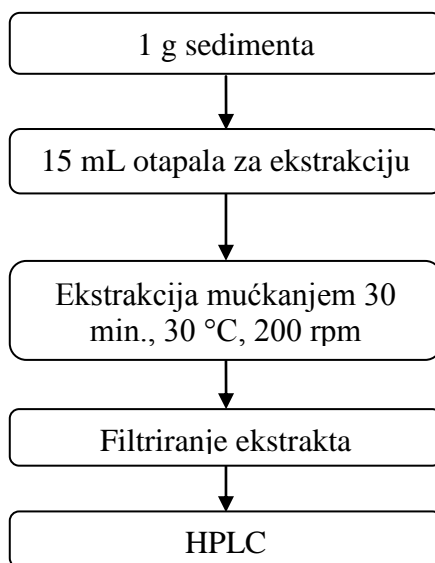
Standardna otopina smjese farmaceutika priprema se odvagom 5 mg svakog farmaceutika (albendazola, deksametazona, febantela, hidrokortizona, levamisola, lidokaina, prokaina i tilozina) koji se zatim otope u metanolu HPLC čistoće u tikvici od 100 mL. Masena koncentracija pojedinog farmaceutika u standardnoj otopini je 50 ppm (50 mg/L). Uz standardnu otopinu smjese farmaceutika pripremljene su i pojedinačne otopine za svaki farmaceutik masene koncentracije 30 ppm. Pripremljene otopine se čuvaju u hladnjaku na temperaturi od 4 °C.

#### 3.3.2. Priprema sedimenta sa standardnim dodatkom farmaceutika

Sediment je 7 dana sušen na zraku. Nakon toga se usitni u tarioniku, te prosije kroz sito otvora 2 mm. U plastične bočice se izvaže 1 g prosijanog sedimenta i doda se 1 mL standardne otopine smjese farmaceutika, te 3 mL metanola. Dobivena smjesa promiješa se laganim kružnim pokretima, te se ostavi na zraku dok metanol ne ishlapi (oko 1 dan).

#### 3.3.3. Ekstrakcija mućkanjem

Proces ekstrakcije farmaceutika iz sedimenta prikazan je na Slici 13.



**Slika 13.** Shematski prikaz postupka ekstrakcije farmaceutika iz sedimenta mućkanjem

### 3.3.4. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Nakon ekstrakcije farmaceutika mućkanjem profiltrirani ekstrakti se analiziraju na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti ProStar. U kromatografski sustav injektirani su: standardna otopina smjese farmaceutika, slijepa proba (otapalo za ekstrakciju) i ekstrakti. Volumen injektiranja je 30 µL. Svaki uzorak je injektiran tri puta, zatim se kolona pere 65% acetonitrilom pri protoku od 0,5 mL/min. Pokretna faza se sastojala od: A 0,01% mravlje kiseline u vodi i B 0,01% mravlje kiseline u acetonitrilu uz gradijentno eluiranje. Gradijent pokretne faze prikazan je u Tablici 9. Brzina protoka pokretne faze je 0,7 mL/min.

**Tablica 9.** Gradijent pokretne faze korišten u analizi [45]

Vrijeme / min	Volumen pokretne faze A / %	Volumen pokretne faze B / %
0	100	0
2,30	92	8
6,00	90	10
11,00	70	30
15,00	40	60
18,00	5	95
28,00	5	95
28,10	100	0
30,00	100	0

Kromatogrami su snimani pri valnim duljinama od 210, 254, 285 i 295 nm. Na temelju snimljenih kromatograma standardne otopine smjese farmaceutika i dobivenih ekstrakata iz sedimenta možemo izračunati iskorištenje ekstrakcije. Iskorištenje ekstrakcije se definira kao omjer površine kromatografske krivulje analita iz ekstrakta ( $A_{i,E}$ ) i površine kromatografske krivulje analita u standardnoj otopini ( $A_{i,STD}$ ):

$$I = \frac{A_{i,E}}{A_{i,STD}} \cdot 100\%$$

#### **4. *REZULTATI I RASPRAVA***

## 4.1. Kromatografsko određivanje farmaceutika

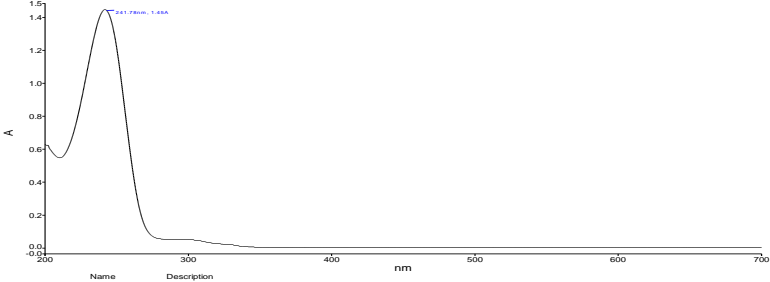
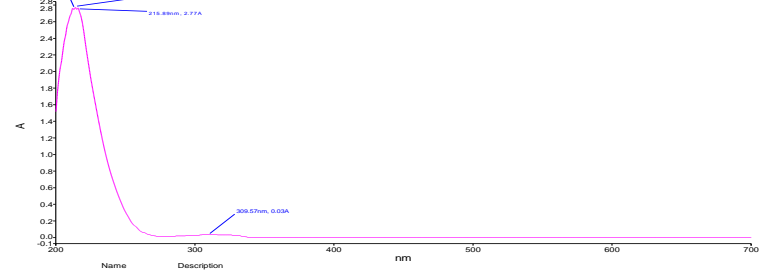
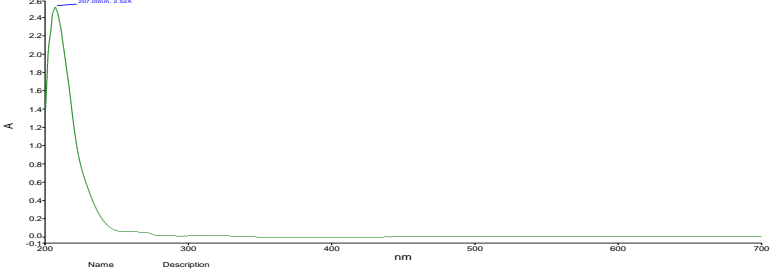
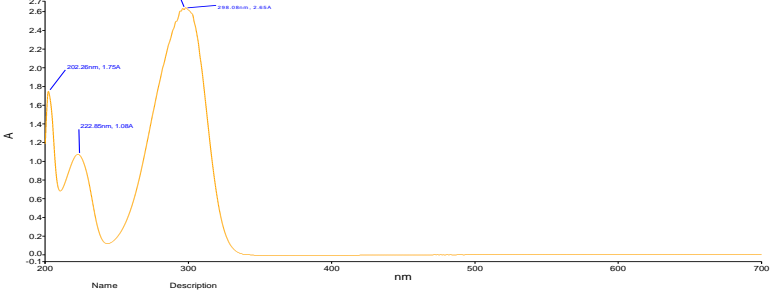
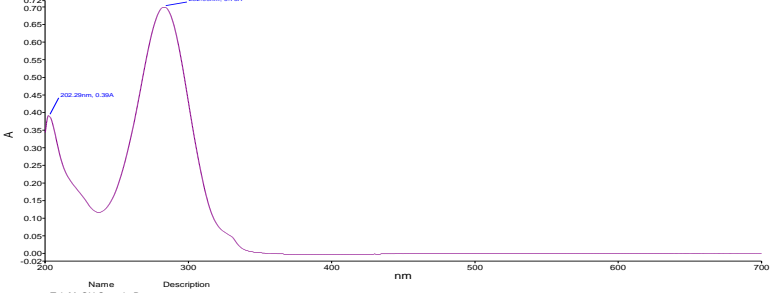
Kako bi se mogli odrediti svi farmaceutici iz standardne otopine smjese farmaceutika, bilo je potrebno odabrati kolonu na kojoj će se raditi daljnja analiza. Isprobano je šest različitih kromatografskih kolona, a najbolji rezultati dobiveni su s kolonom InertSustain™ C18, (250 mm x 4,6 mm, 5 μm), GL Sciences Inc., Japan. Ta kolona je korištena u daljnjem radu za identifikaciju farmaceutika iz dobivenih ekstrakata.

Pri identifikaciji farmaceutika koriste se apsorpcijski spektri svakog farmaceutika koji su snimljeni na UV/Vid spektrofotometru PerkinElmer, Lambda 35, spektri su prikazani u Tablici 10. Za snimanje apsorpcijskih spektara farmaceutika korištene su 30 ppm otopine pojedinačnih farmaceutika.

**Tablica 10.** Apсорpcijski spektri ispitivanih farmaceutika

Farmaceutik	Apsorpcijski spektar
<p style="text-align: center;"><b>Albendazol</b></p>	
<p style="text-align: center;"><b>Deksametazon</b></p>	
<p style="text-align: center;"><b>Febantel</b></p>	

**Tablica 10.** ApSORPCIJSKI spektri ispitivanih farmaceutika (nastavak)

Farmaceutik	ApSORPCIJSKI spektar
<p><b>Hidrokortizon</b></p>	 <p>The graph shows the absorption spectrum of Hydrocortisone. The y-axis represents absorbance (A) from 0.0 to 1.5, and the x-axis represents wavelength (nm) from 200 to 700. A single prominent peak is observed at 241.28 nm with an absorbance of approximately 1.45. A secondary peak is noted at 214.83 nm with an absorbance of 1.400.</p>
<p><b>Levamisol</b></p>	 <p>The graph shows the absorption spectrum of Levamisole. The y-axis represents absorbance (A) from 0.0 to 2.8, and the x-axis represents wavelength (nm) from 200 to 700. The main peak is at 214.83 nm with an absorbance of 2.774. Other peaks are labeled at 267.00 nm (2.524) and 309.57 nm (0.03A).</p>
<p><b>Lidokain</b></p>	 <p>The graph shows the absorption spectrum of Lidocaine. The y-axis represents absorbance (A) from 0.0 to 2.6, and the x-axis represents wavelength (nm) from 200 to 700. The primary peak is at 207.00 nm with an absorbance of 2.524.</p>
<p><b>Prokain</b></p>	 <p>The graph shows the absorption spectrum of Procaine. The y-axis represents absorbance (A) from 0.0 to 2.7, and the x-axis represents wavelength (nm) from 200 to 700. Multiple peaks are present: 202.26 nm (1.75A), 222.85 nm (1.05A), and a major peak at 295.05 nm (2.64A). Another peak is noted at 214.83 nm (2.65A).</p>
<p><b>Tilozin</b></p>	 <p>The graph shows the absorption spectrum of Tilozin. The y-axis represents absorbance (A) from 0.00 to 0.75, and the x-axis represents wavelength (nm) from 200 to 700. The main peak is at 282.98 nm with an absorbance of 0.706. A secondary peak is at 202.26 nm (0.38A).</p>

Nakon odabira kolone na kojoj će se raditi daljnje analize, rađeni su eksperimenti za optimizaciju ekstrakcije mućkanjem s ciljem dobivanja što većih iskorištenja ekstrakcije za svaki farmaceutik, pri tom su se očitavale površine kromatografskih krivulja na valnim



duljinama pri kojima su farmaceutici imali najveće odzive. U Tablici 11 prikazane su valne duljine pri kojima su očitavane površine kromatografskih krivulja za svaki farmaceutik. Također pri identifikaciji farmaceutika uz UV/Vid apsorpcijske spektre pomogla su nam i vremena zadržavanja koja iznose za: albendazol  $t_R= 21$  min; deksametazon  $t_R= 22$  min; febantel  $t_R= 23,5$  min; hidrokortizon  $t_R= 21,8$  min; levamisol  $t_R=18,6$  min; lidokain  $t_R= 1,5$  min; prokain  $t_R= 18$  min i tilozin  $t_R= 17,9$  min s odstupanjima od 0,5 do 1 min ovisno o uvjetima provođenja ekstrakcije. Vrijeme zadržavanja otopljene komponente označava vrijeme od trenutka unošenja uzorka do vremena maksimalnog odziva za pojedinu komponentu.

**Tablica 11.** Valne duljine pri kojima su očitavane površine kromatografskih krivulja za svaki farmaceutik

<b>Farmaceutik</b>	<b>Valna duljina / nm</b>
<b>Albendazol</b>	210
<b>Deksametazon</b>	254
<b>Febantel</b>	210
<b>Hidrokortizon</b>	254
<b>Levamisol</b>	210
<b>Lidokain</b>	210
<b>Prokain</b>	295
<b>Tilozin</b>	285

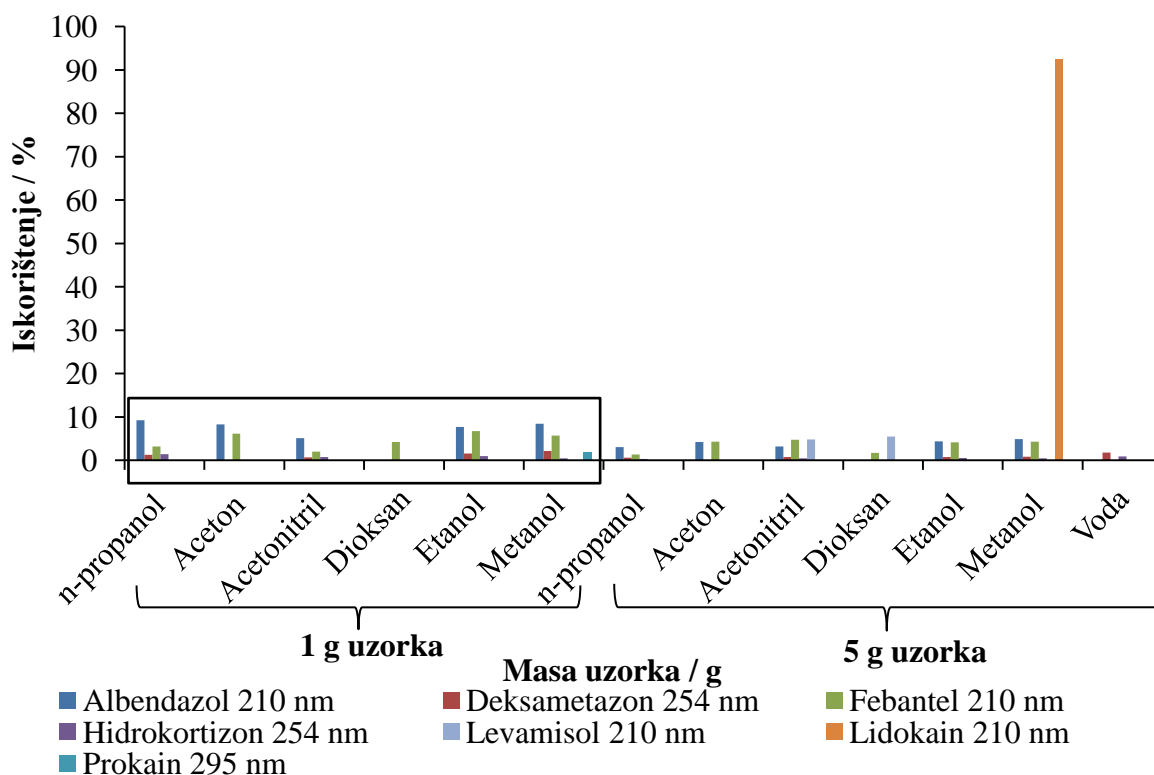
## 4.2. Optimizacija ekstrakcije mućkanjem

Optimizacija ekstrakcije mućkanjem rađena je s obzirom na ekstrakcijsko otapalo, temperaturu pri kojoj se radi ekstrakcija, vrijeme trajanja ekstrakcije, vremena kontakta između otapala i sedimenta, te broja okretaja. Svi eksperimenti izvedeni su s 3 paralelna uzorka i slijepom probom.

### 4.2.1. Izbor optimalne mase uzorka za ekstrakciju

U 1. eksperimentu korišteno je osam otapala i to: metanol, acetonitril, voda, etanol, aceton, diklormetan, *n*-propanol i dioksan, a 1 g uzorka sedimenta namjerno je zagađen s 1 mL standardne otopine smjese farmaceutika. Ekstrakcija mućkanjem se provodila 30 min, na 30 °C i pri 200 okretaja/min.

2. eksperiment rađen je sa svih osam otapala, ali s 5 g uzorka sedimenta, pri istim uvjetima ekstrakcije kao i u 1. eksperimentu. Rezultati 1. i 2. eksperimenta prikazani su na Slici 14 iz koje se može zaključiti da su iskorištenja kod 5 g uzorka manja od onih kod 1 g uzorka pa su stoga daljnji eksperimenti rađeni sa 1 g uzorka sedimenta. Iskorištenja lidokaina u 1. eksperimentu kreću se od 148 do 186%, a u 2. eksperimentu od 109 do 121% iz čega možemo zaključiti da se nešto iz sedimenta vezalo na njega, osim kod metanola gdje je iskorištenje 92,51%. Primjenom diklormetana i vode u 1. eksperimentu nije se ekstrahirao niti jedan farmaceutik, dok se u 2. eksperimentu samo u diklormetanu nije ekstrahirao niti jedan farmaceutik.

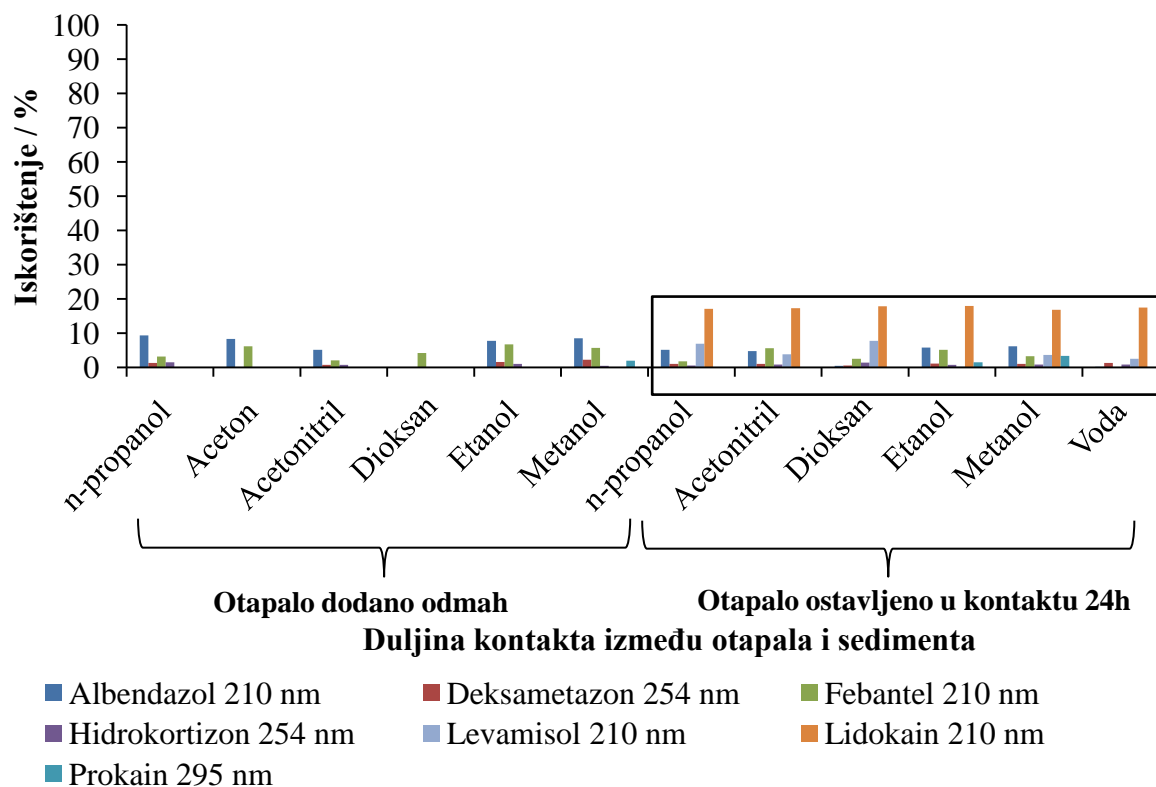


**Slika 14.** Usporedba iskorištenja ekstrakcije za različite mase uzorka kod 1. eksperimenta masa uzorka 1g, a kod 2. eksperimenta 5 g uzorka pri vremenu ekstrakcije 30 min, temperaturi 30 °C i broju okretaja 200 okretaja/min

#### 4.2.2. Izbor optimalnog otapala te vremena kontakta između otapala i sedimenta

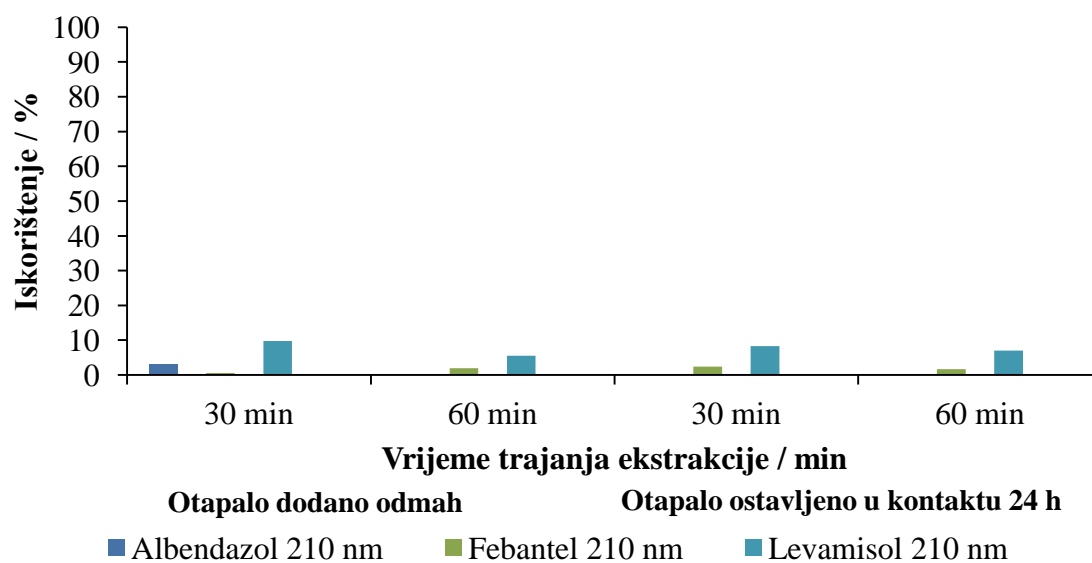
3. eksperiment rađen je sa šest otapala i to: metanolom, acetonitrilom, etanolom, vodom, *n*-propanolom i dioksanom. Otapala su dodana uzorcima sedimenta i ostavljena da budu 24 sata u kontaktu radi bolje ekstrakcije. Uvjeti ekstrakcije: vrijeme ekstrakcije 30 min, temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g. Rezultati 3. eksperimenta prikazani su na Slici 15 iz koje se može zaključiti da su dužim kontaktom između ekstrakcijskog otapala i sedimenta dobivena bolja iskorištenja nego u 1. eksperimentu. Na temelju dobivenih rezultata u 3. eksperimentu, u 4. eksperimentu koristit će se otapala: dioksan (zbog najvećeg iskorištenja levamisola), metanol (zbog toga jer je najviše farmaceutika otopljeno u njemu) i voda (jer se želi vidjeti kako će se farmaceutici ponašati pri drugim uvjetima u vodi, jer je sve prisutnije otkrivanje zagađenja vode farmaceuticima) za ekstrakciju. Također će se za ta

otapala ispitati utjecaj duljine kontakta između otapala i sedimenta, pri vremenu trajanja ekstrakcije kroz 30 i 60 minuta na iskorištenje ekstrakcije.

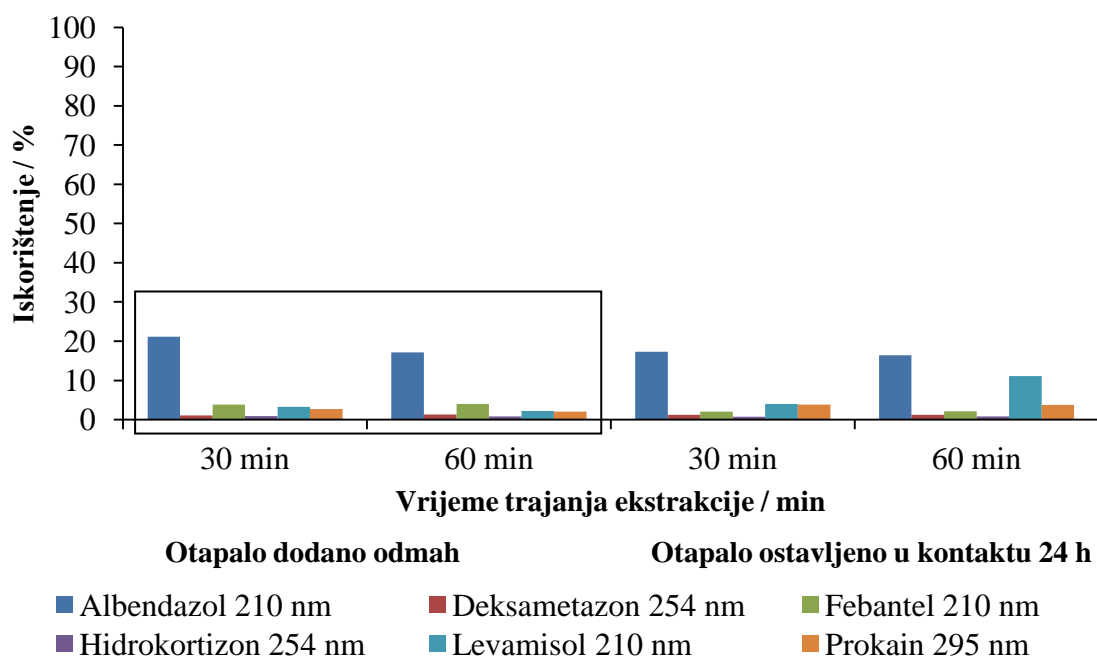


**Slika 15.** Usporedba iskorištenja ekstrakcije za različitu duljinu kontakta između otapala i sedimenta u 1. i 3. eksperimentu pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 min, temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g

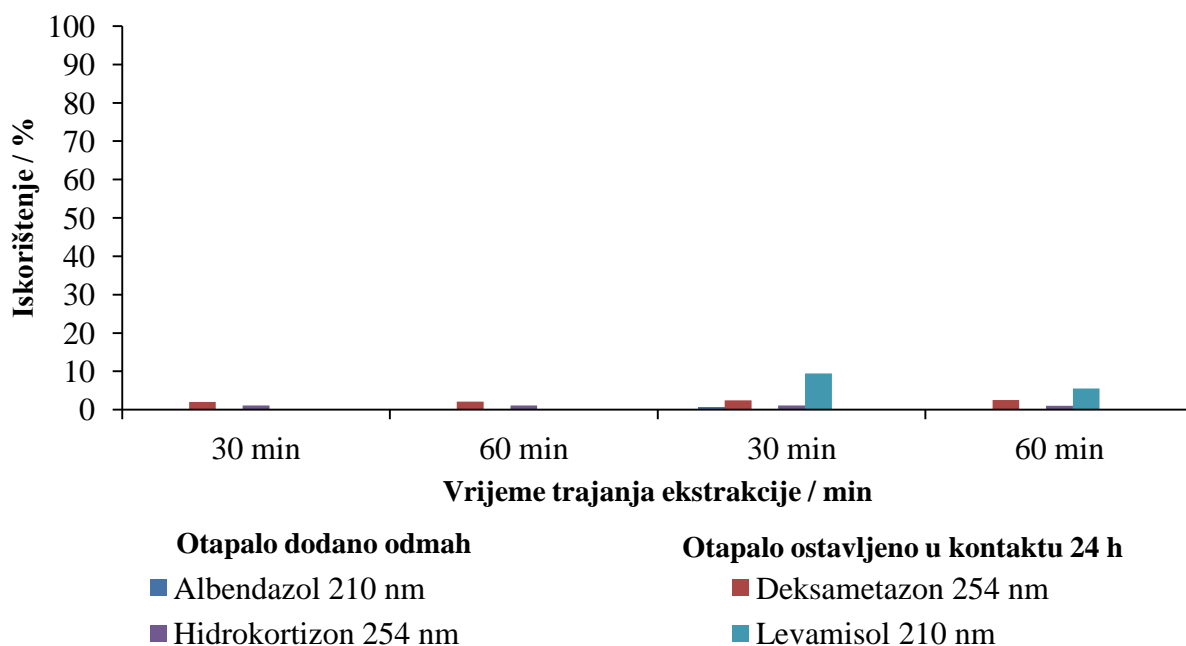
U 4. eksperimentu korištena su tri otapala i to: metanol, dioksan i voda, pri tom će se ispitati iskorištenje ekstrakcije pri uvjetima kada je otapalo dodano odmah i kada se otapalo ostavi u kontaktu sa sedimentom 24 sata. Također će se za oba uvjeta ispitati i vrijeme trajanja ekstrakcije i to kroz 30 i 60 minuta ekstrakcije. Ekstrakcija je rađena pri 200 okretaja/min i temperaturi 30 °C, te masi uzorka 1 g. Rezultati dobiveni 4. eksperimentom prikazani su na Slikama 16, 17 i 18. Na temelju dobivenih rezultata vidi se da je metanol najbolje otapalo za ekstrakciju, jer se u njemu otopilo najviše farmaceutika, pa će se za daljnji niz eksperimenata koristiti u smjesi otapala. Za daljnji niz eksperimenata odlučeno je da će se ekstrakcijsko otapalo dodavati uzorku odmah jer se iz dobivenih rezultata 4. eksperimenta vidi da nema razlike u iskorištenju ekstrakcije kada se otapalo ostavi u kontaktu sa sedimentom 24 sata.



**Slika 16.** Iskorištenja ekstrakcije u dioksanu pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g



**Slika 17.** Iskorištenja ekstrakcije u metanolu pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g



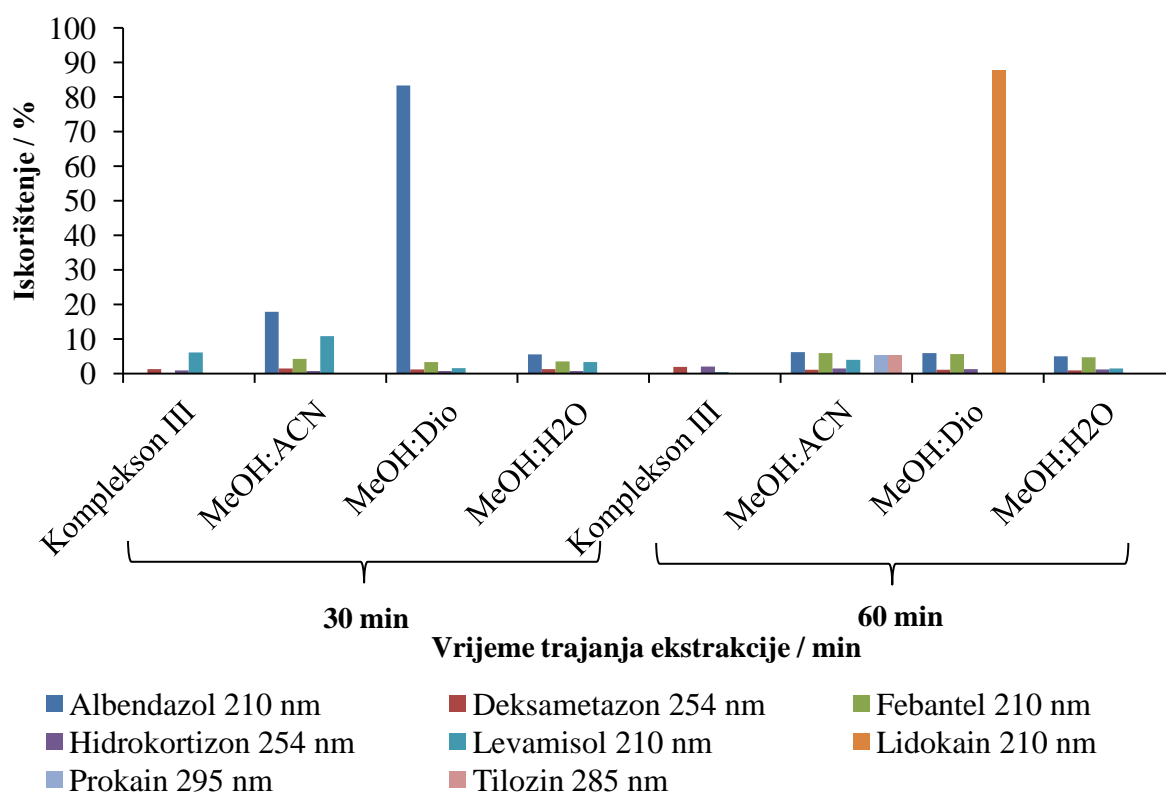
**Slika 18.** Iskorištenja ekstrakcije u vodi pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g

#### 4.2.3. Izbor optimalnog vremena trajanja ekstrakcije, broja okretaja te temperature ekstrakcije

Na temelju dobivenih rezultata iz prethodna četiri eksperimenta vidljivo je da su iskorištenja ekstrakcije za čista otapala vrlo mala osim za lidokain (2. eksperiment 92,52%, ali to se može pripisati eksperimentalnoj pogrešci jer u drugim eksperimentima iskorištenje za lidokain se kreće od 100 do 338% što nam pak govori da se vjerojatno nešto vezalo na lidokain iz sedimenta), pa će se u daljnjim eksperimentima ispitati utjecaj smjese ekstrakcijskih otapala i Kompleksona III (pH= 9) na iskorištenje ekstrakcije. U daljnjim eksperimentima korištene su smjese otapala: metanol: acetonitril (MeOH: ACN= 50:50), metanol: dioksan (MeOH: Dio= 50:50) i metanol: voda (MeOH: H<sub>2</sub>O= 50:50).

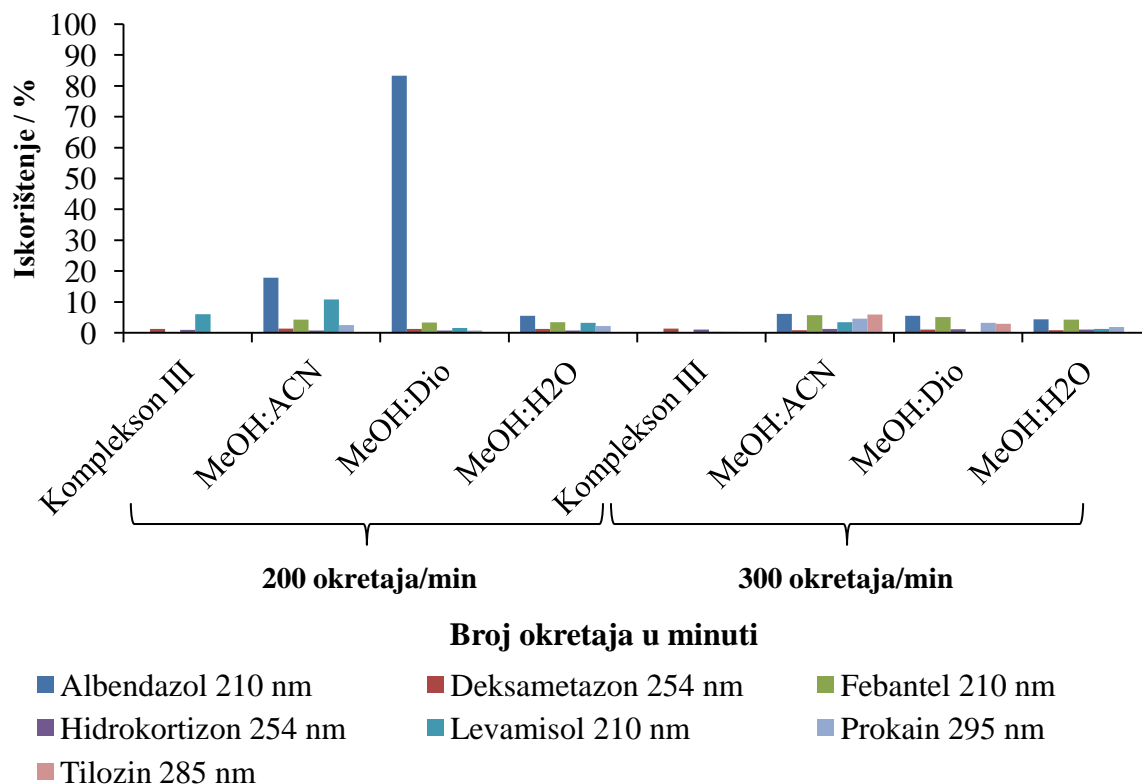
U 5. eksperimentu ekstrakcija je rađena s gore navedenim smjesama otapala pri 30 °C, 200 okretaja/min, masi uzorka 1g , te vremenu ekstrakcije od 30 min, a u 6. eksperimentu pri vremenu trajanja ekstrakcije 60 min. Rezultati dobiveni 5. i 6. eksperimentom prikazani su na Slici 19 iz koje se može vidjeti da su rezultati iskorištenja ekstrakcije malo bolji u smjesi otapala nego u čistom otapalu, te se vidi da je smjesa metanol: acetonitril pri vremenu trajanja

ekstrakcije od 60 minuta najbolja za ekstrakciju jer se u njoj otapaju svi farmaceutici, po prvi puta je identificiran tilozin. Iskorištenje albandazola od 83,28% što je jako dobro iskorištenje za razliku od prijašnjih iskorištenja koja su bila oko 20%. Iskorištenja za lidokain u 5. eksperimentu kreću se od 256 do 313% , a u 6. eksperimentu od 152 do 880% što možemo pripisati eksperimentalnoj pogrešci ili da se nešto iz sedimenta jako vezalo na njega. Zbog male razlike u iskorištenjima ekstrakcije pri vremenu trajanja ekstrakcije 30 i 60 minuta daljnji eksperimenti će se i dalje raditi pri vremenu ekstrakcije 30 i 60 minuta.



**Slika 19.** Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za trajanje ekstrakcije 30 i 60 minuta pri uvjetima ekstrakcije: temperaturi 30 °C, broju okretaja 200 okretaja/min i masi uzorka 1 g

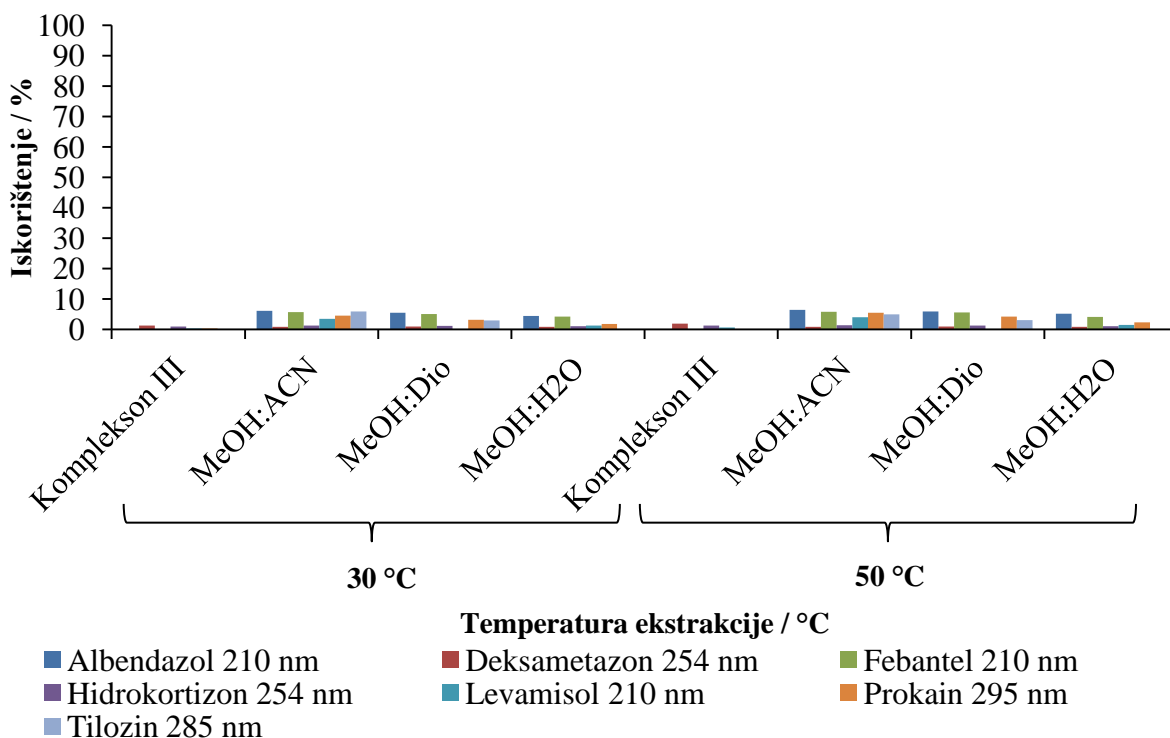
Usporedbom 5. i 7. eksperimenta vidi se kako utječe broj okretaja mućkalice na ekstrakciju. Ekstrakcija je rađena u 7. eksperimentu pri 30 °C, vremenu trajanja ekstrakcije 30 min s prije navedenim smjesama otapala, 300 okretaja/min i mase uzorka 1 g. Dobiveni rezultati prikazani su na Slici 20. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da veći broj okretaja pri ekstrakciji mućkanjem znatno ne utječe na iskorištenja ekstrakcije. U 7. eksperimentu iskorištenja za lidokain se kreću od 165 do 636%.



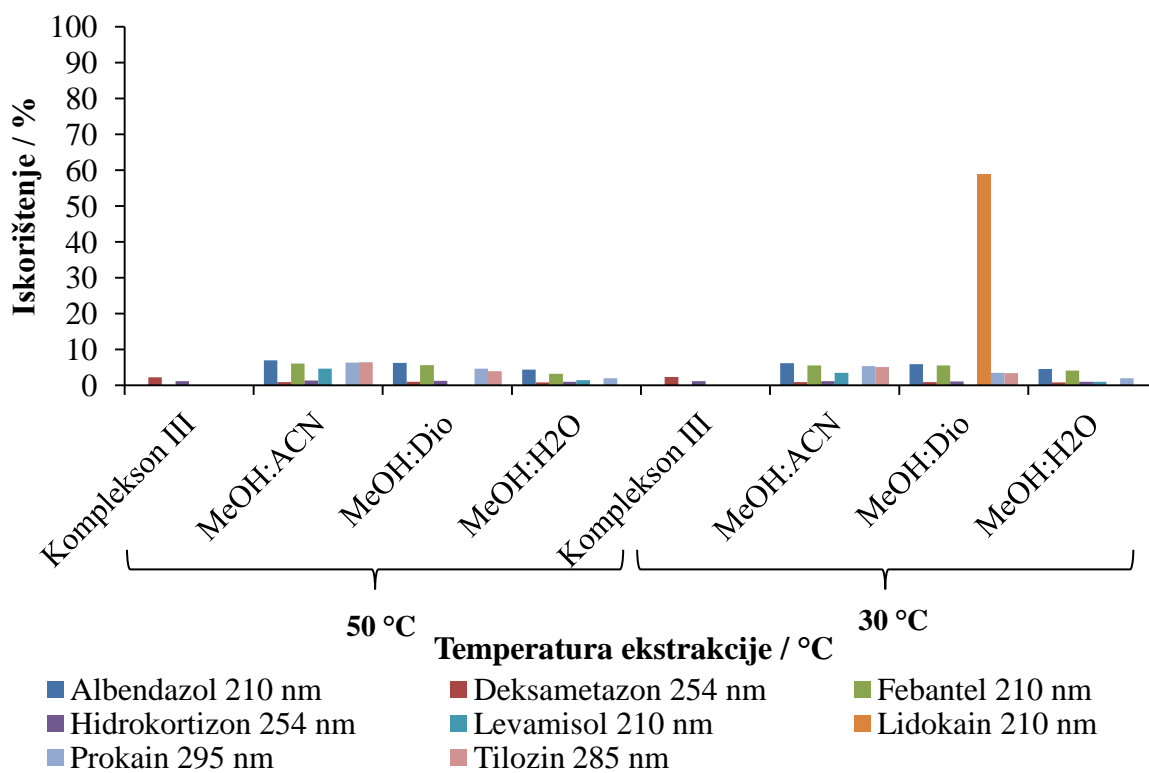
**Slika 20.** Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za broj okretaja 200 i 300 okretaja/min pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 minuta, temperaturi 30 °C i masi uzorka 1 g

U 7., 8., 9. i 10. eksperimentu ispitan je utjecaj temperature na ekstrakciju. Ekstrakcija je rađena kod 7. eksperimenta pri temperaturi od 30 °C, a kod 8. eksperimenta pri 50 °C uvjeti ekstrakcije su: 300 okretaja/min, vrijeme trajanja ekstrakcije 30 min i masa uzorka 1 g. Rezultati dobiveni 7. i 8. eksperimentom prikazani su na Slici 21. 9. i 10. eksperiment rađen je pri uvjetima ekstrakcije: temperaturi 50 °C, vremena trajanja ekstrakcije 60 minuta, 300 okretaja/min i masi uzorka 1 g. Rezultati dobiveni 9. i 10. eksperimentom prikazani su na Slici 22. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da promjena temperature ekstrakcije i vrijeme trajanja ekstrakcije ne utječu na iskorištenje ekstrakcije. Iskorištenja za lidokain se kreću od 162 do 711% za 8. eksperiment, od 161 do 604% za 9. eksperiment i od 178 do 544% za 10. eksperiment.





**Slika 21.** Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za temperaturu ekstrakcije 30 i 50 °C pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 minuta, 300 okretaja/min i masi uzorka 1 g



**Slika 22.** Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za temperaturu ekstrakcije 50 i 30 °C pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 60 minuta, 300 okretaja/min i masi uzorka 1 g

## **5. ZAKLJUČAK**

Na temelju provedenih eksperimenata može se zaključiti:

- 1) Ekstrakcija mućkanjem nije dobra metoda za ekstrakciju farmaceutika iz sedimenta jer su dobivena iskorištenja ekstrakcije vrlo mala. Za bolje iskorištenje ekstrakcije farmaceutika iz sedimenta trebalo bi isprobati neke od modernih metoda ekstrakcije.
- 2) Nemogućnost ekstrakcije farmaceutika iz sedimenta mućkanjem možemo pripisati fizikalno-kemijskim svojstvima sedimenta i farmaceutika, farmaceutici se jako adsorbiraju na sediment zbog velikih koeficijenata adsorpcije ( $K_{oc}$ ) (Tablica 8).
- 3) U literaturi [46] navedeni su uvjeti ekstrakcije u otapalima koja nisu korištena pri izradi ovog rada, pa bi se u nekom drugom radu mogla napraviti optimizacija metode mućkanjem prema tim uvjetima i vidjeti da li će se iskorištenja ekstrakcije za farmaceutike povećati.

## **6. *LITERATURA***

- [1] **A. W. Garrison, J. D. Pope, F. R. Allen,**  
*GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewaters*, u L. H. Keith (ur.), Identification and analysis of organic pollutants in water, Ann. Arbor Science Publishers, 1976., str. 517-556.
- [2] **M. L. Richardson, J. M. Bowron,**  
*The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment*, J. Pharm. Pharmacol. **37** (1985), 1-12.
- [3] **I. H. Rogers, I. K. Birtwell, G. M. Kruznyski,**  
*Organic extractables in municipal wastewater of Vancouver*, British Columbia, Water Pollut. Res. J. Can. **21** (1986) 187-204.
- [4] **K. Fent, A. A. Weston, D. Caminada,**  
*Ecotoxicology of human pharmaceuticals*, Aquat. Toxicol. **76** (2006) 122-159.
- [5] **S. Mompelat, B. Le Bot, O. Thomas,**  
*Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water*, Environ. Int. **35** (2009) 803-814.
- [6] **A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta,**  
*Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments*, Anal. Bioanal. Chem. **387** (2007) 1255-1234.
- [7] **D. W. Kolpin, E. T. Furlong, M. T. Meyer, E. M. Thurman, S. D. Zaugg, L. B. Barber, H. T. Buxton,**  
*Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U. S., streams 1999-2000: a national reconnaissance*, Environ. Sci. Technol. **36** (2002) 1202-1211.
- [8] **T. Ternes, M. Bonerz, T. Schmidt,**  
*Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry*, J. Chromatog. A **938** (1/2) (2001) 175-185.
- [9] **J. L. Oaks, M. Gilbert, M. Z. Virani, R. T. Watson, C. U. Meteyer, B. A. Rideout, H. L. Shivaprasad, S. Ahmed, M. J. I. Chaudhry, M. Arshad, S. Mahmood, A. Ali, A. A. Khan,**  
*Diclofenac residues as a cause of population decline of White-backed Vultures in Pakistan*, Nature **427** (2004) 630-633.
- [10] **C. D. Metcalfe, X. S. Miao, B. G. Koenig, J. Struger,**  
*Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada*, Environ. Toxicol. Chem. **22** (2003) 2881-2889.
- [11] **L. Lishman, S. A. Smyth, K. Sarafin, S. Kleywegt, J. Toito, T. Peart, B. Lee, M. Servos, M. Beland, P. Seto,**  
*Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada*, Sci. Total Environ. **367** (2-3) (2006) 544-558.
- [12] **Pathways of input and distribution of pharmaceuticals in the environment:**  
[http://www.google.hr/imgres?q=Pathways+of+input+and+distribution+of+pharmaceuticals+in+the+environment&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=685&tbm=isch&tbnid=OsWdtfY2EU9BCM:&imgrefurl=http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-environ-052809-161223&docid=n\\_tac4kt4LOtFM&imgurl=http://www.annualreviews.org/na101/home/literatum/publisher/ar/journals/content/energy/2010/energy.2010.35.issue-1/annurev-environ-052809-161223/production/images/medium/eg350057.f1.gif&w=500&h=421&ei=GxQuUKDwDYritQas2oH4BA&zoom=1&iact=hc&vpx=581&vpy=147&dur=1352&hovh=206&hovw=245&tx=104&ty=95&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=142&tbnw=169&start=0&endsp=17&ved=1t:429,r:2,s:0,i:75](http://www.google.hr/imgres?q=Pathways+of+input+and+distribution+of+pharmaceuticals+in+the+environment&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=685&tbm=isch&tbnid=OsWdtfY2EU9BCM:&imgrefurl=http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-environ-052809-161223&docid=n_tac4kt4LOtFM&imgurl=http://www.annualreviews.org/na101/home/literatum/publisher/ar/journals/content/energy/2010/energy.2010.35.issue-1/annurev-environ-052809-161223/production/images/medium/eg350057.f1.gif&w=500&h=421&ei=GxQuUKDwDYritQas2oH4BA&zoom=1&iact=hc&vpx=581&vpy=147&dur=1352&hovh=206&hovw=245&tx=104&ty=95&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=142&tbnw=169&start=0&endsp=17&ved=1t:429,r:2,s:0,i:75) (17.8.2012.)
- [13] **Pharmaceutical:**  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Pharmaceutical\\_drug](http://en.wikipedia.org/wiki/Pharmaceutical_drug) (16.8.2012.)
- [14] **ATK klasifikacija:**  
[http://www.almp.hr/pdf/publikacije/Ukupna\\_potrosnja\\_lijekova\\_2010.pdf](http://www.almp.hr/pdf/publikacije/Ukupna_potrosnja_lijekova_2010.pdf) (11.9.2012.)

- [15] **A. Kar**,  
*Medicinal Chemistry*, New Age International (P) Ltd., Publishers, New Delhi, 2007. str. 128, 655, 718, 719, 731.
- [16] **D. C. Plumb**,  
*Veterinary Drug Handbook*, Iowa State University Press, Iowa, 1999. str. 14, 222, 329, 404, 456, 463, 776.
- [17] **Antihelmintici**:  
<http://www.stetoskop.info/antihelmintici-b13-bs227-p97-nc1-book.htm> (17.8.2012.)
- [18] **Lidokain**:  
<http://hr.wikipedia.org/wiki/Lidokain> (20.8.2012.)
- [19] **M. Bilušić, A. Bilušić**,  
*Antiaritmici*, *Medicus* Vol. **19**, No. 2 (2010), 197–202.
- [20] **Lidocaine**:  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Lidocaine> (20.8.2012.)
- [21] **Procaine**:  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Procaine> (20.8.2012.)
- [22] **Antibiotici**:  
<http://www.ordinacija.hr/zdravlje/preventiva/sve-sto-trebate-znati-o-antibioticima/> (21.8.2012.)
- [23] **Makrolidi**:  
<http://www.jelena-surana.com/predavanja/Makrolidi.pdf> (21.8.2012.)
- [24] **Tylosin**:  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Tylosin> (21.8.2012.)
- [25] **Kortikosteroidi**:  
<http://www.stetoskop.info/kortikosteroidi-za-sistemsku-primenu-b13-bs260-p94-nc1-book.htm> (22.8.2012.)
- [26] **Dexamethasone**:  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Dexamethasone> (22.8.2012.)
- [27] **Hydrocortisone**:  
<http://en.wikipedia.org/wiki/Cortisol> (23.8.2012.)
- [28] **F. Settle**,  
*Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, Prentice Hall PTR, New Jersey, 1997. str. 18-19, 24-33, 147-153.
- [29] **Soxhlet apparatus**:  
<http://www.google.hr/imgres?q=soxhlet+apparatus&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=685&tbn=isch&tbnid=7mqS0QcLVoQsNM:&imgrefurl=http://buymarijuanaseeds.com/community/threads/the-soxhlet-extractor.90267/&imgurl=http://buymarijuanaseeds.com/community/attachments/soxhletextractor-gif.164247/&w=265&h=368&ei=tCk9UJFvjsu0BrasgNgO&zoom=1&iact=hc&vpx=678&vpy=128&dur=93&hovh=265&hovw=190&tx=103&ty=167&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=162&tbnw=117&start=0&ndsp=25&ved=1t:429,r:4,s:0,i:81> (23.8.2012.)
- [30] **R. N. Reeve**,  
*Introduction to environmental analysis*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 2002. str. 169-171.
- [31] **Superkritični fluid**:  
<http://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=superkriti%C4%8Dni+fluid> (8.9.2012.)
- [32] **Supercritical fluid extraction**:  
<http://www.google.hr/imgres?q=supercritical+fluid+extraction&um=1&hl=hr&sa=N&biw=1280&bih=685&tbn=isch&tbnid=XIjqIJoLxgrrqM:&imgrefurl=http://jolisfukyu.tokai->

sc.jaea.go.jp/fukyu/tayu/ACT96E/01/0102.htm&docid=eRjZko-jGKI2iM&imgurl=http://jolisfukyu.tokai-sc.jaea.go.jp/fukyu/tayu/ACT96E/GIF/Z01\_03.GIF&w=340&h=259&ei=HtIJUP2IMYbPtAby-IC4Bw&zoom=1&iact=hc&vpx=591&vpy=184&dur=659&hovh=196&hovw=257&tx=123&ty=98&sig=106985917404537905240&page=3&tbnh=145&tbnw=190&start=35&ndsp=21&ved=1t:429,r:2,s:35,i:190 (7.9.2012.)

[33] **Microwave assisted extraction:**

<http://www.google.hr/imgres?q=microwave+assisted+extraction&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=685&tbn=isch&tbnid=L0x9jHLMxF7leM:&imgrefurl=http://www.labonline.com.au/articles/37723-Microwave-assisted-extraction&docid=5WPrHXzievcJaM&imgurl=http://www.labonline.com.au/uploads/Image/ONLINE%25252038177%252520LLAS2.jpg&w=400&h=329&ei=mMZJULrjBsresgbTiIFQ&zoom=1&iact=rc&dur=445&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=148&tbnw=180&start=0&ndsp=15&ved=1t:429,r:2,s:0,i:75&tx=137&ty=86> (7.9.2012.)

[34] **Accelerated solvent extraction:**

<http://www.google.hr/imgres?q=accelerated+solvent+extraction&hl=hr&sa=X&biw=1280&bih=685&tbn=isch&prmd=imvns&tbnid=2vLMMm0TYeYbNM:&imgrefurl=http://www.dionex.com/en-us/products/sample-preparation/ase/instruments/lp-81380.html&imgurl=http://www.dionex.com/en-us/images/page-images/img-81606-img5988-ase-schematic.jpg&w=400&h=380&ei=eMNBUK8n0dWyBqHKgIgb&zoom=1&iact=hc&vpx=184&vpy=43&dur=372&hovh=219&hovw=230&tx=139&ty=122&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=147&tbnw=155&start=0&ndsp=16&ved=1t:429,r:0,s:0,i:69> (23.8.2012.)

[35] **Dionex ASE extractor:**

<http://www.labexchange.com/en/buy-devices/d/?sn=16720> (23.8.2012.)

[36] **J. A. Adamovics,**

*Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1997. str. 1

[37] **R. P. W. Scott,**

*Tandem Techniques*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, 1997. str. 53-54

[38] **D. Drljača,**

*Ultrazvučna ekstrakcija farmaceutski aktivnih tvari iz sedimenta*, diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2009.

[39] **Mettler Toledo AB 104:**

[http://www.google.hr/imgres?q=Mettler+Toledo+ab+104&um=1&hl=hr&sa=N&biw=1280&bih=685&tbn=isch&tbnid=o0SDvZZRtf8CVM:&imgrefurl=http://www.ebay.com/itm/Mettler-Toledo-Analytical-Laboratory-Digital-Scale-Balance-AB104-PARTS-REPAIR-/390435306481&docid=YIqxuUEck3sCVM&itg=1&imgurl=http://i.ebayimg.com/t/Mettler-Toledo-Analytical-Laboratory-Digital-Scale-Balance-AB104-PARTS-REPAIR-/00/s/NTIwWDQ4MA%253D%253D%2524\(KGrHqJ,!qoE%252BnjTCY16BP6lp%252BwQdQ~~60\\_35.JPG&w=276&h=300&ei=pDFKUOuUOsfIswaIw4G4DQ&zoom=1&iact=hc&vpx=1024&vpy=297&dur=606&hovh=234&hovw=215&tx=103&ty=110&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=162&tbnw=148&start=0&ndsp=20&ved=1t:429,r:13,s:0,i:110](http://www.google.hr/imgres?q=Mettler+Toledo+ab+104&um=1&hl=hr&sa=N&biw=1280&bih=685&tbn=isch&tbnid=o0SDvZZRtf8CVM:&imgrefurl=http://www.ebay.com/itm/Mettler-Toledo-Analytical-Laboratory-Digital-Scale-Balance-AB104-PARTS-REPAIR-/390435306481&docid=YIqxuUEck3sCVM&itg=1&imgurl=http://i.ebayimg.com/t/Mettler-Toledo-Analytical-Laboratory-Digital-Scale-Balance-AB104-PARTS-REPAIR-/00/s/NTIwWDQ4MA%253D%253D%2524(KGrHqJ,!qoE%252BnjTCY16BP6lp%252BwQdQ~~60_35.JPG&w=276&h=300&ei=pDFKUOuUOsfIswaIw4G4DQ&zoom=1&iact=hc&vpx=1024&vpy=297&dur=606&hovh=234&hovw=215&tx=103&ty=110&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=162&tbnw=148&start=0&ndsp=20&ved=1t:429,r:13,s:0,i:110) (7.9.2012.)

[40] **Mettler Toledo S 20 SevenEasy:**

[http://www.google.hr/imgres?q=Mettler+Toledo+S+20+SevenEasy&um=1&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=sIHArsrc5AtFEM:&imgrefurl=http://us.mt.com/us/en/home/products/Laboratory\\_Analytics\\_Browse/Meter\\_family\\_page/SEVEN\\_Bench\\_meters\\_Family\\_page/S20\\_SevenEasy\\_pH\\_1.html&docid=yMTtsUIv-JaezM&imgurl=http://media.mt.com/us/en/home/products/Laboratory\\_Analytics\\_Browse/Meter\\_family\\_page/SEVEN\\_Bench\\_meters\\_Family\\_page/S20\\_SevenEasy\\_pH\\_1/\\_jcr\\_content/productmodeltabs/overviewpmttoppar/90929.img.largeImage.png&w=480&h=480&ei=mzJKUJWRCsXIAb74YCIAQ&zoom=1&iact=hc&vpx=662&vpy=184&dur=1769&hovh=225&hovw=225&tx=130&ty=156&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=148&tbnw=148&start=0&ndsp=21&ved=1t:429,r:3,s:0,i:78](http://www.google.hr/imgres?q=Mettler+Toledo+S+20+SevenEasy&um=1&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=sIHArsrc5AtFEM:&imgrefurl=http://us.mt.com/us/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/Meter_family_page/SEVEN_Bench_meters_Family_page/S20_SevenEasy_pH_1.html&docid=yMTtsUIv-JaezM&imgurl=http://media.mt.com/us/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/Meter_family_page/SEVEN_Bench_meters_Family_page/S20_SevenEasy_pH_1/_jcr_content/productmodeltabs/overviewpmttoppar/90929.img.largeImage.png&w=480&h=480&ei=mzJKUJWRCsXIAb74YCIAQ&zoom=1&iact=hc&vpx=662&vpy=184&dur=1769&hovh=225&hovw=225&tx=130&ty=156&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=148&tbnw=148&start=0&ndsp=21&ved=1t:429,r:3,s:0,i:78) (7.9.2012.)

[41] **Innova 4080 Incubator Shaker:**

[http://www.google.hr/imgres?q=Innova+4080+Incubator+shaker&um=1&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=g34EVLB8bU1bGM:&imgrefurl=http://www.scientific-surplus.com/prodlist.asp%3FCmd%3D2%26ProductID%3D767&docid=WN2vVuu0YhB\\_LM&imgurl=http://w](http://www.google.hr/imgres?q=Innova+4080+Incubator+shaker&um=1&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=g34EVLB8bU1bGM:&imgrefurl=http://www.scientific-surplus.com/prodlist.asp%3FCmd%3D2%26ProductID%3D767&docid=WN2vVuu0YhB_LM&imgurl=http://w)

ww.scientific-surplus.com/images/products/767.jpg&w=315&h=259&ei=6jJKUJ2vCYrYtAbJ\_4DYCA&zoom=1&iact=hc&vpx=889&vpy=247&dur=11321&hovh=204&hovw=248&tx=162&ty=131&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=140&tbnw=170&start=0&ndsp=20&ved=1t:429,r:18,s:0,i:122 (7.9.2012.)

[42] **Innova 4080:**

[http://www.biology.ualberta.ca/facilities/mbsu/uploads/services\\_pdf/Innova\\_4000\\_manual.pdf](http://www.biology.ualberta.ca/facilities/mbsu/uploads/services_pdf/Innova_4000_manual.pdf) (7.9.2012.)

[43] **PerkinElmer Lambda 35:**

<http://www.perkinelmer.com/Catalog/Family/ID/LAMBDA%2035%20UV%20Vis%20Systems> (8.9.2012.)

[44] **PerkinElmer Lambda 35:**

[http://www.google.hr/imgres?q=perkin+elmer+lambda+35&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=f-9zAksycBU2yM:&imgrefurl=http://www.labwrench.com/%3Fequipment.view/equipmentNo/2948/PerkinElmer/LAMBDA-trade--25-35-45/&docid=fZ\\_fwLElRhS8bM&imgurl=http://photos.labwrench.com/equipmentPhotos/2000/2948-3306.jpg&w=640&h=333&ei=rIFLUMCuJM7ltQbpb4HwAw&zoom=1&iact=hc&vpx=170&vpy=168&dur=7480&hovh=162&hovw=311&tx=159&ty=37&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=109&tbnw=210&start=0&ndsp=15&ved=1t:429,r:0,s:0,i:69](http://www.google.hr/imgres?q=perkin+elmer+lambda+35&num=10&hl=hr&biw=1280&bih=642&tbn=isch&tbnid=f-9zAksycBU2yM:&imgrefurl=http://www.labwrench.com/%3Fequipment.view/equipmentNo/2948/PerkinElmer/LAMBDA-trade--25-35-45/&docid=fZ_fwLElRhS8bM&imgurl=http://photos.labwrench.com/equipmentPhotos/2000/2948-3306.jpg&w=640&h=333&ei=rIFLUMCuJM7ltQbpb4HwAw&zoom=1&iact=hc&vpx=170&vpy=168&dur=7480&hovh=162&hovw=311&tx=159&ty=37&sig=106985917404537905240&page=1&tbnh=109&tbnw=210&start=0&ndsp=15&ved=1t:429,r:0,s:0,i:69) (8.9.2012.)

[45] **S. Babić, D. Mutavdžić Pavlović, D. Ašperger, M. Periša, M. Zrnčić, A. J. M. Horvat, M. Kaštelan-Macan,**

*Determination of multi-class pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS–MS)*, Analytical & Bioanalytical Chemistry **398** (2010), 1188.

[46] **M. S. Díaz-Cruz, M. J. López de Alda, D. Barceló,**

*Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge*, TrAC-Trends in Analytical Chemistry, **22**, (2003), 349.



## ***7. DODATAK***

## 7.1. Popis slika

<b>Slika 1.</b> Tok farmaceutika u prirodi [12] .....	3
<b>Slika 2.</b> Soxhlet aparatura [29] .....	14
<b>Slika 3.</b> Fazni dijagram CO <sub>2</sub> [32].....	15
<b>Slika 4.</b> Uređaj za mikrovalnu ekstrakciju [33] .....	16
<b>Slika 5.</b> Shematski prikaz procesa ubrzane ekstrakcije otapalom [34] i Dionex ekstraktora [35] .....	17
<b>Slika 6.</b> Shematski prikaz HPLC-a [28].....	19
<b>Slika 7.</b> Detektor s nizom dioda [37] .....	20
<b>Slika 8.</b> Analitička vaga Mettler Toledo, AB104 [39].....	27
<b>Slika 9.</b> pH-metar Mettler Toledo, S 20 SevenEasy [40] .....	27
<b>Slika 10.</b> Mućkalica New Brunswick Scientific, Innova 4080 [41] .....	28
<b>Slika 11.</b> UV/Vid spektrofotometar PerkinElmer, Lambda 35 [44] .....	29
<b>Slika 12.</b> Tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti ProStar .....	29
<b>Slika 13.</b> Shematski prikaz postupka ekstrakcije farmaceutika iz sedimenta mućkanjem .....	30
<b>Slika 14.</b> Usporedba iskorištenja ekstrakcije za različite mase uzorka kod 1. eksperimenta masa uzorka 1g, a kod 2. eksperimenta 5 g uzorka pri vremenu ekstrakcije 30 min, temperaturi 30 °C i broju okretaja 200 okretaja/min.....	37
<b>Slika 15.</b> Usporedba iskorištenja ekstrakcije za različitu duljinu kontakta između otapala i sedimenta u 1. i 3. eksperimentu pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 min, temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g.....	38
<b>Slika 16.</b> Iskorištenja ekstrakcije u dioksanu pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g.....	39
<b>Slika 17.</b> Iskorištenja ekstrakcije u metanolu pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g.....	39
<b>Slika 18.</b> Iskorištenja ekstrakcije u vodi pri uvjetima ekstrakcije: temperatura 30 °C, broj okretaja 200 okretaja/min i masa uzorka 1 g.....	40
<b>Slika 19.</b> Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za trajanje ekstrakcije 30 i 60 minuta pri uvjetima ekstrakcije: temperaturi 30 °C, broju okretaja 200 okretaja/min i masi uzorka 1 g .....	41
<b>Slika 20.</b> Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za broj okretaja 200 i 300 okretaja/min pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 minuta, temperaturi 30 °C i masi uzorka 1 g .....	42
<b>Slika 21.</b> Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za temperaturu ekstrakcije 30 i 50 °C pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 30 minuta, 300 okretaja/min i masi uzorka 1 g .....	43
<b>Slika 22.</b> Iskorištenja ekstrakcije za različite smjese otapala za temperaturu ekstrakcije 50 i 30 °C pri uvjetima ekstrakcije: trajanje ekstrakcije 60 minuta, 300 okretaja/min i masi uzorka 1 g .....	43

## 7.2. Popis tablica

<b>Tablica 1.</b> Podjela farmaceutika prema anatomsko-terapijsko-kemijskoj (ATK) klasifikaciji lijekova Svjetske zdravstvene organizacije [14] .....	6
<b>Tablica 2.</b> Mehanički sastav sedimenta .....	22
<b>Tablica 3.</b> Higroskopnost sedimenta po <i>Mitscherlichu</i> .....	22
<b>Tablica 4.</b> pH reakcije sedimenta .....	22
<b>Tablica 5.</b> Kapacitet i stanje zasićenosti adsorpcijskog kompleksa .....	23
<b>Tablica 6.</b> Određivanje karbonata .....	23
<b>Tablica 7.</b> Popis korištenih kemikalija .....	24
<b>Tablica 8.</b> Fizikalno-kemijske karakteristike farmaceutika .....	25
<b>Tablica 9.</b> Gradijent pokretne faze korišten u analizi [45] .....	31
<b>Tablica 10.</b> Adsorpcijski spektri ispitivanih farmaceutika .....	33
<b>Tablica 11.</b> Valne duljine pri kojima su očitavane površine kromatografskih krivulja za svaki farmaceutik .....	35

### 7.3. Popis kratica i simbola

$A_{i,E}$  – površina kromatografske krivulje analita iz ekstrakta

$A_{i,STD}$  - površina kromatografske krivulje analita u standardnoj otopini

ATK klasifikacija – anatomsko-terapijsko-kemijska klasifikacija

ATP – adenzin-trifosfat

DAD – Diode Array Detector

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

$I$  – iskorištenje ekstrakcije

$K_{oc}$  – koeficijent razdjeljenja analita između organskog ugljika i vode

$K_{ov}$  – koeficijent razdjeljenja analita između oktanola i vode

$K_{oz}$  – koeficijent razdjeljenja analita između oktanola i zraka

$K_{zv}$  – koeficijent razdjeljenja analita između zraka i vode

RPM – okretaja u minuti

$S_v$  - topljivost analita u vodi

$t_R$  – vrijeme zadržavanja otopljene komponente

tRNK – transportna ribonukleinska kiselina

UV/Vid – ultraljubičasto/ vidljivo

## **8. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 6. studenog 1989. godine u Koprivnici. Završila sam osnovnu školu Vladimira Nazora u Križevcima, nakon koje sam se upisala u gimnaziju Ivana Zakmardija Dijankovečkoga, prirodoslovno-matematički smjer. Gimnaziju sam završila 2008. godine i te iste godine sam se upisala na Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, studij Primijenjene kemije. 2010. godine sudjelovala sam kao mentor radionice *Čudesni svijet vode* u sklopu projekta *Ljetna tvornica znanosti* koja se je održavala u Čakovcu. Stručnu praksu odradila sam u *Laboratoriju za analitičku kemiju i rezidue*, Veterinarskog zavoda Križevci, koji je podružnica Hrvatskog veterinarskog instituta u Zagrebu. Od stranih jezika koristim engleski i njemački jezik. Računalno sam pismena.